



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EFFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANO DE TRES ESPECIES
VEGETALES PARA LA PRESERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS
CON ALTO CONTENIDO GRASO.

AUTORAS

Nicole Gianella León Ponce
Ailin Vanessa Masaquiza Robalino

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

EFFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANO DE TRES ESPECIES
VEGETALES PARA LA PRESERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS CON
ALTO CONTENIDO GRASO.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingenieras Agroindustriales y de Alimentos.

Profesor Guía

Dra. Janeth Fabiola Proaño Bastidas

Autoras

Nicole Gianella León Ponce

Ailin Vanessa Masaquiza Robalino

Año

2017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con las estudiantes, 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
Magister en Gerencia y Liderazgo Educativo
CI: 1706515564

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con los estudiantes, 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”

Bolívar Edmundo Silva López
Magister en Gestión de la Producción
CI: 1706480694

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DE LOS ESTUDIANTES

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

Nicole Gianella León Ponce

CI: 1725522369

Ailin Vanessa Masaquiza Robalino

CI: 1804369203

AGRADECIMIENTOS

Principalmente agradecemos a Dios por su fortaleza, guía y bendiciones brindadas, a nuestras familias, en especial a nuestros padres por su apoyo incondicional, confianza y amor, a nuestra profesora guía Janeth Proaño, por su tiempo, apoyo y conocimientos brindados durante la carrera y en cada una de las etapas de esta tesis

DEDICATORIA

A los cómplices de mis aventuras, mis padres Sari y Juan Miguel por ser la luz de mi vida y enseñarme a no rendirme nunca, a mi hermano Juan Pablo por siempre sacarme una sonrisa, a ellos, por siempre creer en mí, a mis abuelitos y familia por su amor incondicional. A Dios por colmar mis días de paz, dicha y bendiciones.

Nicole León P.

DEDICATORIA

A Dios por darme la mejor familia del mundo; mi papá quien ha sido mi fortaleza ante cada dificultad que se ha presentado, mi mamá el pilar de mi vida, que con cada palabra de dulzura me ha enseñado a siempre mantenerme, a mis hermanos por su amor incondicional.

Ailin Masaquiza R.

RESUMEN

Dado el avance de la tecnología y las controversias creadas entorno al uso de aditivos alimentarios, la industria de alimentos se ha visto obligada a crear nuevos productos con contenidos más naturales, sin preservantes, colorantes, y otros aditivos sintéticos. El siguiente estudio propone el uso de antioxidantes naturales; conocidos como aceites esenciales; de las hojas de tres especies vegetales (aguacate, guayaba y orégano) como conservantes aplicados en la unidad experimental del estudio (salchichas de pollo), en las cuales se realizó análisis microbiológico para: *Aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* y *Escherichia coli*, los tratamientos que mostraron mayor efectividad en el control de unidades formadoras de recuento total y estabilidad en cuanto a propiedades físico químicas fueron los tratamientos T3 (aceite esencial de aguacate con 120 ul), T4 (aceite esencial de guayaba con 120 ul), y T5 (aceite esencial de orégano con 180 ul), a su vez no se presentó proliferación de las bacterias *Clostridium botulinum*, *Salmonella* y *Escherichia* en el período establecido de estudio de 30 días, para las bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) los tratamientos en común más efectivos fueron T5 y T8 en concentraciones de 180 ul de aceite de orégano y 120 ul de una combinación de los tres aceites (orégano, guayaba y aguacate). Se determinó el efecto antioxidante de los aceites mediante el método de decoloración más conocido como DPPH (2,2-difenil -1- picrilhidrazil) por el cual se pudo conocer la capacidad antiradical de cada uno, 91.9 para el aceite de guayaba, 76 en el aceite de aguacate y 74 % para el aceite de orégano.

ABSTRACT

Given the advance of technology and the controversies created around the use of food additives, the food industry has been forced to create new products with more natural contents, without preservatives, dyes, and other synthetic additives. The following study suggests the use of natural antioxidants; Known as essential oils; Of the leaves of three vegetable species (avocado, guava and oregano) as preservatives applied in the experimental unit of the study (chicken sausages), in which microbiological analysis was performed for: Mesophilic aerobes, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* and *Escherichia Coli*, the treatments that showed the greatest effectiveness in the control of total counting units and stability in physical chemical properties were treatments T3 (avocado essential oil with 120 ul), T4 (guava essential oil with 120 ul), And T5 (essential oil of oregano with 180 ul), there was no proliferation of the bacteria *Clostridium botulinum*, *Salmonella* and *Escherichia* in the established study period of 30 days, for Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) treatments in Most effective were T5 and T8 at concentrations of 180 ul of oregano oil and 120 ul of a combination of three S oils (oregano, guava and avocado). The antioxidant effect of the oils was determined by the decolorization method better known as DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), by which the antiradical capacity of each was known, 91.9 for guava oil, 76 Avocado oil and 74% for oregano oil.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 Objetivos	3
1.2.1 Objetivo General.....	3
1.2.2 Objetivos Específicos	3
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Aceites Esenciales.....	3
2.1.1 Historia de los aceites esenciales.....	3
2.1.2 Concepto de aceite esencial.....	4
2.1.3 Métodos de Extracción	6
2.1.4 Clasificación de los aceites esenciales	6
2.1.5 Aceite esencial de aguacate (<i>Persea americana</i>).....	6
2.1.6 Aceite esencial de guayaba (<i>Psidium guajava L.</i>).....	7
2.1.7 Aceite esencial de orégano (<i>Origanum vulganum</i>)	9
2.2 Embutidos	10
2.2.1 Productos Cárnicos Precocidos	12
2.2.2 Análisis Microbiológico	15
2.2.3 <i>Aerobios mesófilos:</i>	16
2.2.4 <i>Escherichia coli</i>	17
2.2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.2.6 <i>Clostridium botulinum</i>	18
2.2.7 <i>Salmonella</i>	19
2.3 Análisis Físico Químico	20
2.3.1 Potencial de hidrógeno (pH)	20
2.3.2 Humedad.....	21
2.3.3 Índice de Peróxidos	22
2.3.4 Capacidad Antioxidante (Método DPPH).....	23
2.3.5 Actividad de agua	24
2.4 Aditivos alimentarios	25
2.4.1 Ingesta diaria admisible (IDA).....	29

2.4.2 Conservantes o Preservantes	30
2.4.3 Nitratos y nitritos.....	32
2.4.4 Antioxidantes.....	33
2.4.5 Antioxidantes Naturales.....	34
2.4.6 Antioxidantes Sintéticos	35
2.4.7 Butilhidroxitolueno (BHT) y BHA (butilhidroxianisol).	35
2.4.8 Bioantioxidantes	37
2.4.9 Aceites esenciales.....	37
3. CAPÍTULO III. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	38
3.1 Tratamientos establecidos para elaboración de	
salchichas de pollo.	38
3.1.1 Obtención del Aceite Esencial de Guayaba, Aguacate	
y Orégano.....	39
3.1.2 Método Soxhlet.....	39
3.1.3 Elaboración de Salchichas de Pollo	43
3.1.1 Análisis Microbiológico	48
3.1.2 Materiales y equipos de laboratorio microbiológico.....	48
3.1.3 Procedimiento Análisis Microbiológico	49
3.2.4 <i>Aerobios mesófilos</i>	50
3.2.5 <i>Escherichia coli</i>	50
3.2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	51
3.2.7 <i>Salmonella</i>	51
3.2.8 <i>Clostridium</i>	52
3.3 Análisis Físico-químico.....	54
3.3.1 Procedimiento de humedad	54
3.3.2 Procedimiento determinación en pH	55
3.3.3 Procedimiento de peróxidos.....	55
3.3.4 Procedimiento DPPH	56
3.3.5 Procedimiento Actividad de agua.....	57
4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
4.1 Variables de estudio.....	58

4.1.1 Análisis Microbiológico	58
4.1.2 Microorganismos <i>Aerobios mesófilos</i>	58
4.1.3 Microorganismos <i>Staphylococcus aureus</i>	67
4.1.4 Microorganismos <i>Escherichia coli, Salmonela Shigella y Clostridium</i>	75
4.2 Análisis Físico Químico	76
4.2.1 Análisis de Peróxidos	76
4.2.2 Efecto Antioxidante	78
4.2.3 Análisis de pH	82
4.2.4 Análisis de Humedad	86
4.2.5 Análisis actividad de agua	90
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	92
5.1 Conclusiones	92
5.2 Recomendaciones.....	93
REFERENCIAS	94
ANEXOS.....	105

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos presentes en la hoja de Guayaba.	8
Tabla 2. Componentes del aceite esencial de orégano (O. vulgare).	9
Tabla 3. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos.	16
Tabla 4. Clasificación de los aditivos alimentarios por su función.....	27
Tabla 5. Clasificación de los aditivos por su especificidad técnicas por la FDA y el Consejo Internacional Alimentario:	28
Tabla 6. Dosis diaria admisible, efectos secundarios en preservantes inorgánicos usados en la industria de alimentos.....	31
Tabla 7. Dosis diaria admisible, efectos secundarios de preservantes orgánicos usados en la industria de alimentos.	32
Tabla 8. Descripción de cada tratamiento junto la cantidad utilizada.....	38
Tabla 9. Formulación para salchichas de pollo.....	43
Tabla 10. Análisis de varianza para <i>Aerobios Mesófilos</i> en el día 0.	59
Tabla 11. Ponderación de tratamientos para <i>Aerobios Mesófilos</i> en el día 0.	59
Tabla 12. Análisis de varianza para <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 10.	60
Tabla 13. Ponderación de tratamientos para <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 10.	60
Tabla 14. Análisis de varianza para <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 20.	60
Tabla 15 Ponderación de tratamientos para <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 20.	61
Tabla 16. Análisis de varianza para <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 30.	61
Tabla 17. Ponderación de tratamientos para <i>Aerobios Mesófilos</i> en el día 30.	61
Tabla 18. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 0.	64
Tabla 19. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 10.	65
Tabla 20. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 20.	65

Tabla 21. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0,5% en el día 30.	66
Tabla 22. Análisis de varianza para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 0.	67
Tabla 23. Ponderación de tratamientos para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 0.	67
Tabla 24. Análisis de varianza para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 10.	68
Tabla 25. Ponderación de tratamientos para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 10.	68
Tabla 26. Análisis de varianza para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 20.	68
Tabla 27. Ponderación de tratamientos para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 20.	69
Tabla 28. Análisis de varianza para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 30.	69
Tabla 29. Ponderación de tratamientos para <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 30.	69
Tabla 30. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 0.	71
Tabla 31. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 10.	72
Tabla 32. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 20.	72
Tabla 33. Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 30.	73
Tabla 34. Análisis de varianza de pH analizado el día 0.	82
Tabla 35. Ponderación de pH analizado el día 0.	83
Tabla 36. Análisis de varianza de pH analizado el día 10.	83
Tabla 37. Ponderación de pH analizado el día 10.	83
Tabla 38. Análisis de varianza de pH analizado el día 20.	84
Tabla 39. Ponderación de pH analizado el día 20.	84
Tabla 40. Análisis de varianza de pH analizado el día 30.	84
Tabla 41. Ponderación de pH analizado el día 30.	85
Tabla 42. Promedios de pH en salchichas de pollo en los 30 días de estudio.....	85

Tabla 43. Análisis de varianza de humedad realizado el día 0.	86
Tabla 44. Ponderación de humedad realizado el día 0.....	86
Tabla 45. Análisis de varianza de humedad realizado el día 10.	87
Tabla 46. Ponderación de humedad realizado el día 10.....	87
Tabla 47. Análisis de varianza de humedad realizado el día 20.	87
Tabla 48. Ponderación de humedad realizado el día 20.....	88
Tabla 49. Análisis de varianza de humedad realizado el día 30.	88
Tabla 50. Ponderación de humedad realizado el día 30.....	88
Tabla 51. Promedios de humedad en salchichas de pollo en los 30 días de estudio.....	89
Tabla 52. Actividad de agua presente en salchichas de pollo.	90

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura molecular de Ácido L-ascórbico. Nombre sistemático 3,4- dihidroxi-5-((S)-1,2-dihidroxietil) furano-2(5H)-ona...	35
Figura 2. Estructura molecular de BHA Y BHT.....	36
Figura 3. Flujograma del Método Soxhlet.....	40
Figura 4. Obtención del Aceite Esencial de Guayaba.....	41
Figura 5. Obtención del Aceite Esencial de Orégano.	41
Figura 6. Obtención del Aceite Esencial de Aguacate.	42
Figura 7. Pesado de ingredientes según la formulación empleada.....	44
Figura 8. Reducción de carne y grasa en molino.	44
Figura 9. Proceso de mezclado de los ingredientes en cutter HOBART.....	45
Figura 10. Proceso de embutido y amarrado en la maquina KitchenAid.	45
Figura 11. Proceso de escaldado en salchichas de pollo con aceites esenciales.	46
Figura 12. Empacado al vacío y almacenamiento de salchichas de pollo con aceites esenciales.	46
Figura 13. Flujograma Elaboración de Salchichas	47
Figura 14. Cámara de Flujo laminar con materiales para siembra de microorganismos.	49
Figura 15. Agar nutritivo Plate Count Agar y Bacterias <i>Aerobios mesófilos</i>	50
Figura 16. Agar nutritivo Eosina- Azul de Metileno.	50
Figura 17. Agar Manitol Salado nutritivo y Bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> ...51	
Figura 18. Agar <i>Salmonella Shigella</i> nutritivo.	51
Figura 19. Agar <i>Salmonella Shigella</i> nutritivo.	52
Figura 20. Flujograma de Siembra de Microorganismos.	53
Figura 21. Análisis de humedad a salchichas de pollo.	54
Figura 22. Análisis pH en salchichas de pollo.	55
Figura 23. Análisis de peróxidos en salchichas de pollo.....	56
Figura 24. Análisis DPPH en espectrofotómetro de masa.	56
Figura 25. Análisis DPPH de aceites esenciales.	57
Figura 26. Análisis actividad de agua en salchichas de pollo.	57

<i>Figura 27.</i> Proliferación de Aerobios mesófilos durante los 30 días analizados.....	63
<i>Figura 28.</i> Promedio y desviación <i>Aerobios Mesófilos</i> día 0.....	64
<i>Figura 29.</i> Promedio y desviación <i>Aerobios Mesófilos</i> día 10.....	65
<i>Figura 30.</i> Promedio y desviación de <i>Aerobios mesófilos</i> en el día 20.	66
<i>Figura 31.</i> Promedio y desviación <i>Aerobios mesófilos</i> día 30.....	66
<i>Figura 32.</i> Promedio y desviación <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 0.	71
<i>Figura 33.</i> Promedio y desviación <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 10.	72
<i>Figura 34.</i> Promedio y desviación <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 20.	73
<i>Figura 35.</i> Promedio y desviación <i>Staphylococcus aureus</i> en el día 30.	74
<i>Figura 36.</i> Proliferación de <i>Staphylococcus aureus</i> durante los 30 días analizados.....	74
<i>Figura 37.</i> Cintas de Peróxidos, expuestas a muestras de salchichas de pollo.	77
<i>Figura 38.</i> Cintas de Peróxidos y rango de reacción.	78
<i>Figura 39.</i> Oxidación en reactivo DPPH.	78
<i>Figura 40.</i> Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de guayaba. ..	80
<i>Figura 41.</i> Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de orégano. ..	81
<i>Figura 42.</i> Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de aguacate. ..	81
<i>Figura 43.</i> pH reflejado durante 30 días en salchichas de pollo.	85
<i>Figura 44.</i> Humedad presente en salchichas de pollo.	89
<i>Figura 45.</i> Actividad de agua presente en salchichas de pollo.	90

1. INTRODUCCIÓN

El deterioro presente en los alimentos ha dado lugar a una serie de estudios relacionados con la conservación de los productos alimenticios, con la finalidad de otorgar un mayor período de vida útil a los alimentos, aseverando así la inocuidad hacia los consumidores. Los sistemas de conservación han sido implementados desde tiempos pre históricos por lo que con el pasar del tiempo las investigaciones realizadas han generado nuevos métodos para la preservación de alimentos (Miller, 2009).

La industria alimentaria emplea conservantes para prolongar el tiempo de vida en percha de los productos, de igual manera el uso de estos aditivos confiere una mejora en las características organolépticas del mismo. La función de los conservantes radica en inhibir, prevenir o retardar el crecimiento de microorganismos patógenos y evitar procesos propios de los alimentos como: putrefacción o fermentación (Gould, 2013).

Entre los conservantes más comunes se encuentran; los sulfatos, empleados en el vino, conservas vegetales y frutas deshidratadas, el ácido sórbico también es utilizado en lácteos, mermeladas y productos derivados de la papa, el nitrito es de uso común en la industria cárnica, siendo la función más importante el evitar que se produzca un deterioro en los alimentos evitando pérdidas económicas (Gil y Ruiz, 2010).

El hecho de incorporar conservantes sintéticos en productos elaborados no los convierte en alimentos no perecederos ya que el efecto que producen ante las bacterias es retardarlo por un tiempo determinado, esto depende del conservante y la cantidad aplicada, sin embargo, en algunos casos se torna difícil el reemplazar las acciones específicas de conservantes químicos como los nitritos y nitratos (Hirasa, 2012).

Los aditivos alimentarios se encuentran presentes en una amplia gama de alimentos con funciones conservantes, estabilizantes, saborizantes, edulcorantes, antioxidantes, entre otros, estas sustancias son regulados por las OMS (organización mundial de la salud), quienes expresan en la norma CODEX STAN 192, "*Normativa general para los aditivos alimentos*", las dosis máximas de aplicación, y detallan a los alimentos en los cuales se pueden aplicar. El uso de estos aditivos en los alimentos ha creado controversia al relacionarlos con enfermedades como alergias alimentarias, problemas gastrointestinales, problemas con el sistema nervioso e incluso con enfermedades terminales como el cáncer (Gavilán, 2012).

En la búsqueda de nuevas tendencias naturales, los aceites esenciales son considerados como conservantes naturales, los mismos que son investigados como sustitutos de aditivos químicos, estos se caracterizan por estar compuesto por; cetonas, alcoholes, aldehídos y éter, responsables del olor que le diferencia a cada planta, estos compuestos se encuentran en las estructuras verdes y se puede extraer aproximadamente el 1% de las plantas, este valor es relativo ya que depende de la especie, el origen, temperatura de ambiente y las condiciones de extracción. Los aceites esenciales son volátiles, ligeramente amarillos, solubles en disolventes orgánicos o alcoholes y se encuentran en estado líquido (García, 2016). Estos aceites han presentado beneficios en cuanto a la preservación del producto y en el efecto inhibitorio de microorganismos patógenos. (Astudillo, 2014)

Las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) poseen propiedades fitoquímicas naturales con compuestos antioxidantes como carotenoides, flavonoides y antocianinas, a su vez en las hojas de orégano (*Origanum vulgare*) y aguacate (*Persea americana*) se presentan compuestos activos con poder antioxidante como el carvacrol y timol en el orégano y flavonoides y limoneno en el aguacate, estos compuestos ya mencionados con propiedades antirradicales evitan la proliferación de agentes patógenos (Lozada y Pérez, 2015).

Para este estudio se comprobó el efecto antioxidante de los aceites esenciales de tres especies vegetales; aguacate, guayaba y orégano; aplicados en las salchichas de pollo, las características y propiedades antioxidantes permitieron inhibir el crecimiento de los microorganismos establecidos en el estudio, pudiendo conservar de esta manera las características organolépticas y propiedades físico químicas propias de las salchichas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto antioxidante y antimicrobiano de tres especies vegetales para la preservación de productos cárnicos con alto contenido graso.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto antioxidante de los aceites esenciales de aguacate, guayaba, y orégano por el método DPPH (1,1 difenil, 2 picil, hidrazilo).
- Analizar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de aguacate, guayaba y orégano aplicados en salchichas de pollo tipo Frankfurt in vivo.
- Determinar el pH, peróxidos y humedad en las salchichas de pollo tipo Frankfurt que contienen aceites esenciales de aguacate, guayaba y orégano.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Aceites Esenciales

2.1.1 Historia de los aceites esenciales

Los aceites esenciales han sido usados a través del tiempo para diferentes fines como tratamientos médicos, preservantes, saborizantes alimentarios y desde tiempos remotos se usaban en la preparación de perfumes. Se denominó “aceite esencial” a inicios del siglo XVI por el suizo Paracelsus von Hohenheim quien utilizó aceites esenciales como nuevos medicamentos y los considero como la

“quinta esencia” sin embargo este término ya había sido referido en manuscritos chinos, egipcios y alrededor de más de 100 citas incluidas en la Biblia que hacían referencia a estas sustancias (Pino, 2015).

Los primeros procesos de destilación de aceites esenciales se realizaron en los países de Persia, Egipto y la India, sin embargo, esta y otras técnicas afines fueron perfeccionadas en el continente Occidental, siendo los historiadores como Herodoto, Plinio y Dioscórides los que dejarían precedentes y reseñas sobre aceites esenciales (Pino, 2015).

En el transcurso de los siglos XIX y XX, el uso de los aceites en el ámbito de la medicina pasó a un segundo plano dando lugar al empleo de los aceites dentro de la industria alimentaria como saborizantes (Bauer, Garber y Surburg, 2001).

Se conocen más de 3000 aceites esenciales con más de 200 aceites con importancia comercial (Van de Braak y Leijten, 1999), la mitad de estos están reconocidos por la ISO 4720 (2009). El uso de los aceites esenciales ha tomado gran impulso en diferentes zonas de la industria, siendo ampliamente usados en la industria farmacéutica, cosmética, agrícola y en la industria alimentaria como aditivos (Stashenko, 2009).

El empleo de estas sustancias activas ha llamado la atención por sus compuestos volátiles presentes al actuar como agentes microbianos y antioxidantes en productos alimenticios (Schmaus, 1993)

2.1.2 Concepto de aceite esencial

Los aceites esenciales son compuestos de composición compleja de aroma agradable, en estado líquido, provenientes de materia vegetal considerados como metabolitos secundarios de las plantas por sus propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antiparasitarias, antioxidantes e insecticidas (Bruneton, 2001). La mayoría de los aceites esenciales están formados por más

de 100 compuestos, los cuales están clasificados en la serie Terpénica (hidrocarburos) y Arénica (Montoya, 2010).

Los alcoholes, cetonas, aldehídos, fenoles y ésteres son los principales compuestos de los aceites esenciales, los cuales se diferencian por las propiedades del grupo funcional; los alcoholes presentan propiedades antimicrobianas, espasmolíticas, tonificantes y antisépticas; los aldehídos por ser antivirales, espasmolíticos y sedantes; fenoles con acción antimicrobiana y estimulante inmunológica; las cetonas características de ser neurotóxicas, mucolíticas y regeneradoras celulares y los ésteres por tener propiedades antifúngicas, espasmolítico y sedativas (Vallejo y Velasco, 2005).

Los aceites esenciales han sido ampliamente utilizados en medicina, cosmética y en la industria alimenticia. La implementación de los mismos cumple funciones antioxidantes, saborizantes, colorantes, y últimamente son utilizados como sustitutos de conservantes alimenticios, para poder aplicar dichos compuestos se requiere conocer el modo de acción, que microorganismos ataca y la cantidad mínima no tóxica empleada (Martínez, 2013).

Para que el efecto antimicrobiano del aceite esencial funcione, las dosis empleadas son reducidas a proporciones en partes por millón (ppm), la propiedad de cada aceite varía según los componentes presentes en cada materia vegetal, ya que el uso de dosis superiores a las ya nombradas no producen un efecto mayor. La actividad antibacteriana es afectada por algunos factores del aceite como: tipo, concentración y composición (Huerta, 2007). La acción de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos naturales ocurre cuando estos traspasan los lípidos que se encuentran en la membrana celular y mitocondrial, provocando una fuga de iones ya que su estructura ha sido alterada lo que conduce a la muerte o lisis celular de los microorganismos (Amadio, Dediol y Medina, 2011).

2.1.3 Métodos de Extracción

Los aceites esenciales se pueden extraer fácilmente de las plantas, por diferentes mecanismos, los cuales se clasifican en: métodos directos (extrusión y exhudación), destilación (destilación directa, arrastre con vapor, hidrodestilación y maceración), y por extracción con solventes (volátiles y fijos). Los aceites pueden ser extraídos de diferentes partes de la planta como: la raíz, rizomas, hojas, semillas y frutos (Martínez, 2013).

En la presente investigación el método usado es hidrodestilación, este mecanismo se lleva a cabo con la materia vegetal seca la cual se coloca dentro de un balón aforado con agua, este es expuesto al calor lo que genera vapor efluente, una presión mayor a la atmosférica, provoca la extracción del aceite mediante el flujo interno de agua lo que ocasiona que el vapor se condense y se genere el aceite esencial (Stashenko, 2009).

2.1.4 Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican por su origen en: aceites sintéticos llamados así por su método de extracción químico, aceites naturales estos se obtienen directamente de las plantas y aceites artificiales se caracterizan por ser mezclas de productos químicos ya obtenidos.

2.1.5 Aceite esencial de aguacate (*Persea americana*)

El aguacate conocido científicamente como *Persea americana* perteneciente a la familia *Lauraceae*, es característico de climas tropicales y subtropicales como el de México y Centroamérica, este fruto con el tiempo obtuvo mejoras genéticas lo que ayudo a incrementar su calidad al ser extendido por Sudamérica. Se lo considera como un fruto y verdura a la vez, se caracteriza por su sabor suave, consistencia tierna y cremosa, tiene hoja perenne (ricos en vitamina E, magnesio, potasio y ácido fólico), puede alcanzar una altura de veinte metros, su

fruto tiene forma de pera, su piel es verde, el tono y la textura cambian de unas variedades a otras (Flórez y González, 2002).

Las hojas de aguacate se caracterizan por tener varios compuestos como: abacatina, estragol, flavonoides, transanetol, alcanfor, limoneno, perseita, persiteol, alfa y beta pineno, estos compuestos en conjunto cumplen funciones como: regenerador, antienvjecimiento y superhidratante (Flórez y González, 2002).

Los flavonoides están compuestos por grupos hidroxilosfenólicos de bajo peso molecular y carga negativa, este ayuda a que el aceite de aguacate actué como antioxidante evitando los daños oxidativos, la carga negativa es fundamental en los flavonoides ya que no facilita el paso de moléculas hacia el interior de la célula (Flóres, González, Gallego y Culebras, 2002).

2.1.6 Aceite esencial de guayaba (*Psidium guajava* L.)

La guayaba pertenece a la especie *Psidium guajava* L. de la familia *Myrtaceae*, proveniente de climas semisecos, cálidos o templados. Su tronco es recto llegando a alturas de 7 metros, sus hojas son verdes con diámetros de 10 a 15 centímetros, flores de color blanco y estambres y su fruto es carnoso con diámetros entre 5 y 12 centímetros. Las hojas de guayaba contienen un aceite esencial rico en cineol, taninos, triterpenos, flavonoides, resina, eugenol, ácido málico, grasa, celulosa, clorofila, sales minerales, y una serie de sustancias fijas, esto depende mucho de su origen, las variaciones en la técnica de extracción, el tiempo y temperatura de extracción (Burt,2004).

En estudios anteriores se demostró el potencial antimicrobiano de los extractos de guayaba frente a bacterias gram-negativas como; *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* y bacterias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*; bacterias conocidas por ser transmitidas por los alimentos causando la descomposición de los mismos (Başer y Buchbauer, 2010). Dentro

de la investigación se realizó diluciones con diferentes solventes (agua, hexano, etanol y metanol), la eficiencia se probó aplicando 50 µl de solución. De acuerdo con los resultados arrojados por el ensayo antibacteriano, los extractos de metanol y etanol de las hojas de guayaba mostraron actividad inhibitoria contra bacterias gram-positivas, mientras que las bacterias gram-negativas fueron resistentes a todos los extractos disolventes (Başer y Buchbauer, 2010).

Tabla 1.

Compuestos presentes en la hoja de Guayaba.

Compuesto	Cantidad Relativa en la Hoja %
B-cariofileno	16.9
Selin	8.3
cariofileno	17.6
limoneno	11

Tomado de (Başer y Buchbauer, 2010)

Según el investigador Hernández, J en sus estudios realizados en el año 2016 analiza la forma de actuar del compuesto trans-b-Cariofileno del aceite esencial de guayaba, este compuesto presente en sus hojas inhibe procesos de desarrollo y proliferación de bacterias como *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Staphylococcus aureus*. En contraste con este estudio, la investigación realizada en el Centro de Investigaciones de Madrid, los compuestos trans-b-Cariofileno y limoneno presente en la estructura química de las hojas de guayaba dan como resultado características inhibitorias de bacterias *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum* en concentración de 500 ppm (Pérez, Mitchell y Vargas, 2008)

2.1.7 Aceite esencial de orégano (*Origanum vulganum*)

El orégano conocido con su nombre científico como *Origanum vulganum* tiene procedencia europea, pertenece a la familia *Lamiaceae*. El aceite esencial de orégano se destaca por su efecto natural antiséptico ya que puede eliminar bacterias, virus y hongos, este efecto es proporcionado por su compuesto carvacrol, el cual se encuentra presente en un 87 %, además contiene, Ácido o-cumárico, ácido rosmarínico, timol, ácido r-hidroxibenzoico, ácido ferúlico, Mirceno, ácido cafeico, ácido vainillínico (Morataya,2006).

Su alto poder antioxidante está presente en dosis mayores a 140 mmol/100 g, el autor Arcila, 2004 ha demostrado con su investigación que los compuestos activos se derivan de los fenoles, como el ácido cafeico que actúa sobre la grasa, a su vez demuestra el efecto antimicrobiano contra bacterias gram negativas y positivas como: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, y *Staphylococcus aureus*. El efecto inhibitorio se presenta por el compuesto carvacrol y timol, los mismos que presentan una cantidad mínima inhibitoria entre 0,28 a 1,27 mg/ ml para bacterias y desde 0,65 a mg/ ml para hongos (Arcila, 2004).

Sáez, 2002 apoya a la investigación anterior, demostrando que el aceite de orégano tiene una actividad antimicrobiana fuerte que puede actuar contra las bacterias *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabla 2.

Componentes del aceite esencial de orégano (O. vulgare).

Compuesto	Área relativa (%)
p-cimeno	11,66%
Termineno	5,51%
Thymol	67,51%
Eugenol	1,82%
Carvacrol	6,89%

Tomado de Amadio, 2011.

La industria alimentaria como desafío principal necesita prolongar el tiempo de vida útil de los alimentos procesados manteniendo sus propiedades organolépticas, la investigación realizada en Journal of Food Sciences demostró que al usar aceite de oliva extra virgen al cual le agregaron un poco de aceite de orégano evita la oxidación y lo conserva con todas sus propiedades organolépticas (Amadio, 2011).

Para la obtención de este antioxidante se empleó aceite de oliva extra virgen en el cual se observó la reacción de oxidación, como resultado se obtuvo cambios organolépticos en cuanto a sabor y olor y en el cambio de rancidez del aceite. Para evitar el proceso de oxidación se agregó a las muestras aceite de orégano en proporción de $\frac{1}{2}$ gramo/kilo de aceite, a temperatura ambiente por un período de 126 días, dando resultados favorables con un mayor tiempo de vida útil y en la conservación de las propiedades organolépticas del aceite extra virgen (Grosso, 2012).

La investigación realizada por Grosso, 2012 en el Instituto Multidisciplinario de biología Vegetal (INBIV) de la Universidad de Córdoba, buscó obtener antioxidantes naturales aplicando a los lípidos, ya que estos son más propensos a oxidarse produciendo malos olores y a su vez algunas toxinas que producen daños en el organismo de las personas.

De esta manera se puede apreciar como los aceites esenciales son acogidos en las industrias alimentarias como alternativa ante los antioxidantes sintéticos ya que no producen daños, como se sabe los antioxidantes sintéticos no se puede exceder de la cantidad recomendada por ser tóxico para la salud de las personas (Cervato, 2000).

2.2 Embutidos

Según la Norma INEN 1217:2006 un embutido es considerado como un producto procesado con carne, grasa y partes afines del animal que, en conjunto con

aditivos y condimentos adicionados, forman una emulsión para ser procesadas en envolturas artificiales o naturales.

La calidad de los productos cárnicos es expresada por las características organolépticas como textura, color, olor y sabor, lo que confiere ciertas características al producto para ser clasificado como apetitoso o no para el consumidor. La composición del producto se detalla en la cantidad de los componentes usados y la calidad de los mismos, determinando el valor nutricional y la estabilidad de factores microbiológicos, garantizando la preservación del producto y bienestar del consumidor (Faría, 2007).

Según el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca "MAGAP", se producen de 36 a 50 millones de kilos de embutidos anualmente, con un consumo de 2.77 a 3.85 kilos por persona al año, dentro de estos embutidos se encuentra el jamón, salchichas, mortadela, chorizo, vienesa, salame y tocino.

Aunque se comercialice una amplia gama de productos embutidos, estos muestran un común denominador, al ser preparados con carne de animales de abasto, a las que se complementa con grasa y en algunos casos ingredientes como proteínas texturizadas, proteínas lácticas y almidones (Serrano y Orts, 2012). Se los puede clasificar de manera general en embutidos crudos, cocidos y escaldados (Faria, 2007).

El ritmo de vida acelerado de la sociedad actual y el aumento de consumo en la comida rápida y precocinada ha obligado a los consumidores a incorporar productos de fácil conservación y preparación, por lo que el consumo de productos elaborados o semielaborados ha incrementado en los últimos 10 años. Los productos elaborados a base de carnes transformadas constituyen la cuarta parte de consumo total de la carne dentro de los hogares (Bosh y Pérez, 2011).

2.2.1 Productos Cárnicos Precocidos

Según se detalla en la norma INEN 1338:12 “las salchichas son el producto embutido en tripas artificiales como naturales, sean crudas, maduras, ahumadas o cocinadas de uso alimentario permitido, derivado de la emulsión de masa de carne y grasa de animales de abasto (bovinos, porcinos, aves de corral) con aditivos e ingredientes en cantidades permitidas, que han sido seleccionados en base a una formulación previa.” La masa de los embutidos es obtenida por la mezcla y homogeneización de la carne, agua, grasa animal, sal y aditivos como; polifosfatos, sales de curación, saborizantes, espesantes, conservantes, estabilizantes y antioxidantes (Faría, 2007).

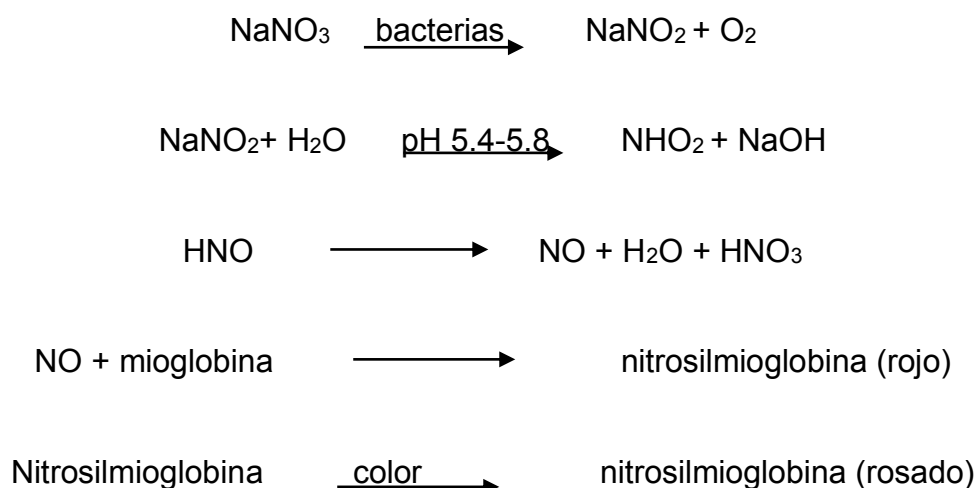
Estos embutidos se someten a un proceso corto de cocción llamado escaldado, lo que permite mantener la emulsión e inhibir microorganismos (UNAM ,2011). Dentro del proceso las proteínas son coaguladas en un rango de temperatura de 74 a 78 °C. (Faría, 2007)

Las salchichas presentan un volumen alto de consumo y ventas, son consideradas como uno de los productos más importantes de consumo masivo y de derivación cárnica. Una de las salchichas más vendidas dentro del mercado de Latinoamérica es la salchicha tipo Frankfurt con un consumo per cápita en Ecuador de 2,2 kg aproximadamente (Oña y Serrano, 2012).

En recientes investigaciones epidemiológicas generadas por la Organización Mundial de la Salud “OMS” y la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer “IARC” se consideró que el consumo de carne procesada como; salchichas, jamones, carnes en conserva y curadas, son causantes del cáncer colorrectal a largo plazo, al aplicar calor para su cocción antes de su consumo estos embutidos absorben todas las sustancias tóxicas que se produce durante el proceso, siendo otro factor que influye al incremento del cáncer.

Dada la controversia generada en los últimos años por el consumo de carnes, el uso excesivo de aditivos generadores de varias molestias en el consumidor como irritaciones intestinales, alergias alimentarias entre otras enfermedades del tracto digestivo, la demanda de productos más sanos, naturales y menos “industrializados” ha dado paso a investigaciones que facultan las propiedades inhibitorias y antioxidantes de extractos vegetales, plantas, hierbas y aceites esenciales (García, M y Soto, A, 2009).

Para la elaboración de embutidos se usan sales de curación, que están compuestas por nitrato de sodio o potasio, ácido ascórbico, fosfato, azúcar, nitrito y cloruro de sodio. Los nitratos y nitritos cumplen dos funciones importantes y específicas: proporcionan color e inhiben a las bacterias más peligrosas conocidas como *Clostridium botulinum*, estos también proveen de efectos antioxidantes lo que ayuda a estabilizar el sabor, a continuación, se puede visualizar la reacción química que se produce para la formación del color (Hill, 1999, p.448).



Los microorganismos presentes en la carne actúan en la transformación de nitratos en nitritos, estos a su vez actúan junto a los ingredientes añadidos y transforman en óxido de nitrógeno (NO), esto se produce por el pH que tiene la carne, el óxido de nitrógeno (NO) continúa reaccionando con la mioglobina lo que permite obtener nitrosilmioglobina que al poner en contacto con calor a

temperaturas superiores a 60°C se transforma en nitrosilhemocromo, el cual es el factor que proporciona el color característico del embutido, esto se produce por la desnaturalización de la proteína (Hill, 1999, p.448).

El *Clostridium botulinum* se caracteriza por ser anaerobio y sintetizar neurotoxinas que son peligrosas ya que puede ocasionar la muerte del ser humano, los nitritos al reaccionar con grupos sulfhidrilo de la proteína o también con monofenoles como puede ser la tirosina, producen sustancias tóxicas que evitan la supervivencia de los microorganismos (Badui, 2006).

La sal común es otro de los ingredientes que se usa al producir el embutido ya que este se caracteriza por cumplir 3 funciones: proporciona sabor, evita la proliferación de microorganismos por su efecto de conservante y reduce la cantidad de agua que ayuda a las reacciones enzimáticas y químicas, y facilita la solubilización de proteínas esto ayuda a que se puedan ligar cada uno de los ingredientes lo que favorece la consistencia del embutido (Hill, 1999, p.448).

Uno de los factores de suma importancia al usar conservantes es la manera en la que influye en el pH. Al colocar un conservante se libera H⁺ en el alimento lo que ocasiona que el pH sea bajo, lo que ocasiona que muchos microorganismos en especial las bacterias no logren proliferarse, ya que estas no sobreviven a pH ácidos menores de 4.5 (Hill, 1999, p.448).

Los fosfatos cumplen un rol importante en la emulsión de salchichas, entre las principales funciones es ayudar a suavizar la carne facilitando la estabilidad cuando a esta se le somete a cocción. Los fosfatos frente al agua tienen un pH alto, pero cuando se coloca fosfatos sobre la carne el pH baja, ya que la carne actúa como buffer, el factor pH es de suma importancia ya que una mínima variación de este puede aumentar o disminuir la capacidad de solubilidad en las proteínas (Cubero, 2002).

Dentro de los conservantes más frecuentes que intervienen en la prolongación del deterioro de los embutidos están; los nitritos y nitratos que tienen como función principal evitar el crecimiento de *Clostridium botulinum*, para que este conservante no produzca daños, la ingesta diaria admisible es 0,06 mg/ kg peso de nitritos y 3,7 mg/KG peso de nitratos. El exceso de estos conservantes obstruye el transporte del oxígeno hacia el cuerpo (Esterbauer, Gebicki, Puhl, Günther, 1992, p.341).

Los fosfatos son empleados en las industrias cárnicas por sus características acidificantes, coadyuvantes y estabilizantes, el consumo excesivo de este conservante produce la formación de cálculos, por este motivo la ingesta diaria no puede exceder de 70 mg/kg. De igual manera se emplea el sorbitol, este actúa como retenedor de agua en las masas cárnicas, ayudando a la textura del producto como a su estabilización, la ingesta diaria no debe pasar de 25 g/ kg (Halliwell, Murcia, Chirico, Aruoma, 1995, p.35).

2.2.2 Análisis Microbiológico

Los productos deben cumplir con los requisitos bromatológicos y microbiológicos establecidos según la normativa INEN 1338:2012. Los requisitos se cumplirán según el tipo de salchicha que se desee elaborar sea tipo I, II o III. En cuanto a los requisitos microbiológicos se aplicarán para determinar el tiempo de vida útil e inocuidad del producto.

El siguiente cuadro se detalla los requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos según la norma INEN 1338.

Tabla 3.

Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos.

Requisitos	n	c	m	M	Método de Ensayo
Aerobios mesófilos *ufc/g	5	1	5,0*10 ⁵	1,0*10 ⁷	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli *ufc/g	5	0	< 10	-	AOAC 991.14 NTE INEN 1529-8
Staphylococcus aureus *ufc/g	5	1	1,0*10 ³	1,0*10 ⁴	NTE INEN 1529-14
Salmonella 1/25 g**	10	0	Ausencia	-	NTE INEN 1529-15

Tomado de Norma INEN, 2011.

Nota: n.: número de unidades de la muestra; c.: número de unidades defectuosas que se aceptan; m.: nivel de aceptación; M.: nivel de rechazo

La carne y sus productos derivados poseen un alto contenido de proteínas y de agua, lo que da a lugar a la proliferación de microorganismos según las condiciones y factores presentes en el medio (Sofos, 1997).

Acorde con la Norma INEN 1338:2012, la actividad microbiana presente en salchichas (embutidos escaldados) son: Aerobios mesófilos, Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Salmonella.

2.2.3 Aerobios mesófilos:

La norma INEN 1529-5 se refiere a los organismos *aerobios mesófilos* como microorganismos que se desarrollan en presencia del oxígeno a temperaturas comprendidas en un rango de 20 a 45 °C y en condiciones óptimas en temperaturas entre 30 a 40 °C (INEN, 2006). Los *aerobios mesófilos* o conocidos también como de conteo total son microorganismos indicadores de contaminación en alimentos, por deficiencias de manejo o proceso. Otros microorganismos

integrantes del conjunto de indicadores de contaminación son los hongos, levaduras y coliformes totales (Murano, 2000).

2.2.4 *Escherichia coli*

Escherichia coli se desarrolla en medios no exigentes, con la ayuda de gas, fermentando de esta manera la glucosa y lactosa, estos microorganismo del grupo de las Gram negativas y de la familia de las enterobacterias se caracterizan por tener coloraciones negras y a su vez brillantes, que al ser colocadas en contacto con luz reflejan un tono verde oscuro brillante, además tiende a sobrevivir durante un prolongado tiempo en superficies de tierra tanto de verduras como de frutas, produce toxinas conocidas como verotoxinas que pueden ocasionar problemas a la salud del consumidor, para su crecimiento requiere de temperaturas de 6°C a 50°C, inhibiendo su crecimiento a temperaturas mayores de 65°C (Hussein, 2012).

Es un agente de enfermedades alimentarias, tratadas como infección, estas infecciones pueden desencadenarse por una mala manipulación del alimento en conjunto con la higiene inadecuada tanto del consumidor como del proveedor del alimento, mal manejo de aguas residuales y la falta de refrigeración rápida después de elaborados de los alimentos (Bourgeois, 2001).

En la carne, después del proceso post mortem, el músculo realiza procesos bioquímicos, en donde el aporte de nutrientes se convierte en un aliado para la proliferación para la mayoría de microorganismos sin importar la complejidad de las necesidades que cada bacteria requiera, por lo que ayuda al crecimiento de bacterias de necesidades simples como *E. coli* hasta *Streptococcus faecium* que requiere gran cantidad de aminoácidos para su crecimiento (Prescott, Harley y Klein, 2000). El tipo de *E. coli* presente en productos cárnicos ha sido denominado como 0157:H7 (Sofos, 1997)

2.2.5 *Staphylococcus aureus*

Microorganismo anaerobio facultativo, crece a temperaturas entre 30 a 35°C, sin embargo, las enterotoxinas necesitan temperaturas más elevadas para su reproducción. Es uno de los microorganismos causantes de intoxicación alimentaria, se encuentran en el hombre en las cavidades nasales, la piel, ojos, garganta y tracto intestinal, desde donde migran a los alimentos y los contaminan (Murano, 2000).

Los problemas de intoxicación se dan por la falta de refrigeración, tratamientos térmicos insuficientes, productos sin cubrir a temperatura ambiente, malas prácticas de higiene personal, entre otros (Murano, 2000).

2.2.6 *Clostridium botulinum*

Es una bacteria del género Gram positiva, se reproduce sin necesidad de aire, este bacilo produce las conocidas toxinas botulínicas en microambientes con pH ácidos mayores a 4, esta toxina es termorresistente por lo que los tratamientos de esterilización están diseñados para destruir esta bacteria a temperaturas elevadas (Murano,2000).

Poseen esporas, las mismas que ocasionan que el microorganismo sobreviva en un estado de latencia hasta encontrarse nuevamente en condiciones óptimas de crecimiento. Estas bacterias en forma de bacilo se encuentran presentes en los alimentos enlatados y en productos cárnicos como los curados, produciendo enfermedades al consumidor, este microorganismo necesita medios con alta proteína y bajo en sal, necesita temperaturas entre 3°C hasta los 50°C, pero al someter a los alimentos a temperaturas de 80°C sus toxinas son inactivadas (Sánchez, 2008).

Clostridium botulinum es un agente causal de intoxicación alimentaria, esta intoxicación se relaciona con tratamientos térmicos deficientes a pH ácidos mayores a 4, que han sido empacados con tecnología de vacío y enlatado, o a

la mala manipulación dentro del proceso de elaboración del alimento (Sofos, 1997).

Los cambios en las tonalidades de la carne, como verdes, marrones o grises, son causados por bacterias de género *Bacillus*, *Clostridium* y *Pseudomonas* mayormente (Amézquita, Arango, Restrepo, y Restrepo, 2001).

2.2.7 Salmonella

La contaminación causada por *Salmonella* esta derivada principalmente por roedores, aves y huevos (Sofos, 1997). Es un microorganismo *aerobio mesófilo* causante de infecciones alimentarias, esto se debe principalmente al consumo de carnes no cocidas, por contaminación cruzada de una carne cruda con una cocida causando migración de microorganismos, los tratamientos inadecuados a alimentos elaborados con huevo o carne, entre otros factores.

Los principales vehículos de contaminación de *Salmonella* son los alimentos y el agua; esta bacteria requiere medios ricos en grasas y proteína con una baja concentración de agua, para su crecimiento óptimo esta bacteria requiere temperaturas que oscilan entre 30°C a 37°C, para inactivar esta bacteria se necesita someter a los alimentos a temperatura de 70°C (Dawson, 2008).

La calidad microbiológica presente en los alimentos influye directamente en la conservación del alimento y en la vida en percha del mismo, los microorganismos indicadores ayudan a prevenir de manera oportuna el manejo inadecuado dentro de los procesos de elaboración o contaminación que ayudan a la proliferación de microorganismos patógenos (Ashbolt, Grabow y Snozzi , 2001).

2.3 Análisis Físico Químico

2.3.1 Potencial de hidrógeno (pH)

El pH es una medida en la escala de la acidez o la basicidad, la escala se encuentra entre 0 y 14, los valores menores a 7 son considerados como ácidos, mientras que los valores mayores a 7 son considerados como básicos. En el año 1990 el pH fue definido por Sorensen como el logaritmo negativo de la actividad molar de los iones de hidrógenos (Dean, Merritt, y Lynne, 2011).

Este análisis puede ser determinado a través de un potenciómetro (pH-metro), este instrumento indica la diferencia del potencial de un electrodo de cloruro plata y otro de vidrio que identificará al ion hidrógeno de la muestra (Dean, Merritt, y Lynne, 2011).

En la industria alimentaria se mide el pH de los alimentos para conocer la estabilidad de cada producto ya que ésta técnica de análisis está ligada directamente con el medio de crecimiento de diversos microorganismos (Dean, Merritt, y Lynne, 2011).

El pH de la carne de animales de abasto después de su proceso post mortem, sufre un descenso por la acción del ácido láctico presente en los músculos, en la industria cárnica es de suma importancia mantener el pH adecuado (5.4 - 5.9) ya que si el pH incrementa (6.0 – 6.8) puede ocasionarse degradaciones en la proteína por la acción de microorganismos (Sánchez, 2013). La acción de los microorganismos es sensible al alza y baja de pH, cuando el pH baja la proliferación bacteriana disminuye el ritmo de crecimiento de bacterias y levaduras, sin embargo, existen microorganismos como los mohos que presentan resistencia a pH menores a 3.5 (Amézquita, Arango, Restrepo, y Restrepo, 2001).

Para controlar los parámetros de los alimentos como las condiciones de su elaboración, el pH es uno de los factores determinantes en el tiempo de vida útil, por lo general en embutidos con pH ácidos permiten una mejor conservación del alimento ya que este impide la proliferación, el pH se basa en la concentración tanto de iones de hidrogeno como de protones, lo que determina que microorganismo pueden crecer según el medio en el que se encuentren (Tirado, 2005). El control de microorganismos en productos cárnicos cocidos se debe a la cocción al producir la inactivación de los microorganismos patógenos (Murphy, 2005).

2.3.2 Humedad

Según Honikel, 2008 el contenido de agua en la carne es de aproximadamente 70 a 75%, del cual el 5% es agua que interactúa con las proteínas (agua ligada), el 70% restante es agua libre. La determinación de materia seca o humedad se basa en la pérdida del agua libre ligada por la acción del aire forzado proveniente de una estufa de calentamiento, el análisis de humedad da a conocer la cantidad total de agua en una muestra.

El contenido de humedad en la carne es de suma importancia en el tejido muscular de las carnes consideradas como magras, sin embargo, es directamente proporcional a que sea mayormente perecedero (Honikel, 2008).

El investigador Muguerza (2012), realizó el análisis de humedad en salchichas de pollo guiado por la Norma Internacional ISOR-1442, para comprobar el contenido de humedad presente, siendo el 72,28 y 73%, considerado como el mayor ingrediente presente en las salchichas.

La humedad está influenciada en tres factores importantes de un alimento como cohesividad, materia prima y compresibilidad (Ramírez, 2014), el exceso de humedad en un alimento puede ocasionar podredumbre, el autor Chan (2013), determinó la humedad de salchichas por el método tradicional, aplicó 75°C

durante 3 horas empleando el uso de estufa, el porcentaje de humedad fue de 0,8% analizado en 1 gramo de salchicha.

2.3.3 Índice de Peróxidos

Los índices de peróxidos se pueden realizar mediante pruebas cualitativas y cuantitativas, este es uno de los factores que permite conocer el estado de deterioro de una grasa. La cantidad de peróxidos tiende a ser expresada en miliequivalentes de oxígeno por un kilo de grasa en una muestra que genera oxidación del yoduro de potasio. Los peróxidos contienen en su estructura química, enlaces de oxígeno – oxígeno (Fernández y Morales, 2012).

En la industria de los alimentos el índice de peróxidos es una de las pruebas físico químicas más usadas e importantes, el contenido de lípidos alterados presentes en los alimentos causa notablemente el decaimiento de los productos, por lo que esta prueba se emplea para medir la calidad de grasas y aceites, el método usado para la determinación de peróxidos es una prueba semi cualitativa conocida como método de Merck, en donde se emplean tiras de viraje de color comparativas, las que son introducidas por pocos segundos en un solución de agua oxigenada y la muestra analizada, de esta manera el oxígeno del peróxido presente en la muestra es movilizado por enzimas peroxidadas hacia la tira, lo cual hace que el color varíe por

medio de un indicador de oxido reducción (Grosch, y Schieberle, 2010).

Las oxidaciones de las grasas se generan por la presencia de peróxidos, produciendo un sabor y olor particular a rancidez, a su vez aparecen más factores que se hacen presentes en la descomposición. El índice de peróxido se ve reflejado por la longitud de la cadena del ácido y el grado de instauración (Alarcón, 2010).

2.3.4 Capacidad Antioxidante (Método DPPH)

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante son diversos, los cuales pueden ser in vivo o in vitro.

Las técnicas in vitro se basan en la determinación de la actividad presente en el antioxidante de una muestra (Mezcla, alimento o compuesto) frente a sustancias de naturaleza radical; las pérdidas de color en esta técnica varían en forma directa con la concentración (Botero, Monsalve y Rojano, 2007). Una de las desventajas de las técnicas de determinación antioxidante in vivo es la inestabilidad ocasionado por el incremento de estrés oxidativo (Luximon, Bahorun y Crozier, 2003).

La capacidad antioxidante de una muestra dependerá del microambiente en el que se encuentre, así como de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, los mismos que podrán interactuar entre sí para lograr un sinergismo entre ellos (Luximon, Bahorun y Crozier, 2003)

En estudios realizados con anterioridad se han aislado compuestos fenólicos (antioxidantes) presentes en el aceite de orégano para evaluar el efecto antioxidante y la función de protección realizada en las células frente a los cambios oxidativos. Esta investigación realizada por García, 2010 determina que el efecto antioxidante obtenido de compuestos fenólicos arroja buenos resultados en concentraciones mínimas de 0,01 µg/ml, dicha concentración fue comparada con la de vitamina C (presente en la pulpa de guayaba) en la cual se empleó en concentraciones mayores de 5,495 µg/ml, recomendando al aceite de orégano como una buena opción antioxidante (García, 2010).

El DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) es un radical estable y libre, de coloración púrpura en medios metanólicos por la donación de un electrón por un compuesto que contenga poder antioxidante, de esta manera la tonalidad violeta disminuye

a un color casi transparente, de igual manera esto indica que la absorbancia del compuesto antioxidante ha disminuido (Gurrieri, Miceli, y Lanza, 2000).

A su vez distintos compuestos naturales o cromógenos como ABTS, DPPH, DMPO entre otros, se emplean para determinar la capacidad presente en compuestos fenólicos para captar radicales libres generados, evitando o retardando los efectos provocados por los procesos oxidativos. Sin embargo, los métodos más aplicados son ABTS y DPPH, presentando buenas condiciones de aceptabilidad en determinadas condiciones, el DPPH se considera como un radical libre que se obtiene de manera directa sin acondicionamiento previo, mientras que el ABTS se obtiene tras haber sido generado por una reacción química. Aunque se ha obtenido buenos resultados de ambas técnicas; los resultados que presentaron mayor absorción fueron en longitudes de onda de 414 nm para el radical ABTS y 515 nm en el radical DPPH (Gurrieri, Miceli, y Lanza, 2000).

2.3.5 Actividad de agua

La actividad de agua en los alimentos representa la estabilidad de un producto en el ambiente, este a su vez se determina por la presión de vapor parcial de agua que se encuentra en la superficie, la actividad de agua se ve influenciada por la temperatura, la composición y que cantidad de agua está presente en el producto final, estos factores influyen en las características organolépticas del producto, el valor nutricional y la manera en cómo se le puede conservar (Nielsen, 2012).

La actividad de agua es un factor imprescindible para definir la presencia de microorganismos ya que estos requieren de agua disponible para su rápida proliferación, una manera de disminuir la actividad de agua en un alimento es el agregar soluto esto permite que las moléculas del agua se ligen al soluto mientras otras se adhieren a componentes que requieran agua, de esta forma se disminuye la actividad de agua (Pollio y Moreno 2012).

Chan (2013), define que bacterias como *Salmonella* necesitan una actividad de agua de 0,92 para poder proliferarse, *Aspergillus flavus* requiere 0,83 de actividad de agua para producir sus toxinas, tanto la actividad de agua como el pH son factores importantes para el crecimiento de microorganismos, mientras que Readorn J (2012), asegura que el rango para el crecimiento de bacterias es 0,90 de actividad de agua, los hongos como las levaduras requieren de 0,61 de actividad de agua, *Staphylococcus aureus* requiere de 0,98 de actividad de agua y *Escherichia coli* 0,95 de actividad de agua.

2.4 Aditivos alimentarios

El Codex Alimentarius define a los aditivos alimentarios como mezclas o sustancias adicionadas de manera intencional a productos alimenticios durante cualquier etapa de su procesamiento, con el propósito producir efectos de conservantes y de aceptación en los consumidores.

Los aditivos alimentarios son considerados como sustancias que no se consumen directamente como un alimento y se adicionan a este de manera premeditada o accidental, los aditivos son las sustancias agregadas de manera intencional tengan o no valor nutritivo mientras que las accidentales son sustancias que se originan o forman y exponen al alimento a cambios o contaminación antes o en el transcurso de su transformación y procesamiento (García y Mendoza, 2012).

El uso de aditivos debe ser necesaria y útil cuidando que sean seguros para el consumidor, la adición debe llevar a cabo un propósito tecnológico en cualquiera de sus fases de proceso como preparación, tratamientos, envasado, transporte y almacenamiento (García, Fernández y Morales, 2008).

En la actualidad existen 2800 aditivos aprobados por los organismos reguladores competentes para el uso en alimentos los cuales un aproximado de 1200 son usados como aromatizantes, los aditivos realizan diversas funciones

tecnológicas con fines de conservación, modificación en propiedades organolépticas como textura, aroma, realce de sabor y color. La duración o permanencia de los aditivos presentes en los productos lo hace diferente a los coadyuvantes, y el poseer valor nutritivo o no lo diferencia de sustancias enriquecidas como lo son las vitaminas, aminoácidos y minerales, de igual manera la incorporación intencionada lo hace diferente de la accidental por contaminantes, metales pesados, pesticidas y residuos de medicamentos veterinarios (García, et, al. 2012).

Los aditivos se pueden ver clasificados por su origen de obtención como naturales, idénticos a los naturales, modificados y artificiales. Pueden ser productos químicos obtenidos por síntesis e incluso productos obtenidos a través de procesos biotecnológicos (Vidal y Hernández, 1999)

Los aditivos de derivados naturales son adquiridos de organismos vegetales como animales, por medio de procesos físicos, químicos o enzimáticos, como lo son los aceites vegetales ricos en antioxidantes, los considerados idénticos a los naturales se obtienen en el laboratorio de síntesis química o biológica, como los colorantes presentes en vegetales como los carotenoides (García, et, al. 2012).

Las celulosas modificadas como la metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa y almidones modificados también son usadas en la industria alimentaria, son compuestos de origen natural que han sido previamente modificados en su estructura, mientras que los artificiales son obtenidos por diferentes síntesis estos no están presentes de forma natural (García, et, al. 2012).

De acuerdo las funciones que desempeñan en el alimento los aditivos alimentarios se ven clasificados en los siguientes grupos, a continuación, en la tabla 4 se los detalla.

Tabla 4.

Clasificación de los aditivos alimentarios por su función.

Aditivo Alimentarios	Función
Agentes de recubrimiento	Otorgan un aspecto brillante al exterior del alimento a su vez proporcionan una capa protectora.
Antiaglomerantes	Evitan la cohesión entre partículas, dan favor facilidad de fluido
Antioxidantes	Impiden o retrasan el deterioro causado por la oxidación y enranciamiento.
Clarificantes	Eliminan la turbidez en líquidos.
Colorantes	Realce o refuerzo de color en los productos alimenticios, líquidos o sólidos.
Conservadores	Prolongación de vida útil del alimento, protección del deterioro microbiano
Edulcorantes	Proporcionan dulzor de manera total o parcial a los alimentos.
Estabilizantes, gelificantes, emulsionantes, espesantes	Mantienen la homogeneidad en los productos que posee dos o más fases inmiscibles.
Humectantes	Evitan la pérdida de humedad.
Potenciadores de sabor.	Intensifican el sabor o aroma del alimento
Reguladores de pH	Estabilizan o regulan la alcalinidad o acidez de un alimento.
Secuestradores	Permiten la formación de compuestos químicos con iones metálicos.

Tomado de Carrillo y Mendoza, 2012.

Por otra parte, la FDA en conjunto con el Consejo Internacional Alimentario clasifica a los aditivos de la siguiente manera.

Tabla 5.

Clasificación de los aditivos por su especificidad técnicas por la FDA y el Consejo Internacional Alimentario:

Aditivos clasificados por la FDA

Aditivos para mejorar o conservar la seguridad y frescura de los alimentos.	Antioxidantes y conservadores.
Aditivos para mejorar el nivel nutricional.	Vitaminas, minerales, fibras, reductores de calorías y grasas.
Mejoradores de sabor, textura y apariencia.	Edulcorantes, estabilizantes, espesantes, emulsionantes, gelificantes, reguladores de pH.

Tomado de FDA, 2011.

El uso de aditivos alimentarios es parte indiscutible dentro de los procesos de producción, proporcionan alimentos más estables, de mejor apariencia, económicos e innovadores con el pasar del tiempo (Atzi, 2001).

Sin embargo, el uso de los mismos ha generado gran controversia, al consumirse en la mayoría de productos expendidos en el mercado en grandes cantidades y se presume que están dentro de los compuestos menos seguros encontrados en los alimentos después de pesticidas, tóxicos naturales y toxinas microbianas (Atzi,2001).

De esta manera los aditivos pueden usarse bajo la autorización de los organismos competentes, demostrando que es necesario su uso, justificando de alguna manera que el alimento o producto no podría cumplir con todas las características de calidad y deseadas; si este aditivo no estuviese presente (Azti, 2001).

Otro factor importante es la eficacia tecnológica, la cual se encarga de mantener la calidad nutritiva del alimento, dar características específicas para consumidores con necesidades nutritivas especiales, ayudar a la estabilidad y preservación del alimento sin alterar su calidad o tratar de ocultar algún tipo de defecto y guarda la seguridad para el consumidor, de esta manera el aditivo entra en las conocidas listas positivas (Azzi, 2001).

Con el avance tecnológico se ha incorporado a la industria alimentaria diversos aditivos con el fin de obtener alimentos de mejor calidad, inocuos, garantizando que sean seguros para el consumo humano (Güngörmüs, et al, 2010).

Se han realizado varios estudios por parte de investigadores, científicos, unidades regulatorias en torno a la polémica que gira en el consumo de sustancias de uso masivo (aditivos) en la transformación o producción de alimentos y de sus efectos secundarios, precursores de varias enfermedades como: intestinales, cardíacas, alergias alimenticias, cáncer, Parkinson entre otras (Andino y Castillo, 2010).

Por esta razón y por el riesgo de toxicidad de la incorporación de aditivos en los alimentos se realizan pruebas para determinar la seguridad de los aditivos alimentarios, su inocuidad y en las dosis en las cuales se deben usar.

La normativa que regula los aditivos alimentarios dentro del Ecuador es la Norma INEN CODEX 192:2013 en el que se detalla la ingesta diaria admisible IDA y uso tecnológico justificado de los aditivos permitidos (INEN,2013).

2.4.1 Ingesta diaria admisible (IDA)

Se refiere a la cantidad media de un aditivo alimentario, que se puede ingerir de manera habitual sin correr riesgo en la salud, la IDA es expresada en miligramos de aditivo ingerido por kilogramos de peso corporal (Carrillo y Mendoza, 2012).

La IDA calcula un amplio margen de seguridad para el consumo de un aditivo alimentario diariamente o dentro de la dieta diaria, durante toda la vida, sin presentar efectos adversos notables en la salud. Según el comité mixto FAO/CODEX de expertos en aditivos alimentarios JECFA, se establecieron criterios toxicológicos en base a los 3 tipos de IDA; No especificada (NE), temporal y sin asignar.

La IDA no especificada hace referencia a los aditivos alimentarios que mantienen baja toxicidad y en los cuales no se ha observado efectos sobre la salud del consumidor a través de datos toxicológicos, la IDA temporal expresa el uso seguro del aditivo en un periodo de tiempo corto, esperando recopilar información para un dato exacto a largo plazo, por último la IDA sin asignar se utiliza en el caso de no encontrar datos disponibles o la toxicidad es alta por lo que su uso está establecido como no confiable (Carrillo y Mendoza, 2012).

La ingesta diaria admisible esta especificada para todo el grupo de aditivos utilizados en alimentos. Entre los aditivos alimentarios utilizados para la elaboración de salchichas se encuentran los conservantes, emulsionantes, mejoradores de sabor, textura y apariencia.

2.4.2 Conservantes o Preservantes

Los conservantes forman parte del grupo de aditivos alimentarios, se definen como sustancias añadidas, utilizadas para prolongar el periodo de vida útil de un alimento. Su principal objetivo es prevenir la proliferación y contaminación de microorganismos como bacterias, hongos y levaduras (Carrillo, 2012).

En la actualidad se ha exigido la prohibición de algunas sustancias químicas como aditivos, involucrados en la transformación de alimentos, sin embargo, su uso ha podido ser justificado por ser inofensivos siempre y cuando se apliquen en las concentraciones en las que aseguren su eficacia y la ausencia de riesgos sanitarios y de salud (Tovar, Ortiz y Soriano, 2012).

Los conservantes pueden ser ingredientes naturales o sintético que se añade a productos alimenticios, productos farmacéuticos y productos de cuidado personal para prevenir el deterioro, causado por crecimiento microbiano o por cambios químicos indeseables (Alandi y García, 2008, pp. 80-86)

Tabla 6.

Dosis diaria admisible, efectos secundarios en preservantes inorgánicos usados en la industria de alimentos.

Preservantes Inorgánicos	Dosis diaria admisible (peso corporal)	Efectos secundarios
Nitratos, nitritos	0.06mg/kg nitritos 3,7 mg/kg nitratos (Carrillo y Mendoza, 2012)	El nitrito se une a la hemoglobina, e impide el transporte de oxígeno (Carrillo y Mendoza, 2012).
Sulfitos	200 a 500 ppm (Carrillo y Mendoza, 2012).	No son tóxicos
Propionatos	No especificado	No implica riesgo tóxico en condiciones de empleo ya que el organismo los metaboliza con facilidad por ser ácidos grasos (Tsai,1984)

Tomado de Carrillo y Mendoza, 2012.

Tabla 7.

Dosis diaria admisible, efectos secundarios de preservantes orgánicos usados en la industria de alimentos.

Preservantes Orgánicos	Dosis diaria admisible	Efectos secundarios por exceso en IDA
Boratos	No especificado	Mala eliminación, acumulación en el organismo. Puede resultar tóxico (Carrillo y Mendoza, 2012).
Benzoatos (Agente antimicrobiano pH 2.5 a 4.0)	5 mg/kg (Carrillo y Mendoza, 2012).	Diarrea, hemorragia interna, inflamación de hígado y riñón (Carrillo y Mendoza, 2012).
Sorbatos	25 mg/kg (Carrillo y Mendoza, 2012).	En concentraciones altas ocasiona hipersensibilidad, hipertrofia renal y hepática (Carrillo y Mendoza, 2012).
p-Hidroxi-Benzoico	No especificado	Puede ser cancerígeno (Carrillo y Mendoza, 2012).

Tomado de Carrillo y Mendoza, 2012.

Uno de los conservantes inorgánicos más utilizados en la industria cárnica son los nitritos y nitratos (UNAM, 2011).

2.4.3 Nitratos y nitritos

Se emplean como sales sódicas y potásicas de nitritos y nitratos, estos aditivos alimentarios son usados en carnes de curado para dar un aroma y aspecto de tonalidades color rosa-rojizo característico, la prevención de la aparición de microorganismos *Clostridium botulinum* responsable de las toxinas botulínicas y al enranciamiento oxidativo de las carnes (García, Morales y Pachón, 2012).

La presencia de aditivos nitritos y nitratos conducen a la formación de nitrosaminas considerados como agentes cancerígenos y mutágenos, causante de cáncer de hígado, riñón, estómago, esófago y páncreas. Los nitratos pueden verse reducidos por sistemas microbianos a nitritos, esto ocasiona la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina, provocando que no se una al oxígeno ocasionando cuadros de obstrucción al respirar (anoxia), por lo que el uso de este aditivo se emplea en concentraciones bajas de 200 y 500 ppm de nitritos y nitratos respectivamente. La IDA como se indica en la tabla 7 es de 0.06 mg/kg de nitritos, valor usado en la elaboración de sal nitrante para el curado de procesos cárnicos (Berdanier, Dwyer y Feldman, 2010).

2.4.4 Antioxidantes

Los antioxidantes son un grupo de sustancias que contienen estructuras químicas diversas y con diferentes mecanismos de acción. Estos antioxidantes evitan o retrasan los procesos oxidativos, se basa en la reacción que tienen los antioxidantes con los radicales libres presentes en los lípidos lo que resulta en la formación de productos inactivos (Vitagor, 2008).

El empleo de antioxidantes a más de ayudar en la calidad del producto final beneficia el tiempo de vida útil, al prolongarlo, sin embargo, los antioxidantes de origen natural tienen menor efectividad que los antioxidantes de origen sintético por esta razón la industria alimentaria los emplea en alimentos con una perspectiva más natural (Bergliter y Hernández, 2010).

La oxidación de lípidos forma parte de los factores de deterioro en los alimentos al igual que las alteraciones producidas por microorganismos limitando la vida útil del producto (Carrillo y Mendoza, 2012).

Se los pueden clasificar de manera general como antioxidantes naturales y antioxidantes sintéticos (Gavilán y Jácome, 2012).

2.4.5 Antioxidantes Naturales

Se consideran antioxidantes naturales al conjunto de colorantes naturales, vitaminas, minerales, compuestos vegetales y enzimas, que evitan el daño causado por los radicales libres presentes en el organismo (Berdanier, Dwyer y Feldman, 2010).

Los antioxidantes tienen capacidades de bloqueo frente a los radicales libres que transforman o cambian el colesterol malo, disminuyendo de esta manera el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Los principales estudios se centran principalmente en la vitamina C, vitamina E, beta-carotenos, flavonoides, selenio y zinc (Berdanier, Dwyer y Feldman, 2010).

Se sabe que la modificación del "colesterol malo" (LDL-c) desempeña un papel fundamental tanto en la iniciación como en el desarrollo de la arteriosclerosis (engrosamiento y dureza anormal de las cubiertas internas de los vasos sanguíneos debido a un depósito de material graso, que impide o dificulta el paso de la sangre) (Berdanier, Dwyer y Feldman, 2010).

El grupo de antioxidantes naturales y de síntesis más utilizado son los ascorbatos estos son considerados sales o ésteres, dentro de este conjunto tenemos al ácido ascórbico, ascorbato sódico, ascorbato cálcico, palmitato de L-ascorbilo y el estereato de L-ascorbilo (Gavilán, 2012).

El ácido ascórbico o vitamina C es un compuesto hidrosoluble derivada del ácido gulónico sintetizado a partir de una glucosa. Se lo ha asociado a varias funciones metabólicas en el organismo, metabolismo de carbohidratos y con funciones antioxidantes y antiradicales, dicha actividad antioxidante inicia con el equilibrio de sus principales moléculas cuando L-ascórbico pasa a L-dehidroascórbico, esto hace que la molécula pueda inhibir oxígeno e hidrógeno (radicales oxidativos) (Kraemer, 2002).

Se lo encuentra de forma natural en varios alimentos y es usado de manera amplia en la industria de los alimentos como un efectivo antioxidante, se puede encontrar diferentes concentraciones de vitamina C en los alimentos, en una muestra de 100 gramos se obtiene 500, 50, y 80 mg en frutas como el kiwi, naranja y limón respectivamente. Su dosis diaria recomendada es de aproximadamente 80 mg por día en hombres y mujeres, las frutas, verduras y legumbres de colores intensos aportan un 86% de ácido ascórbico al organismo (Vladés, 2010).

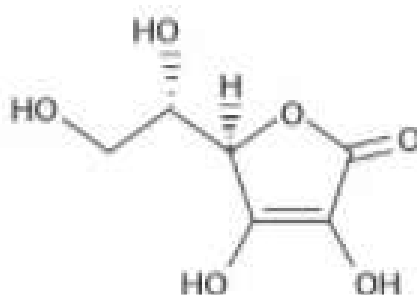


Figura 1. Estructura molecular de Ácido L-ascórbico. Nombre sistemático 3,4-dihidroxi-5-((S)-1,2-dihidroxietil) furano-2(5H)-ona.

Adaptado de Carillo y Mendoza, 2012.

2.4.6 Antioxidantes Sintéticos

Entre los antioxidantes sintéticos más aplicados en la industria alimentaria tenemos al ácido ascórbico más conocido como vitamina C, BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno) (Carillo y Mendoza, 2012).

2.4.7 Butilhidroxitolueno (BHT) y BHA (butilhidroxianisol).

Son compuestos de origen sintético, ampliamente usados en la industria alimenticia como antioxidantes lipídicos. El BHA está compuesto por 3-tert-butil-4-hidroxianisol y 2-tert-butil-4-hidroxianisol, es soluble en grasas y aceites, evita

la oxidación de las mismas en alimentos congelados, enlatados, carnes, gomas, etc (Vitagor, 2008).

Hidroxitolueno butilado o butilhidroxitolueno (2,6-bis (1,1-dimetiletil)-4-metilfenol), es un antioxidante sintético con características liposolubles, al igual que el BHA es utilizado en alimentos con grasa por la facilidad que tiene para solubilizarse evitando la oxidación de la misma, generalmente es añadido a cereales y mantecas de origen vegetal (Vitagor, 2008).

Su consumo excesivo puede traer problemas en el sistema del metabolismo hepático por lo que el IDA del BHA Y BHT es del 0,125 y 0,3 mg/kg respectivamente (Ibañez, Irigoyen y Torre, 2012).

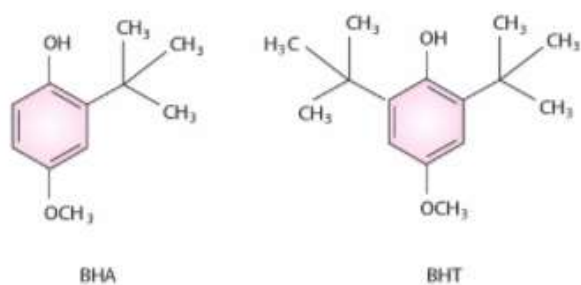
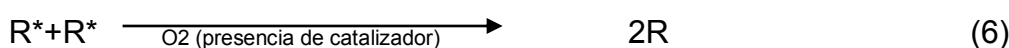
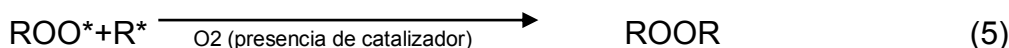
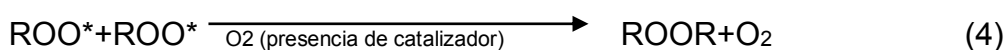
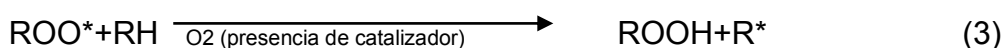
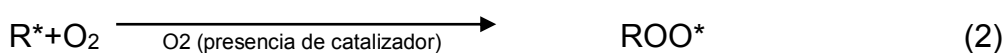


Figura 2. Estructura molecular de BHA Y BHT.

Adaptado de Carillo y Mendoza, 2012.

La acción de estos antioxidantes sintéticos es interactuar entre moléculas de oxígeno con moléculas de grasa obteniendo como resultado un radical libre, este radical libre reacciona con otra molécula de grasa lo que se vuelve una reacción repetitiva (Bergliter y Hernández, 2010).



La oxidación inicia con la reacción (1), el oxígeno se une al doble enlace del ácido graso insaturado produciendo un radical libre R^* , en la fase de propagación el radical R^* interactúa con el oxígeno formando un peroxi ROO^* (2), este radical actúa sobre la molécula RH formando un hidroperóxido $ROOH$ y un radical libre, extendiendo el proceso de oxidación (3 y 4), de esta manera los hidroperóxidos se acumulan y descomponen en compuestos secundarios (5y6), para evitar esta oxidación se emplean sustancias antioxidantes como BHT Y BHA (Delgado,2015)

2.4.8 Bioantioxidantes

Este tipo de antioxidantes cumplen su papel a través de sus componentes bioactivos, estos tienen un mecanismo de acción diferente según sean sus componentes y se los puede encontrar de forma natural en frutas y verduras, entre los bio antioxidantes más conocidos están el licopeno y carotenos componentes presentes en el tomate y la zanahoria (Mckee T, 2009).

2.4.9 Aceites esenciales

Se denomina a un aceite esenciales como un derivado químico adquirido a través de extractos de origen vegetal (plantas y vegetales), mediante procesos físicos, uno de los métodos más conocidos y empleados hoy en día industrialmente es la destilación conocida también como arrastre de vapor (Astudillo,2014). Los aceites esenciales son líquidos, solubles y volátiles en presencia de solventes orgánicos como el alcohol, éter, aceites vegetales y minerales (Astudillo, 2014).

Las bondades presentes en los aceites esenciales, como las propiedades antioxidantes y antirradicales actúan de manera benéfica en la conservación del alimento como en la salud del consumidor. Estudios ya realizados con anterioridad han demostrado que el uso o incorporación directa de aceites esenciales en alimentos tales como cárnicos, compotas de frutas o purés de

verduras, logran controlar la flora microbiana, y preservar los alimentos de la oxidación (Pavia y Lampan, 2009).

3. MANEJO DEL EXPERIMENTO

El manejo del proyecto se basará en el cumplimiento del cronograma de actividades y disponibilidad de equipos necesarios y los laboratorios de procesamiento de cárnicos, química y microbiología de la Universidad de las Américas.

Para el presente estudio se aplicó un Diseño de Bloques Completamente al Azar con un total de 8 tratamientos (tabla 8) y 3 repeticiones, tomando como unidad experimental a las salchichas de pollo con aceites esenciales en diferentes concentraciones

Se realizarán los cálculos correspondientes para obtener el coeficiente de variación y la prueba de separación de medias utilizando Tukey al 5%, con el programa estadístico "InfoStat" para encontrar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

3.1 Tratamientos establecidos para elaboración de salchichas de pollo.

Tabla 8.

Descripción de cada tratamiento junto la cantidad utilizada.

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
Tratamiento 1	Salchichas de pollo con 6 mg de BHT y sal nitrante.
Tratamiento 2	Salchichas de pollo con 120 µl de aceite de orégano.
Tratamiento 3	Salchichas de pollo con 120 µl aceite

	esencial de aguacate.
Tratamiento 4	Salchicha de pollo con 120 μ l de aceite esencial de guayaba.
Tratamiento 5	Salchicha de pollo con 180 μ l de aceite esencial de orégano.
Tratamiento 6	Salchicha de pollo con 180 μ l de aceite esencial de aguacate.
Tratamiento 7	Salchicha de pollo con 180 μ l de aceite esencial de guayaba.
Tratamiento 8	Salchichas de pollo con aceite de orégano, aguacate y orégano, 120 μ l por cada uno.

3.1.1 Obtención del Aceite Esencial de Guayaba, Aguacate y Orégano

Los diferentes aceites esenciales se obtuvieron a partir del método Soxhlet, en el cual se utilizó 100 g de hojas secas trituradas de cada especie, por arrastre de vapor se pudo obtener los diferentes aceites, a continuación, se detalla el procedimiento.

3.1.2 Método Soxhlet

1. Trocear la materia y colocar junto con agua en el balón.
2. Armar el equipo Soxhlet.
3. Dejar ingresar el agua y prender el equipo.
4. Esperar a la ebullición del solvente y extracción de aceite por arrastre de vapor.
5. Repetir hasta la obtención de aceite requerida.



Figura 3. Flujograma del Método Soxhlet.

El procedimiento descrito en la figura 3 se estableció para la obtención de los tres aceites esenciales (aguacate, guayaba y orégano).



Figura 4. Obtención del Aceite Esencial de Guayaba.



Figura 5. Obtención del Aceite Esencial de Orégano.



Figura 6. Obtención del Aceite Esencial de Aguacate.

El funcionamiento del Soxhlet inicia con la materia prima seca dentro del balón aforado con agua, al entrar en contacto con calor empieza a evaporarse donde actúa la presión atmosférica facilitando la obtención de cada aceite esencial.

$$\%Rendimiento = \frac{ml \text{ aceite esencial guayaba}}{g \text{ materia vegetal}} * 100$$

$$\%Rendimiento = \frac{0,7 \text{ ml}}{100 \text{ g}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

$$\%Rendimient = 0,7$$

$$\%Rendimiento = \frac{ml \text{ aceite esencial orégano}}{g \text{ materia vegetal}} * 100$$

$$\%Rendimiento = \frac{0,8 \text{ ml}}{100 \text{ g}} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$\%Rendimiento = 0,8$$

$$\%Rendimiento = \frac{ml \text{ aceite esencial aguacate}}{g \text{ materia vegetal}} * 100$$

$$\%Rendimiento = \frac{0,5 \text{ ml}}{100 \text{ g}} * 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$\%Rendimiento = 0,5$$

El porcentaje de rendimiento obtenido de aceite esencial de guayaba fue de 0,7%, aceite esencial de orégano 0,8% y para el aceite esencial de aguacate 0,5%, este rendimiento se obtuvo en cada extracción realizada.

3.1.3 Elaboración de Salchichas de Pollo

La elaboración de las salchichas de pollo se realizó en la Universidad de las Américas en el laboratorio de procesamiento de cárnicos, la formulación que se utilizó se detalla en la tabla 10, a continuación se describe el procesamiento.

Tabla 9.

Formulación para salchichas de pollo.

Ingrediente	Porcentaje %
Carne de Pollo	40
Agua 0·C	15
Grasa de pollo	16
Proteína de Soya	13
Almidones y féculas	7
Especias	3
Sal	3
Azúcares	2
Carrageninas	1

Tomado de Guía de Prácticas para Laboratorio- UDLA, 2014.

Recepción de materia prima: pesado de especias, carne de pollo, especias, carrageninas, aceites esenciales grasa de pollo e ingredientes para poder realizar las salchichas.

Deshuesado del pollo: procedimiento que permite obtener solo la carne ya que se separa de los huesos y partículas extrañas.

Pesado: procedimiento que facilita la cantidad exacta de cada materia prima.



Figura 7. Pesado de ingredientes según la formulación empleada.

Molienda: procedimiento que facilita la reducción de la carne y la unión de la grasa ya que pasa por un disco de 3mm.



Figura 8. Reducción de carne y grasa en molino.

Mezclado: este procedimiento se realizó en el cutter donde se colocó la carne y se agregó cada ingrediente, esta mezcla se mantuvo a una temperatura de 8°C.



Figura 9. Proceso de mezclado de los ingredientes en cutter HOBART

Embutido: procedimiento que facilita colocar la masa cárnica en la tripa de colágeno calibre 19, empleando la maquina KitchenAid.



Figura 10. Proceso de embutido y amarrado en la maquina KitchenAid.

Escaldado: procedimiento de cocción rápida donde se sometió la salchicha a la temperatura de 75°C, por cada kilo de salchicha 1 minuto.



Figura 11. Proceso de escaldado en salchichas de pollo con aceites esenciales.

Almacenamiento: proceso que facilita la conservación de la salchicha, empacadas al vacío, se colocó a refrigeración, temperatura de 0°C a 4°C.



Figura 12. Empacado al vacío y almacenamiento de salchichas de pollo con aceites esenciales.

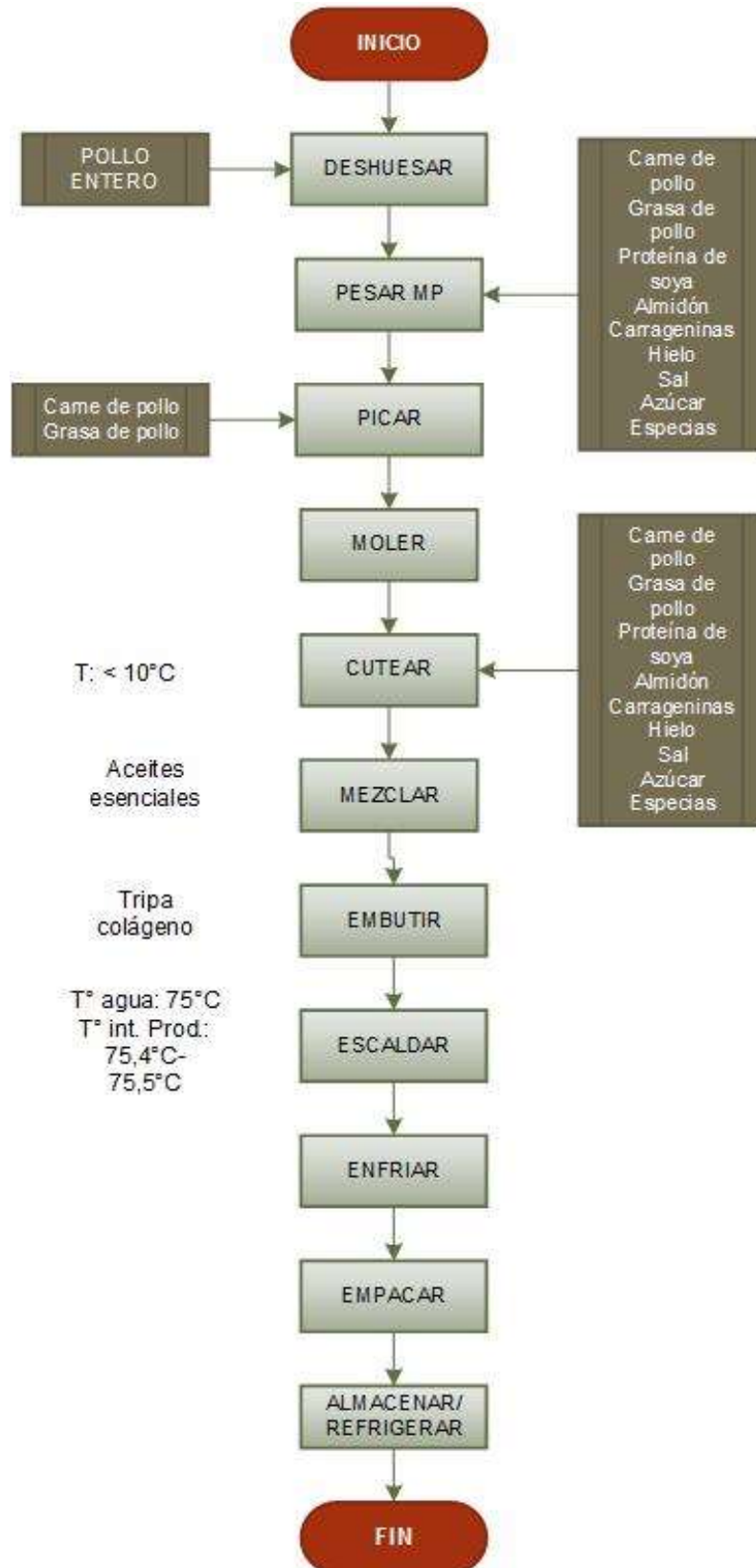


Figura 13. Flujograma Elaboración de Salchichas

El procedimiento para la elaboración de salchichas de pollo partió con la clasificación y pesado de la materia prima e insumos a usar, a continuación se realizó un cutedo en el cual se homogenizó la mezcla para obtener una masa madre, la cual fue dividida en 8 porciones para colocar las diferentes dosificaciones de aceites esenciales como se muestra en la tabla 8, seguidamente se realizó el proceso de embutido en tripas de colágeno calibre 18-20, las salchichas ya formadas fueron escaldadas hasta obtener una temperatura interna de 75°C, se dejó enfriar a temperatura ambiente por 10 minutos y finalmente se empacó al vacío para su posterior refrigeración a 4°C.

3.1.1 Análisis Microbiológico

Los microorganismos que se analizaron fueron; *Aerobios mesófilos* en medio PCA (Plate Count Agar), *Escherichia coli* en medio EMB (Eosina- Azul de Metileno), *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado, *Salmonella* en agar Salmonella Shigella y Clostridium en agar Clostridios sulforreductores, cada uno en medio selectivo específico para su crecimiento, este procedimiento se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad de las Américas, a continuación se detalla el procedimiento realizado para la siembra de cada microorganismo.

3.1.2 Materiales y equipos de laboratorio microbiológico

- Agitador BOECO PSU-10i
- Asa de Drigalski Triangular
- Autoclave Tuttnauer 3870
- Balanza Shimadzu Tx 3202L
- Bisturí
- Cajas tripetri
- Cámara de flujo laminar
- Cámara de Flujo Laminar Thermo Scientific 1300
- Contador de Colonias BOECO Germany CC-1

- Gradillas
- Incubadora Incucell
- Lámpara de alcohol
- Malla de calentamiento
- Micropipeta Ecopipette Capp de 10-100 μ l
- Puntas de micropipeta
- Refrigerador Hardman
- Soportes universales
- Tubos de ensayo

3.1.3 Procedimiento Análisis Microbiológico

1. Colocar los 8 tratamientos a analizar en la cámara de flujo laminar.
2. Colocar cada agar y los materiales necesarios para realizar la siembra (figura 14).
3. Diluir 1 gramo de muestra en 9 ml de agua de peptona.
4. Extraer 1ul de la muestra empleando micropipetas y colocar en cada agar ya preparado.
5. Colocar los cultivos de microorganismos en la incubadora a una temperatura de 37°C.
6. Determinar el tiempo de cada microorganismo según el agar empleado



Figura 14. Cámara de Flujo laminar con materiales para siembra de microorganismos.

3.2.4 *Aerobios mesófilos*

Se requiere de un medio específico de agar nutritivo como PCA para el desarrollo y crecimiento óptimo en cajas tripetri. La inoculación se realizó en la cámara de flujo laminar y se incubó a 37 °C por 48 horas (figura 15). El conteo de las colonias se realizó en el Contabilizador de Colonias BOECO Germany CC-1, el resultado será expresado en ufc/g (INEN 1529-1).



Figura 15. Agar nutritivo Plate Count Agar y Bacterias *Aerobios mesófilos*.

3.2.5 *Escherichia coli*

El agar nutritivo EMB selectivo para el crecimiento de enterobacterias, bacilos Gram negativos y otros microorganismos, en cajas tripetri se incubó por un período de 48 horas a 37°C (figura 16). El conteo de las colonias se realizó en el Contabilizador de Colonias BOECO Germany CC-1, el resultado se expresó en ufc/g (INEN 1529-1).

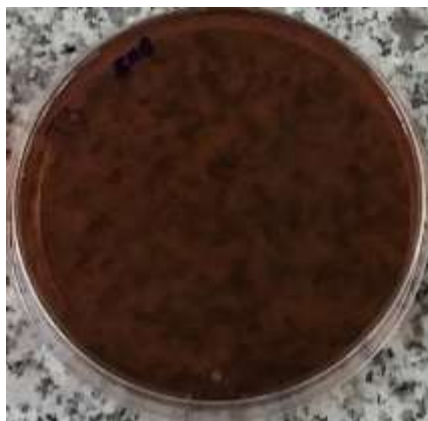


Figura 16. Agar nutritivo Eosina- Azul de Metileno.

3.2.6 *Staphylococcus aureus*

Requiere un tipo de medio selectivo, el agar manitol salado es un medio sólido específico para el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Se incubó en cajas tripetri a 37°C por 24 horas (figura 17). El conteo de las colonias se realizó en el Contabilizador de Colonias BOECO Germany CC-1, el resultado se expresó en ufc/g (INEN 1529-4).



Figura 17. Agar Manitol Salado nutritivo y Bacterias *Staphylococcus aureus*.

3.2.7 *Salmonella*

El medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Salmonella* spp, *Shigella* y otros microorganismos no fermentadores de lactosa es *Salmonella Shigella* Agar, se incubó a 37°C en aerobiosis durante 48 horas (figura 18). El conteo de las colonias se realizó en el Contabilizador de Colonias BOECO Germany CC-1, el resultado se expresó en ufc/g (INEN 1529-5).

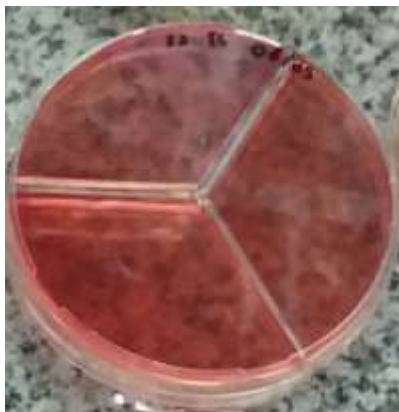


Figura 18. Agar *Salmonella Shigella* nutritivo.

3.2.8 *Clostridium*

Clostridium Agar diferencial es un medio de cultivo altamente nutritivo para el desarrollo de colonias *Clostridium* sulforreductores en cajas tripetri, incubadas a 30°C durante 3 días (figura 19). El conteo de las colonias se realizó en el Contabilizador de Colonias BOECO Germany CC-1, el resultado se expresó en ufc/g.

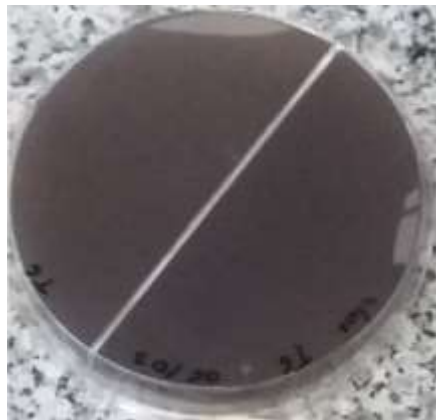


Figura 19. Agar Salmonella Shigella nutritivo



Figura 20. Flujoograma de Siembra de Microorganismos

3.3 Análisis Físico-químico

La determinación de los análisis físico-químicos se realizó mediante pH, peróxidos y humedad, en el laboratorio de química con el manejo de buenas prácticas de laboratorio.

3.3.1 Procedimiento de humedad

1. Pesar 2 gramos de salchicha de pollo.
2. Pesar el crisol.
3. Colocar la muestra en el crisol y colocar en la estufa a 115°C durante 1 hora (figura 21).
4. Dejar durante un periodo de 4 horas.
5. Sacar de la estufa y pesar.
6. Sacar la cantidad de humedad aplicando la fórmula indicada a continuación:

Fórmula aplicada:

$$\%Humedad = \frac{(M1 - M2) * 100}{M} \quad (\text{Ecuación 4})$$

- M1= peso de la muestra junto al crisol, antes de colocar en la estufa
- M2= peso de la muestra junto al crisol, después de colocar en la estufa
- M= muestra



Figura 21. Análisis de humedad a salchichas de pollo.

3.3.2 Procedimiento determinación en pH

1. Pesar 5 gramos de salchicha de pollo
2. Colocar en un vaso 45 ml de agua destilada y agregar la muestra.
3. Mezclar hasta homogenizar la solución.
4. Dejar reposar durante 5 minutos.
5. Emplear un pH-metro y observar el resultado (figura 22).



Figura 22. Análisis pH en salchichas de pollo.

3.3.3 Procedimiento de peróxidos

1. Pesar 3 gramos de salchicha de pollo
2. Colocar en un vaso de precipitación 97 ml agua destilada y la muestra analizar.
3. Mezclar y calentar durante 15 minutos.
4. Introducir la cinta de peróxido y proceder a observar el cambio de color (figura 23).



Figura 23. Análisis de peróxidos en salchichas de pollo.

3.3.4 Procedimiento DPPH

1. Se calibro el equipo con una solución testigo de agua destilada hasta obtener un resultado de absorbancia 0.
2. Se realizó una solución de DPPH a 0.1mM en 10 ml de metanol puro.
3. Se preparó 400 μ l de cada aceite esencial junto con 2 ml de la solución DPPH.
4. Se procedió a colocar en el espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific, se procedió a determinar la absorbancia a 517nm durante una hora (figura 24).
5. Se apreció el cambio de coloración y se determinó la eficiencia de cada aceite (figura 25).



Figura 24. Análisis DPPH en espectrofotómetro de masa.



Figura 25. Análisis DPPH de aceites esenciales.

3.3.5 Procedimiento Actividad de agua

1. Cortar 5 gramos de salchicha de pollo con aceites esenciales.
2. Colocar en el envase de análisis cubriendo toda la superficie.
3. Calibrar el equipo de actividad de agua.
4. Colocar la muestra dentro del equipo de actividad de agua (Figura 26).
5. Anotar los resultados.



Figura 26. Análisis actividad de agua en salchichas de pollo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Variables de estudio

Se determinó diferentes análisis físicos químicos y microbiológicos sobre las salchichas de pollos (unidad experimental) con aceites esenciales de guayaba (*Psidium guajava*), orégano (*Origanum vulgare*) y aguacate (*Persea americana*), en diferentes concentraciones (tabla 8). Con un total de 8 tratamientos y un tratamiento testigo en el que se empleó BHT y sal nitrante, el análisis se ejecutó cada 10 días hasta el día 30. Se realizó un análisis de varianzas ANOVA en el programa InfoStat el cual reflejó diferencias significativas entre las variables microbiológicas y físico químicas medidas como: *Aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella Shigella*, *Clostridium*, pH, humedad y peróxidos.

4.1.1 Análisis Microbiológico

Los análisis microbiológicos realizados dieron como resultado la presencia de *Aerobios mesófilos* y *Staphylococcus aureus*, estos tuvieron una proliferaron continua de manera controlada sin exceder los límites permitidos por la norma INEN 1338, a su vez los microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella - Shigella* y *Clostridium* no presentaron crecimiento en ninguno de los tratamientos en el período de 30 días, establecido en el estudio.

4.1.2 Microorganismos *Aerobios mesófilos*

Para obtener los resultados de este análisis, los microorganismos *aerobios mesófilos* fueron evaluados en un medio selectivo, Plate Count Agar más conocido como PCA. Durante la siembra realizada cada 10 días en un periodo de 1 mes, se pudo observar la presencia de estos microorganismos, las variables investigativas de medición usadas dentro del análisis fueron los microorganismos *aerobios mesófilos* como variable dependiente y los

tratamientos (tabla 8) como variable independiente, con repeticiones en el tiempo.

Las tablas 11 hasta la 18, representan los análisis de varianza y la prueba significativa de Tukey al 5% de error, que indica que si existen diferencias significativas entre los tratamientos. El análisis de varianza demuestra que el uso de aceites esenciales en diferentes concentraciones y condiciones iguales no reacciona de la misma manera por lo que se obtiene resultados diferentes.

Tabla 10.

Análisis de varianza para Aerobios Mesófilos en el día 0.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	69583.75	7731.53	33.10	<0,0001
TRATAMIENTO	7	66976	9568.00	40.96	<0,0001
REPETICIÓN	2	2607.75	1303.88	5.58	0,0165
Error	14	3270.25	233.59		
Total	23	72854			

Tabla 11.

Ponderación de tratamientos para Aerobios Mesófilos en el día 0.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO		
T4	42.33	A		
T3	57	A	B	
T5	60	A	B	
T6	96.33		B	C
T7	97.67		B	C
T8	104.33			C
T2	161.67			D
T1	208.67			E

Tabla 12.

Análisis de varianza para Aerobios mesófilos en el día 10.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9.00	76536.21	8504.02	35.34	<0,0001
TRATAMIENTO	7.00	73343.63	10477.66	43.54	<0,0001
REPETICIÓN	2.00	3192.58	1596.29	6.63	0.0094
Error	14.00	3368.75	240.62		
Total	23.00	79904.96			

Tabla 13.

Ponderación de tratamientos para Aerobios mesófilos en el día 10.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T4	46.33	A
T5	48.67	A
T3	53.33	A
T7	59.67	A B
T6	89.33	A B
T8	102.33	B
T2	161.33	C
T1	206.67	D

Tabla 14.

Análisis de varianza para Aerobios mesófilos en el día 20.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9.00	305596.71	33955.19	35.23	<0,0001
TRATAMIENTO	7.00	282790.96	41827.28	43.49	<0,0001
REPETICIÓN	2.00	12805.75	6402.88	6.64	0.0094
Error	14.00	13494.92	963.92		
Total	23.00	319091.63			

Tabla 15.

Ponderación de tratamientos para Aerobios mesófilos en el día 20.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO	
T4	92.67	A	
T5	96.33	A	
T3	106.33	A	
T7	118.67	A	B
T6	178.33	A	B
T8	204.00	B	
T2	322.33	C	
T1	412.33	D	

Tabla 16.

Análisis de varianza para Aerobios mesófilos en el día 30.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	302751.58	33639.06	6.73	0.001
TRATAMIENTO	7	291329.83	41618.55	8.32	0.0004
REPETICIÓN	2	11421.75	5710.88	1.14	0.3472
Error	14	70016.92	5001.21		
Total	23	372768.50			

Tabla 17.

Ponderación de tratamientos para Aerobios Mesófilos en el día 30.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO	
T4	239.67	A	
T5	246.00	A	
T3	264.33	A	
T7	278.33	A	
T6	378.33	A	B
T8	434.33	A	B
T2	441.33	A	B
T1	563.67	B	

Para comprobar la acción del carvacrol y timol presente en el aceite esencial de orégano, Cervato (2000) extrajo los radicales, dimetil silil carvacrol y Tri-etil silil carvacrol. Los resultados de este trabajo demostraron que la actividad antibacteriana del carvacrol y timol depende en gran medida del grupo hidroxilo, ya que en la mayoría de bacterias Gram-positivas (*Aerobios mesófilos*, *Clostridium* y *Staphylococcus aureus*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella*), reflejan sensibilidad al carvacrol, el autor concluye que existe un grupo funcional hidroxilo de carvacrol y timol que es esencial para la acción antimicrobiana.

Estos componentes bioactivos tienen características hidrófobas al tener en su estructura un grupo hidroxilo libre y un sistema de electrones, facilitando la acción de los compuestos activos sobre la membrana citoplasmática de las bacterias produciendo lisis celular, estas investigaciones comprueban los resultados obtenidos en el presente estudio ya que el T5 (Salchicha de pollo con 180 µl de aceite esencial de orégano) es uno de los tratamientos más eficientes en el análisis de *Aerobios mesófilos*.

El deterioro de los alimentos cárnicos ante la presencia de bacterias es muy común, por lo que el uso de sustancias naturales como aditivos alimentarios a más de aportar sus bondades inhibitorias, anti fúngicas y antimicrobianas mejoran las características organolépticas de los embutidos como es el caso de las salchichas ya que estos otorgan sabor, evitan la pérdida de olor y color (Falcone, Speranza y Del Nobile, 2005). Los análisis realizados por Arcila, 2004 exponen que el compuesto bactericida se obtiene de los flavonoides presentes en el aceite esencial de aguacate, los mismos que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas como *Aerobios mesófilos* y Gram negativa como *Bacillus subtilis*, el aceite esencial de aguacate empleado por Arcila presenta poder antioxidante en un rango de concentración de 0,28 a 1,27 ppm. En los tratamientos utilizados en las salchichas de pollo, el tratamiento T3 (Salchichas de pollo con 120 µl aceite esencial de aguacate) controla la proliferación de *Aerobios mesófilos*.

Buchbauer (2010) ostenta la eficiencia del aceite esencial de guayaba comprobando sus características inhibitorias sobre conservas vegetales en un lapso de 20 días. La actividad antibacteriana se presentó en concentraciones de 50 μ l. Los tratamientos utilizados con aceite de guayaba como T4 y T7 (con 120 y 180 μ l) detuvieron la proliferación de *Aerobios mesófilos*.

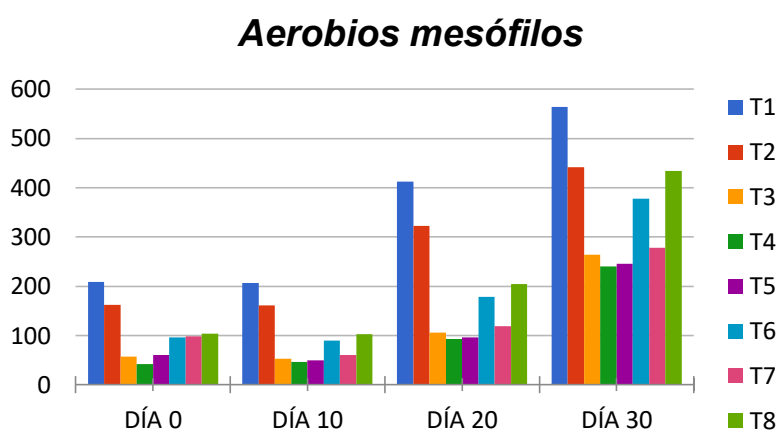


Figura 27. Proliferación de *Aerobios mesófilos* durante los 30 días analizados.

Aplicando el análisis de varianza de cada resultado obtenido durante un período de 30 días (figura 27), la presencia de microorganismos va incrementando paulatinamente, en el día 0 el tratamiento 4 (Salchicha de pollo con 120 μ l aceite esencial de guayaba) despliega menor presencia de *Aerobios mesófilos* con una media de 42.33 (UFC), mientras que en el día 30 las unidades formadoras de colonias incrementan notablemente con una media de 239.67 (UFC), los tratamientos que reflejaron mayor efectividad en la inhibición de bacterias de conteo total fueron los tratamientos 4, 3 y 5, a su vez los tratamientos 1 (salchichas de pollo con 6 mg de BHT) y 2 (Salchichas de pollo con 120 μ l de aceite de orégano.), presentaron mayor contaminación de aerobios mesófilos, en el periodo de estabilidad analizado, en el cual se empleó condiciones iguales para todos los tratamientos.

El promedio de ufc de *Aerobios mesófilos*; obtenido de cada tratamiento \pm su desviación estándar (tablas 19 - 22) indica el continuo crecimiento de los microorganismos. Los mejores resultados fueron el T3 y T4 con 120 μ l de aceite

esencial de aguacate y guayaba respectivamente y 180 μ l de aceite esencial de orégano en el tratamiento T5, para todos los días examinados.

Tabla 18.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 0.

DÍA 0			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T4	42	11	A
T3	57	22	A-B
T5	60	12	A-B
T6	96	10	B-C
T7	98	18	B-C
T8	104	41	C
T2	162	37	D
T1	209	65	E

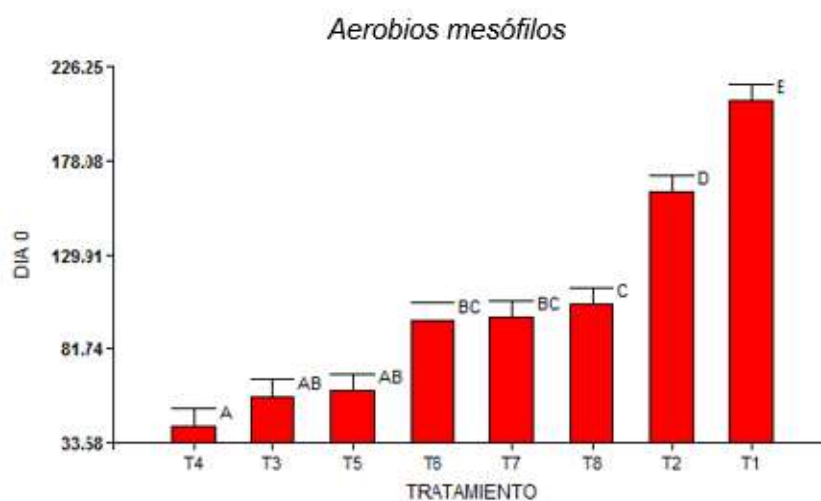


Figura 28. Promedio y desviación *Aerobios Mesófilos* día 0.

Tabla 19.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 10.

DÍA 10			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T4	46	13	A
T5	49	12	A
T3	53	22	A
T7	60	15	A-B
T6	89	22	A-B
T8	102	18	B
T2	161	24	C
T1	207	28	D

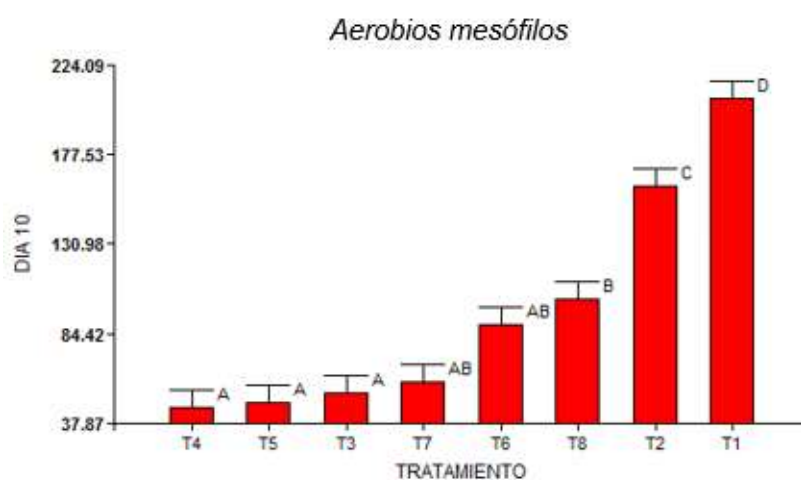


Figura 29. Promedio y desviación Aerobios Mesófilos día 10

Tabla 20.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 20.

DÍA 20			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T4	93	27	A
T5	96	13	A
T3	106	33	A
T7	119	57	A-B
T6	178	30	A-B
T8	204	15	B
T2	322	52	C
T1	412	58	D

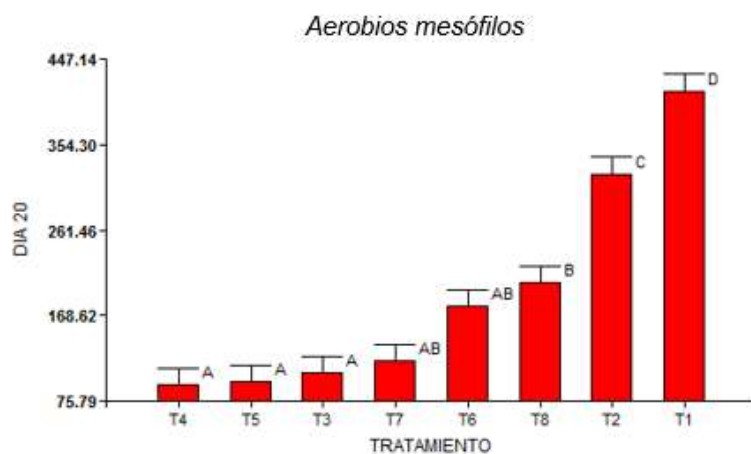


Figura 30. Promedio y desviación de *Aerobios mesófilos* en el día 20.

Tabla 21.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0,5% en el día 30.

DÍA 30			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T4	240	46	A
T5	246	81	A
T3	264	63	A
T7	278	56	A
T6	378	51	A-B
T8	434	48	A-B
T2	441	51	A-B
T1	564	44	B

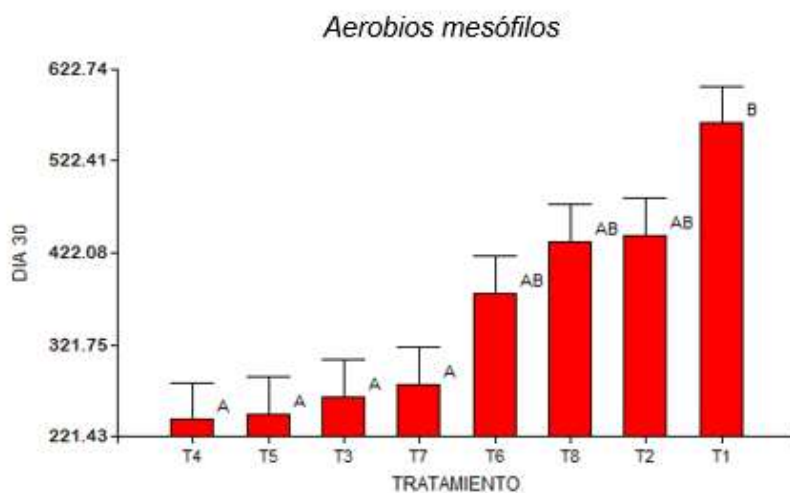


Figura 31. Promedio y desviación *Aerobios mesófilos* día 30.

4.1.3 Microorganismos *Staphylococcus aureus*

El análisis microbiológico para *Staphylococcus aureus* en el periodo de 30 días, se lo realizó en agar Manitol salado, medio selectivo para el crecimiento de esta bacteria.

En las tablas (23 hasta la 30) de ponderación de medias y análisis de varianza se comprueban las diferencias significativas existentes entre tratamientos estudiados.

Tabla 22.

Análisis de varianza para Staphylococcus aureus en el día 0.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	14701.92	1633.55	11.66	<0,0001
TRATAMIENTO	7	9409.33	1344.19	9.59	0.0002
REPETICIÓN	2	5292.58	2646.29	18.89	0.0001
Error	14	1961.42	140.10		
Total	23	16663.33			

Tabla 23.

Ponderación de tratamientos para Staphylococcus aureus en el día 0.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T5	70.33	A
T2	73.67	A
T8	84	A
T7	88.33	A
T3	90.33	A
T4	92.00	A
T6	95.33	A
T1	139.33	B

Tabla 24.

Análisis de varianza para Staphylococcus aureus en el día 10.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	28391.83	3154.65	8.04	0.0003
TRATAMIENTO	7	27486.50	3926.64	10.01	0.0002
REPETICIÓN	2	905.33	452.67	1.15	0.3435
Error	14	5490.00	392.14		
Total	23	33881.83			

Tabla 25.

Ponderación de tratamientos para Staphylococcus aureus en el día 10.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T5	92	A
T4	95	A
T8	96.33	A
T2	97.67	A
T6	111.67	A
T3	115.33	A
T7	118.67	A
T1	202.00	B

Tabla 26.

Análisis de varianza para Staphylococcus aureus en el día 20.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	53296.58	5921.84	9.12	0.0002
TRATAMIENTO	7	49615.33	7087.90	10.92	0.0001
REPETICIÓN	2	3681.25	1840.63	2.84	0.0925
Error	14	9087.42	649.10		
Total	23	62384.00			

Tabla 27.

Ponderación de tratamientos para Staphylococcus aureus en el día 20.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T6	91	A
T5	110.67	A
T8	125	A
T4	129.00	A
T2	133.00	A
T7	143.33	A
T3	146.67	A
T1	253.33	B

Tabla 28.

Análisis de varianza para Staphylococcus aureus en el día 30.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	108681.04	12075.67	8.64	0.000
TRATAMIENTO	7	102611.96	14658.85	10.49	0.000
REPETICIÓN	2	6069.08	3034.54	2.17	0.1509
Error	14	19566.92	1397.64		
Total	23	128247.96			

Tabla 29.

Ponderación de tratamientos para Staphylococcus aureus en el día 30.

TRATAMIENTO	MEDIAS	RANGO
T6	131.67	A
T5	148.00	A
T4	166.33	A
T8	167.67	A
T2	175.67	A
T7	191.67	A
T3	192.00	A
T1	356.67	B

El investigador Mora (2013), detalla en su estudio, que el efecto que tiene los compuestos carvacrol y timol, presentes en el aceite esencial de orégano, actúa sobre biofilms desarrollados por bacterias *Staphylococcus aureus*, en concentraciones de 0,031 - 0,125%, logrando alterar la superficie celular bacteriana evitando la proliferación de microorganismos. Los compuestos activos como carvacrol, timol y eugenol presentes en el aceite de orégano, ayudaron a la inhibición de las unidades formadoras de colonias presentes en las salchichas de pollo que fueron aplicadas en los tratamientos T5 y T2. Estos compuestos tienen la facilidad para disgregar la membrana de las bacterias Gram negativas, facilitando la lisis celular (Crespo, 2012).

En un estudio realizado por Martínez (2012), se comprueba la acción antimicrobiana del aceite esencial de guayaba ante la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Bacillus subtilis*, obteniendo resultados favorables en el control del crecimiento de las bacterias, esto se debe a la presencia de compuestos bioactivos como flavonoides, cariofileno y limoneno, presentes en el aceite esencial de las hojas de guayaba. El tratamiento T4 con aceite de guayaba en concentración de 120 ul, ayudo al control de ufc de *Staphylococcus aureus* en el período de estudio de 30 días.

El aceite esencial de aguacate evita el desarrollo de las bacterias; *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, estos microorganismos pierden su movilidad, inactivándose a concentraciones de 5 mM de aceite, los compuestos flavonoides, estragol y ácido mirístico están asociados a la inhibición de bacterias Gram positivas (Sáenz, 2002). En los tratamientos (T6 y T3) usados con aceite de aguacate a concentraciones de 180 y 120ul inhibieron las unidades formadoras de colonia de *Staphylococcus aureus* en los 30 días de estudio.

Para mejorar el tiempo de vida útil de los productos cárnicos como las salchichas, se han realizado diferentes investigaciones sobre los beneficios de extractos de

plantas y vegetales con la implementación de aceites esenciales. Trujillo (2011), comparó el efecto antioxidante de los aceites esenciales de tomillo y guayaba, en concentraciones de 150 mg/kg, frente al uso de BHT y BHA, comprobando que el uso de aceites naturales presenta mayor acción antioxidante ante el uso de conservantes sintéticos (Robledo,S; Bocalón, J; Giacomelli, L; Ceballos, C y Mattea, M, 2013). Los tratamientos con aceites esenciales de aguacate orégano, guayaba (T6, T5 y T4) dieron mejores resultados frente al tratamiento testigo (T1) con BHT y sal nitrante.

Tabla 30.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 0.

DÍA 0			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T5	70	36	A
T2	74	33	A
T8	84	54	A
T7	88	58	A
T3	90	49	A
T4	92	52	A
T6	96	66	A
T1	140	68	B

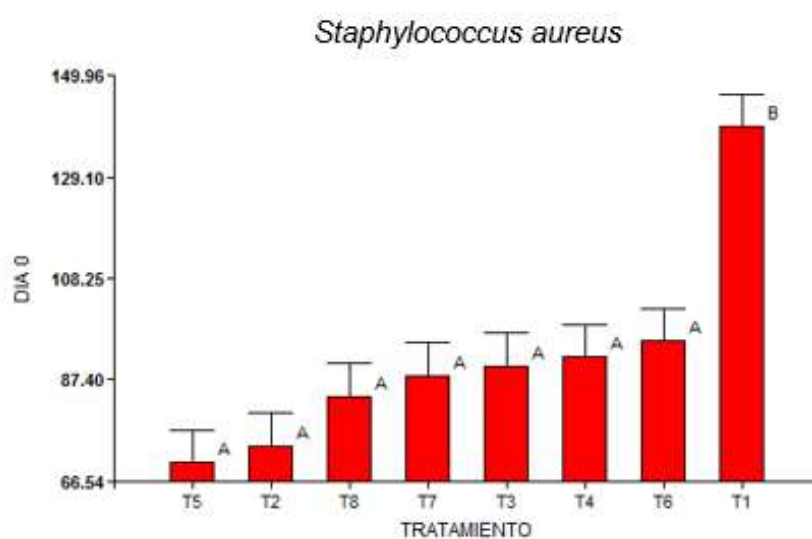


Figura 32. Promedio y desviación *Staphylococcus aureus* en el día 0.

Tabla 31.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 10.

DÍA 10			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T5	92	47	A
T4	95	54	A
T8	96	47	A
T2	98	56	A
T6	112	87	A
T3	115	69	A
T7	118	80	A
T1	202	121	B

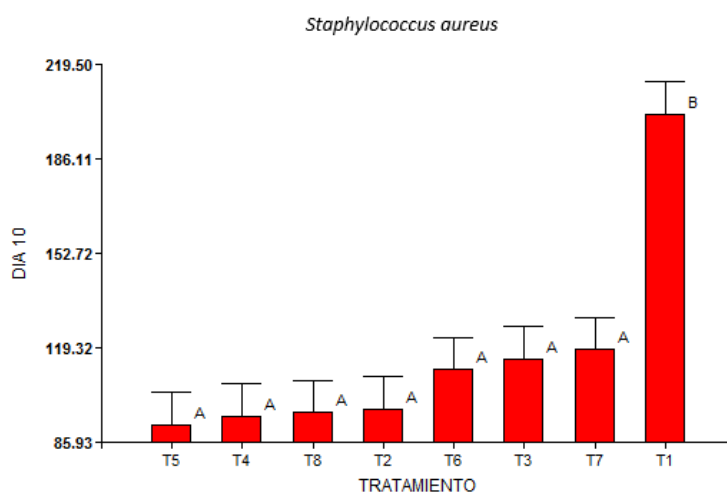


Figura 33. Promedio y desviación *Staphylococcus aureus* en el día 10.

Tabla 32.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 20.

DÍA 20			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T6	91	58	A
T5	111	53	A
T8	125	72	A
T4	129	59	A
T2	133	87	A
T7	143	84	A
T3	147	100	A
T1	253	136	B

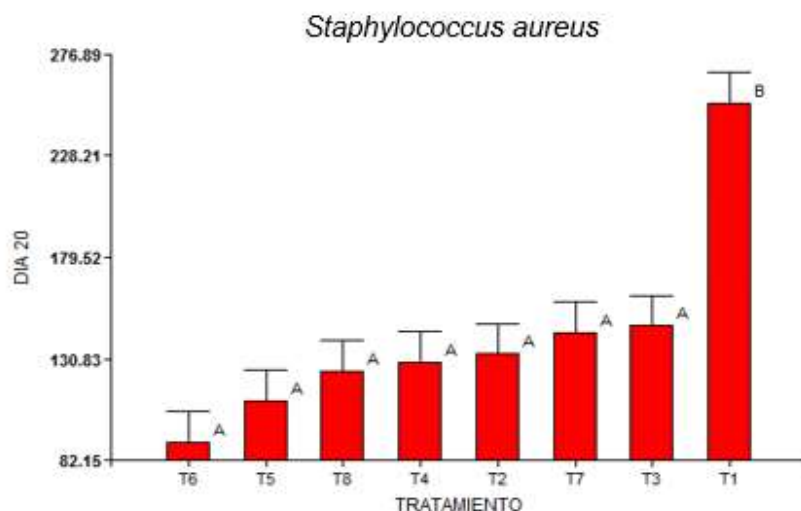


Figura 34. Promedio y desviación *Staphylococcus aureus* en el día 20.

En la tabla 34 se detalla las medias obtenidas y su desviación estándar en la cuarta semana de estudio. Los tratamientos que presentaron menor contaminación en cuanto a *Staphylococcus aureus*, fueron T6 con 180 ul de aceite esencial de aguacate, T5 con 180 ul de aceite esencial de orégano, y 120 ul de aceite de guayaba en T4, considerados como los mejores tratamientos. La proliferación de estos microorganismos se encuentra bajo el límite establecido (1.0×10^3 ufc) de la norma INEN 1338, el tratamiento que expone la media más alta es T1 con 357 ufc.

Tabla 33.

Promedio, desviación estándar y prueba de Tukey al 0.5% en el día 30.

DÍA 30			
Tratamiento	Promedio	Desviación	Tukey
T6	132	91	A
T5	148	74	A
T4	166	75	A
T8	168	70	A
T2	176	93	A
T3	192	96	A
T7	192	101	A
T1	357	157	B

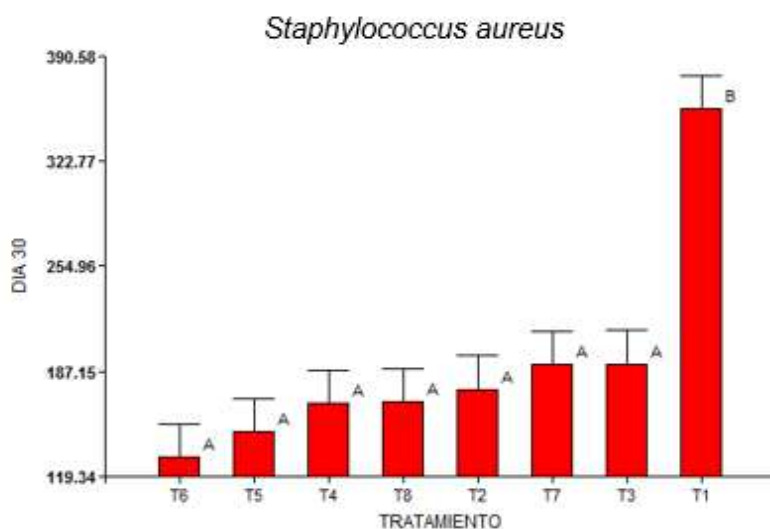


Figura 35. Promedio y desviación *Staphylococcus aureus* en el día 30.

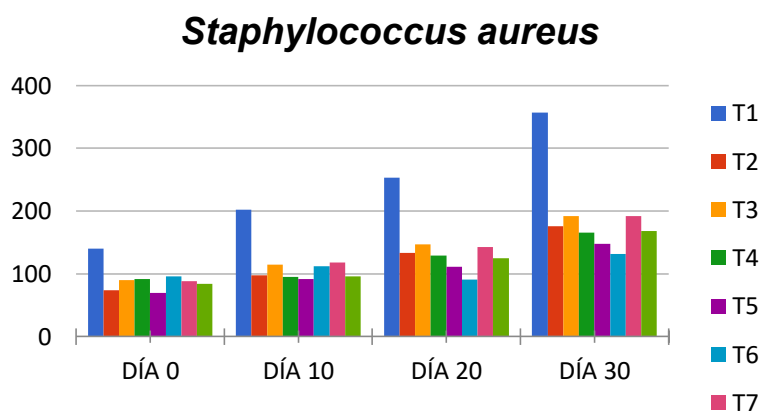


Figura 36. Proliferación de *Staphylococcus aureus* durante los 30 días analizados.

Como se puede apreciar en la figura 36 el desarrollo de *Staphylococcus aureus* en un período de 30 días muestra a T5, T2 y T8 como los mejores tratamientos en el día 0 obteniendo medias de 70,33, 73,67 y 84 (UFC). En el transcurso de los días los microorganismos tuvieron una proliferación de manera paulatina con un crecimiento ascendente, mostrando en el día 30 a los tratamientos T6, T5 y T4, con las medias más bajas entre los 8 tratamientos (131,67, 148 y 166,33 respectivamente). El tratamiento T1 con medias de 139,33 en día 0 y de 356,67 en el día 30 presentaron mayor contaminación de *Staphylococcus aureus*, estos resultados se obtuvieron a través de un análisis de varianza, confirmando las

investigaciones ya mencionadas anteriormente en las que se hace referencia a la efectividad de los aceites esenciales con compuestos fenólicos frente al BHT.

4.1.4 Microorganismos *Escherichia coli*, *Salmonella Shigella* y *Clostridium*.

En investigaciones donde se ha emplea aceite esencial de orégano se concluye que la presencia de compuestos antioxidantes pueden reemplazar a los conservantes sintéticos presentes en la industria cárnica ya que este aceite inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, este efecto se obtiene gracias a la presencia de compuestos carvacrol y timol que son producidos en la ruta conocida como mevalato (Lozano, 2014), por otra parte según estudios realizados por Rodríguez (2009), se reporta que; el compuestos selineno y limoneno cambia la estructura de la membrana de *Lactobacillus curvatus*, *Salmonella cerevisiae* y *Lactobacillus plantarum* inhibiendo su proliferación, a su vez se recalca que el efecto del compuesto selineno está influenciado por factores como el pH, temperatura en la que se incubaba y el tipo de microorganismo a sembrar.

Los resultados obtenidos en el análisis de microorganismos de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Clostridium*, los cuales fueron sembrados en medios selectivos, no presentó crecimiento de estas bacterias, se pudo apreciar como el efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano, guayaba y aguacate pudo inhibir el crecimiento de las bacterias desde el día 0 hasta el día 30 en donde no se presentó desarrollo de unidades formadoras de colonias. La norma INEN 1338 de “Carne y Productos Cárnicos, Productos Cárnicos Crudos, Productos Cárnicos Curados Madurados y Productos Cárnicos Precocidos – Cocido”, detalla la ausencia de *Salmonella*, mientras que detalla un límite permitido de <10 de *Escherichia coli* (INEN, 2012).

Gonzales (2013), investigo como actúan los flavonoides presentes en los aceites esenciales de aguacate y guayaba en presencia de *Salmonella Shigella* y *Escherichia coli*, en este estudio se argumenta que, la unión de los flavonoides

hacia las proteínas hidrofóbicas de la membrana externa es alterada, lo que ocasiona un cambio en la funcionalidad de la bacteria. Este compuesto a su vez actúa óptimamente en pH 5.5. las autoras Gómez y López (2009), confirma la investigación anterior comprobando la inactivación del movimiento de la membrana de la bacteria y la filtración de los componentes de la misma provocando necrosis celular.

4.2 Análisis Físico Químico

Los análisis físicos químicos que se realizan a los alimentos son de suma importancia ya que permite conocer el valor o composición nutricional y tiempo de vida útil de los mismos, estos análisis son a su vez detalladas por la norma INEN-ISO 22917:2013 e INEN 1338:2012, donde se puede apreciar las condiciones exigidas para productos cárnicos procesados, estas características permiten la determinación de los componentes y la cantidad en la que están presentes en las salchichas de pollo.

4.2.1 Análisis de Peróxidos

El concepto expresado por Prieto (2011), indica que los peróxidos se expresan en miliequivalentes de peróxidos por cada kg de grasa. Las salchichas de pollo con aceites esenciales analizadas en este estudio reflejaron presencia de oxidación, dicha oxidación se produce por reacciones químicas debido a que el oxígeno reacciona con la estructura de los ácidos grasos, produciendo la rancidez en las grasas (Zumbando,2012).

Rojas (2012), en sus investigaciones ha analizado diversos aceites de extractos vegetales como: clavo de olor, tomillo, aguacate, eucalipto, orégano, entre otros, presentando resultados positivos sobre el poder de reducción e inhibición de la peroxidación que tienen los aceites.

El índice de peróxidos analizado en esta investigación se realizó de una manera rápida conocida como método de Merk, en donde se emplean cintas de viraje de color comparativas, lo que facilito apreciar la resistencia de los aceites esenciales ante la presencia del oxígeno durante 30 días, obteniendo como resultado 0,5 mg/H₂O₂, esto indica que gracias a la acción antioxidante de los aceites esenciales no se presentó un enranciamiento elevado, dado que el oxígeno no pudo adherirse al doble enlace que está presentes en los ácidos grasos insaturados (Gómez y Leiva, 2012).

Esta reacción se da tanto en las grasas como en los aceites por la absorción del oxígeno, este está influenciado por la presencia de luz, temperatura y de los radicales presentes de forma libre (Velázquez, 2012), los aceites esenciales como los empleados para esta investigación (orégano, guayaba y aguacate) al ser ricos en compuestos antioxidantes disminuyeron la velocidad de enranciamiento en las salchichas de pollo, como se puede ver en la figura 37 y 38.

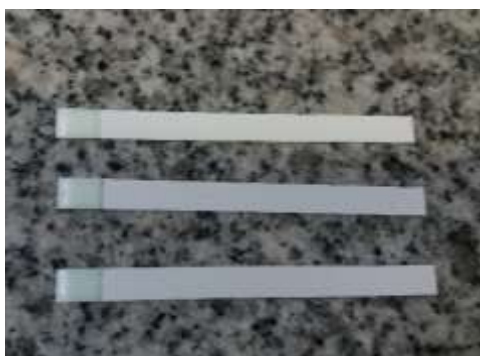


Figura 37. Cintas de Peróxidos, expuestas a muestras de salchichas de pollo.

En la figura 37 se puede apreciar las cintas de análisis de peróxidos después de haber sido tratadas en una solución de agua destilada y muestras de salchichas (8 tratamientos), en las que noto un ligero cambio de coloración.



Figura 38. Cintas de Peróxidos y rango de reacción.

Para apreciar con claridad el tipo de coloración que adquirió cada cinta de análisis de peróxidos se contrastó con la barra de coloración que el set instantáneo tiene en la parte externa del estuche como indica la figura 38.

4.2.2 Efecto Antioxidante

Tanto los aceites como las grasas presentan una tendencia oxidativa al someterlos a diferentes factores como; altas temperaturas, contacto con el oxígeno o durante su almacenamiento; provocando que los productos disminuyan su tiempo de vida en percha (Núñez, 2010). El reactivo DPPH, se caracteriza por ser un radical libre (2,2-difenil-1-picrilhidracilo el cual es transformado a 2,2-difenil-1-picril hidracina por la anti oxidación provocando de esta manera una decoloración por la presencia del grupo $-OH$, a su vez presenta estabilidad y absorción de radiación a 517 nm (Castañeda, Ibañez y Ramos, 2008).



Figura 39. Oxidación en reactivo DPPH.

El DPPH al ser un compuesto fotosensible es manipulado en condiciones oscuras, este compuesto reacciona con las soluciones antioxidantes provocando un cambio de coloración violeta a tonalidades amarillas, esta decoloración resultante se da conforme el efecto antioxidante disminuye.

Se determina la capacidad antioxidante si la solución determinada como antioxidante es capaz de neutralizar los radicales mediante el compuesto DPPH, dicha solución tiene la capacidad de donar una molécula de hidrógeno lo que hace posible medir la capacidad antioxidante presente en una muestra. Dicho método es evaluado mediante la técnica de espectrofotometría (Castañeda, Ibañez y Ramos, 2008).

Según Housam (2014) el principio del método consiste en que el radical violeta posee un radical de forma libre, haciendo que el antioxidante presente capte este radical ocasionando un efecto decolorativo, lo que indica un descenso en los valores de absorbancia. La concentración de DPPH final demuestra si la solución antioxidante cede electrones, por lo cual el compuesto disminuye su absorción de radiación como se indica en el anexo 8.

La reacción de DPPH toma estabilidad mediante los antioxidantes midiendo la absorbancia de la solución a 517 nm (Housam, 2014). Los valores obtenidos fueron 91,9% de absorbancia en el aceite esencial de guayaba, seguido por el aceite esencial de aguacate con el 76% y la absorbancia del aceite de orégano con 74%.

El porcentaje más alto obtenido demuestra mayor acción antioxidante para inhibición de microorganismos y radicales libres presentes en las salchichas de pollo, se detalla a continuación cada ecuación realizada para la obtención de la absorbancia.

Porcentaje de absorbancia del aceite esencial de guayaba

$$\%Absorbancia = \frac{Abs\ DPPH - Abs\ Muestra}{Abs\ DPPH} * 100\%$$

(Ecuación 5)

$$\%Absorbancia = \frac{1,222 - 0,098}{1,222} * 100\%$$

$$\%Absorbancia = 91,9\%$$

Porcentaje de absorbancia del aceite esencial de aguacate

$$\%Absorbancia = \frac{Abs\ DPPH - Abs\ Muestra}{Abs\ DPPH} * 100\%$$

(Ecuación 6)

$$\%Absorbancia = \frac{1,222 - 0,290}{1,222} * 100\%$$

$$\%Absorbancia = 76\%$$

Porcentaje de absorbancia del aceite esencial de orégano

$$\%Absorbancia = \frac{Abs\ DPPH - Abs\ Muestra}{Abs\ DPPH} * 100\%$$

(Ecuación 7)

$$\%Absorbancia = \frac{1,222 - 0,316}{1,222} * 100\%$$

$$\%Absorbancia = 74\%$$

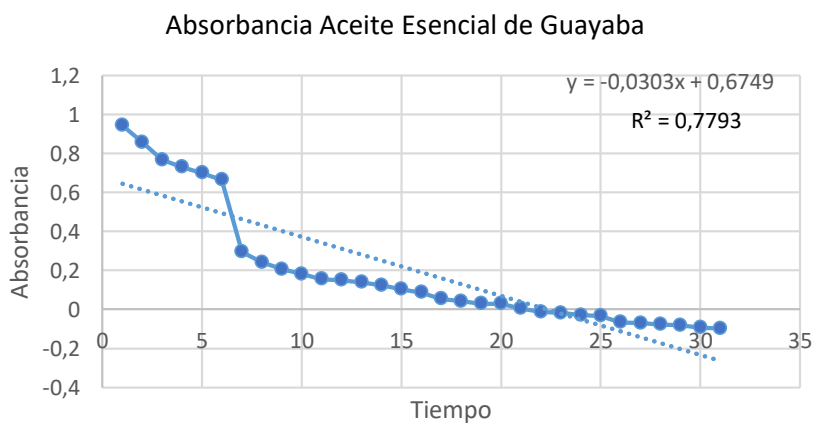


Figura 40. Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de guayaba.

Los datos reflejados del aceite esencial de guayaba, por el espectrofotómetro de masa, se obtuvo una regresión lineal de 0,77, indicando que los compuestos antioxidantes presentes en el aceite disminuyen su efecto conforme pasa el tiempo, en la figura 40 refleja la disminución de la absorbancia.

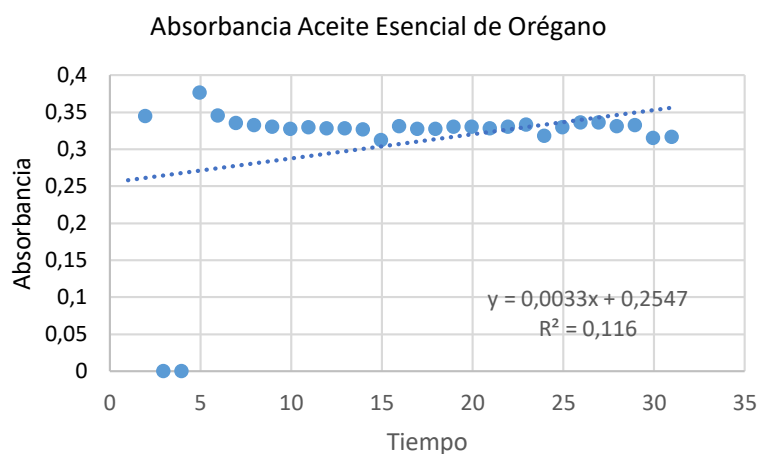


Figura 41. Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de orégano.

La figura 41 refleja la absorbancia obtenida del aceite esencial de orégano analizada en una hora de exposición, obteniendo una regresión lineal de 0,11, esto indica que los compuestos antioxidantes presentes en el aceite disminuyen su efecto conforme pasa el tiempo.

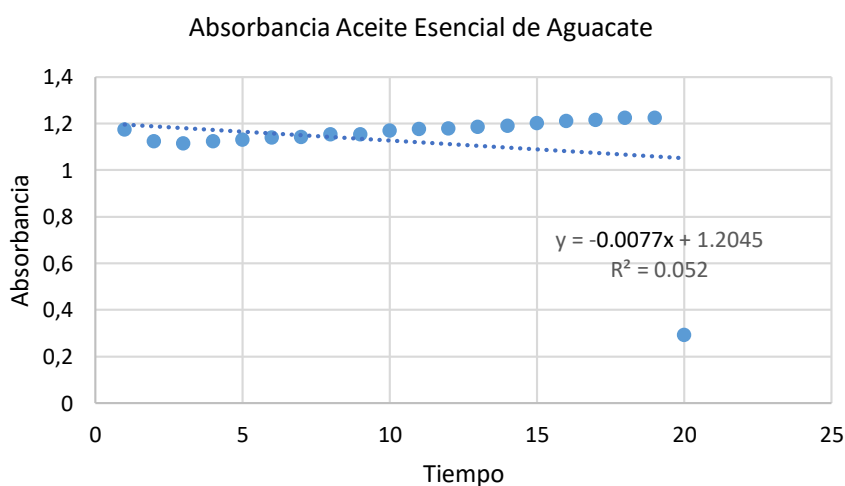


Figura 42. Absorbancia vs Tiempo obtenido del aceite esencial de aguacate.

En la figura 42 se visualiza como la absorbancia obtenida del aceite esencial de aguacate se mantiene constante en una hora de exposición, reflejando la regresión lineal de 0,05.

4.2.3 Análisis de pH

La norma INEN 2346:2015 detalla que el pH de las carnes para productos derivados debe estar en rangos de 5,5 y menores o iguales a 7, para analizar este pH es necesario realizarlo en muestras almacenadas después de las 24 horas, en esta investigación se utilizó un potenciómetro en una solución de agua destilada y muestras de salchichas obteniendo los resultados de análisis de varianza y ponderación de medias (tabla 35 hasta la 42), en el día 0 se obtuvieron rangos de pH ácido entre 6,08 a 6,67 como se indica en la tabla 36, mientras en el día 30 el pH promedio fue de 6.72 acercándose a la neutralidad como se indica en la tabla 39. La temperatura es un factor muy importante ya que este no permite que el pH de las salchichas incremente, su almacenamiento fue de 0 a 4°C en el laboratorio de microbiología de la Universidad de las Américas, este rango también está determinado por la norma INEN 2346:2015.

Tabla 34.

Análisis de varianza de pH analizado el día 0.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,71	0,08	1,88	0,14
TRATAMIENTO	2	6,7E- 04	3,4E- 04	0,01	0,99
REPETICIÓN	7	0,71	0,10	2,41	0,08
Error	14	0,59	0,04		
Total	23	1,29			

Tabla 35.

Ponderación de pH analizado el día 0.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO	
T7	6,08	3	0,12	A	
T5	6,34	3	0,12	A	B
T2	6,35	3	0,12	A	B
T8	6,36	3	0,12	A	B
T4	6,44	3	0,12	A	B
T3	6,55	3	0,12	A	B
T6	0,58	3	0,12	A	B
T1	6,67	3	0,12	B	

Tabla 36.

Análisis de varianza de pH analizado el día 10.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,25	0,03	5,97	0
TRATAMIENTO	2	0,08	0,04	7,94	0,01
REPETICIÓN	7	0,18	0,03	5,41	0
Error	14	0,07	4,7E- 03		
Total	23	0,32			

Tabla 37.

Ponderación de pH analizado el día 10.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO	
T5	6,45	3	0,04	A	
T4	6,54	3	0,04	A	
T8	6,55	3	0,04	A	
T7	6,57	3	0,04	A	
T3	6,59	3	0,04	A	
T6	6,60	3	0,04	A	B
T2	6,61	3	0,04	A	B
T1	6,77	3	0,04	A	B

Tabla 38.

Análisis de varianza de pH analizado el día 20.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,27	0,03	4,14	0,01
TRATAMIENTO	2	0,10	0,05	6,81	0,01
REPETICIÓN	7	0,17	0,02	3,38	0,02
Error	14	0,10	0,01		
Total	23	0,37			

Tabla 39.

Ponderación de pH analizado el día 20.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO	
T5	6,39	3	0,05	A	
T4	6,49	3	0,05	A	B
T6	6,5	3	0,05	A	B
T8	6,51	3	0,05	A	B
T3	6,52	3	0,05	A	B
T7	6,52	3	0,05	A	B
T2	6,59	3	0,05	A	B
T1	6,71	3	0,05		B

Tabla 40.

Análisis de varianza de pH analizado el día 30.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,16	0,02	10,52	0,0001
TRATAMIENTO	2	0,04	0,02	10,7	0,0015
REPETICIÓN	7	0,13	0,02	10,47	0,0001
Error	14	0,02	1,7E- 03		
Total	23	0,19			

Tabla 41.

Ponderación de pH analizado el día 30.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO		
T5	6,58	3	0,02	A		
T8	6,65	3	0,02	A	B	
T3	6,71	3	0,02		B	C
T4	6,71	3	0,02		B	C
T2	6,73	3	0,02		B	C
T7	6,73	3	0,02		B	C
T1	6,81	3	0,02			C
T6	6,82	3	0,02			C

Tabla 42.

Promedios de pH en salchichas de pollo en los 30 días de estudio.

TRATAMIENTO	DÍA 0	DÍA 10	DÍA 20	DÍA 30
T1	6.40	6.74	6.80	6.82
T2	6.45	6.78	6.72	6.76
T3	6.60	6.62	6.68	6.74
T4	6.41	6.49	6.61	6.74
T5	6.37	6.40	6.43	6.61
T6	6.67	6.72	6.79	6.86
T7	5.52	6.60	6.62	6.64
T8	6.49	6.60	6.65	6.74

Ver datos evaluados por número de repetición Anexo 5.

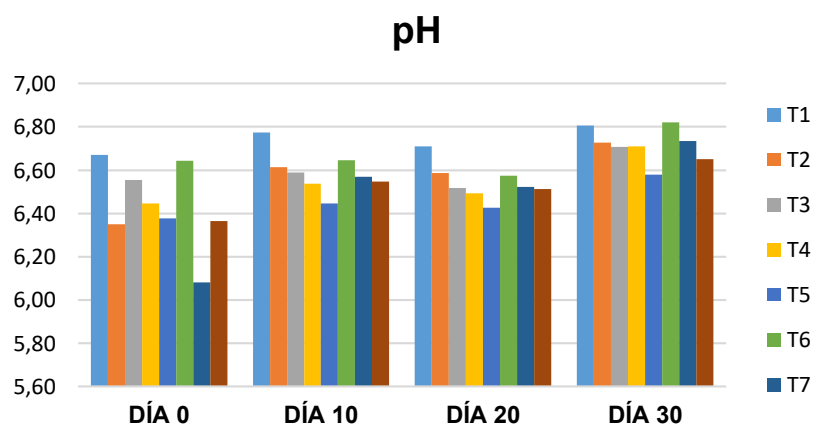


Figura 43. pH reflejado durante 30 días en salchichas de pollo.

En cuanto a la medición del pH se puede apreciar como en la figura 43 incrementa conforme pasan los días de análisis. En el día 30 las medias de pH están en un rango de (6.61 – 6.86) dichos resultados se encuentran acorde a lo descrito en la norma INEN 2346. La media más alta de pH obtenida es de 6.86 acercando a las salchichas a un pH neutro. Los pH neutros ayudan a la proliferación de microorganismos, al ser medios afines para el crecimiento de la mayoría de bacterias.

4.2.4 Análisis de Humedad

En el análisis de varianza realizado en las salchichas de pollo se obtuvo como resultado diferencias significativas a partir del día 0 al 30, como se muestra en las tablas 44 hasta la tabla 51. Los azúcares reductores junto a los aminoácidos presentes ocasionaron la salida del agua al someter las salchichas de pollo a 105°C durante 1 hora.

Tabla 43.

Análisis de varianza de humedad realizado el día 0.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	2,8 E-03	3,1 E-04	3,22	0,0247
TRATAMIENTO	7	2,6 E-03	3,7 E-04	3,8	0,0161
REPETICIÓN	2	2,3 E-04	1,2 E-04	1,2	0,3317
Error	14	1,4 E-03	9,8 E-05		
Total	23	4,2 E-03			

Tabla 44.

Ponderación de humedad realizado el día 0.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO
T1	0.60	3	0,01	A
T8	0,6	3	0,01	A
T7	0,61	3	0,01	A B
T4	0,61	3	0,01	A B
T3	0,61	3	0,01	A B
T2	0,61	3	0,01	A B
T5	0,62	3	0,01	A B
T6	0,63	3	0,01	B

Tabla 45.

Análisis de varianza de humedad realizado el día 10.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,01	6,9E- 04	11,3	0,0001
TRATAMIENTO	7	0,01	8,3E- 04	13,58	<0,0001
REPETICIÓN	2	4,1E- 04	2,0E- 04	3,33	0,0656
Error	14	8,6E- 04	6,1E- 05		
Total	23	0,01			

Tabla 46.

Ponderación de humedad realizado el día 10.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO	
T7	0,61	3	4,5E- 03	A	
T2	0,63	3	4,5E- 03	A B	
T1	0,63	3	4,5E- 03	A B	
T6	0,64	3	4,5E- 03	B C	
T8	0,65	3	4,5E- 03	B C D	
T4	0,65	3	4,5E- 03	C D	
T5	0,66	3	4,5E- 03	C D	
T3	0,66	3	4,5E- 03	D	

Tabla 47.

Análisis de varianza de humedad realizado el día 20.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	5,0E- 03	5,5E- 04	2,5	0,06
TRATAMIENTO	7	4,8E- 03	6,9E- 04	3,1	0,03
REPETICIÓN	2	1,8E- 04	8,8E- 05	0,4	0,68
Error	14	3,1E- 03	2,2E- 04		
Total	23	0,01			

Tabla 48.

Ponderación de humedad realizado el día 20.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO	
T1	0,62	3	0,01	A	
T6	0,63	3	0,01	A	B
T4	0,63	3	0,01	A	B
T2	0,64	3	0,01	A	B
T5	0,64	3	0,01	A	B
T7	0,65	3	0,01	A	B
T3	0,66	3	0,01	A	B
T8	0,66	3	0,01	B	

Tabla 49.

Análisis de varianza de humedad realizado el día 30.

F.V.	gl	SC	CM	F	p-valor
Modelo.	9	0,01	1,0E- 03	7,9	0
TRATAMIENTO	7	0,01	1,3E- 03	10	0
REPETICIÓN	2	1,6E- 04	7,9E- 05	0,6	0,56
Error	14	1,8E- 03	1,3E- 04		
Total	23	0,01			

Tabla 50.

Ponderación de humedad realizado el día 30.

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	RANGO			
T6	0,61	3	0,01	A			
T4	0,62	3	0,01	A			
T5	0,62	3	0,01	A	B		
T3	0,63	3	0,01	A	B	C	
T1	0,64	3	0,01	A	B	C	D
T2	0,65	3	0,01		B	C	D
T7	0,65	3	0,01			C	D
T8	0,67	3	0,01				D

Tabla 51.

Promedios de humedad en salchichas de pollo en los 30 días de estudio.

TRATAMIENTO	DÍA 0	DÍA 10	DÍA 20	DÍA 30
T1	0.60	0.63	0.62	0.64
T2	0.61	0.63	0.64	0.65
T3	0.61	0.66	0.66	0.63
T4	0.61	0.65	0.64	0.62
T5	0.62	0.66	0.64	0.62
T6	0.63	0.64	0.63	0.61
T7	0.61	0.61	0.65	0.65
T8	0.60	0.65	0.66	0.67

Ver datos evaluados por número de repetición Anexo 7.

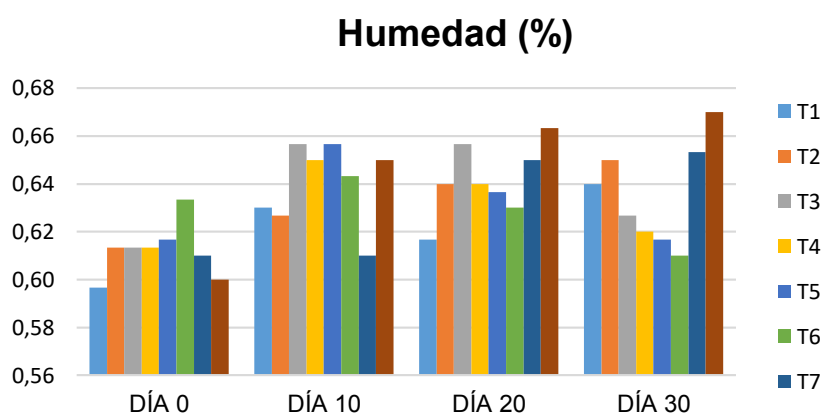


Figura 44. Humedad presente en salchichas de pollo.

La humedad analizada se realizó mediante una mufla, esta ocasiono la pérdida de agua libre como se puede ver en la figura 44. Según el CODEX ALIMENTARIUS detalla que existen varios productos con bajo contenido de humedad, esto dificulta el crecimiento de bacterias como la *Salmonella spp*, produciendo enfermedades en el consumidor, esta se desarrolla sobre 0.85% de humedad, por lo cual los promedios reflejados en esta investigación se encuentran en un rango de 0.60% a 0.67%, como se puede apreciar en la tabla 52.

4.2.5 Análisis actividad de agua

Para el análisis realizado sobre actividad de agua en salchichas de pollo se eligió 3 muestras, las cuales contenían aceite esencial de orégano, aceite esencial de guayaba y aceite esencial de aguacate, obteniendo como resultado 0,97% de actividad de agua en la muestra que contenía aceite de orégano y 0,96% actividad de agua para las muestras con aceite de aguacate y guayaba como se puede apreciar en la tabla 53.

Jaramillo (2007), argumenta que el rango de actividad de agua debe ser de 0 a 1, recomendando que mientras más bajo sea la actividad de agua presente en un alimento menos crecimiento microbiano va a presentar el producto, siendo un factor para alargar la vida útil y las propiedades organolépticas, esta investigación respalda los resultados obtenidos sobre la actividad de agua en salchichas de pollo.

Tabla 52.

Actividad de agua presente en salchichas de pollo.

Muestra de salchicha	Actividad de agua (%)
Salchicha + Aceite esencial de orégano	0,97
Salchicha + Aceite esencial de aguacate	0,96
Salchicha + Aceite esencial de guayaba	0,96

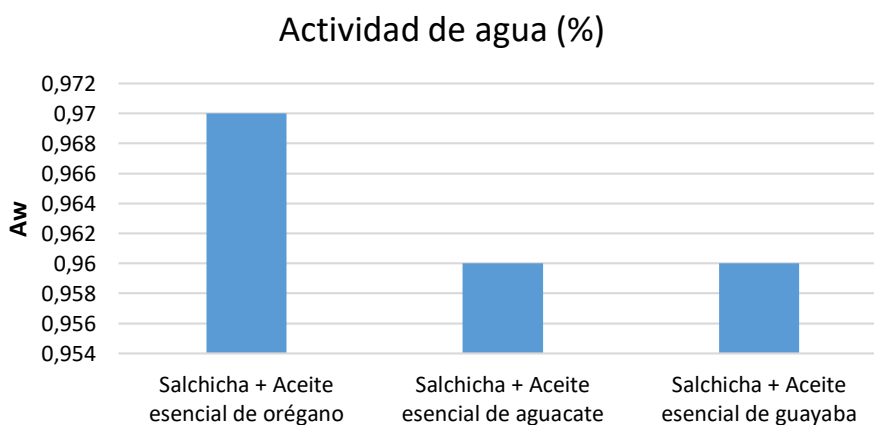


Figura 45. Actividad de agua presente en salchichas de pollo.

La actividad de agua obtenida en el análisis de salchichas de pollo con aceites esenciales se presenta en la figura 45, donde se aprecia el valor más alto obtenido de 0,97 perteneciente al aceite esencial de orégano.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Los aceites esenciales de guayaba, orégano y aguacate presentaron un efecto antioxidante en cuanto a la inhibición de microorganismos y preservación de las propiedades físico químicas estudiadas en salchichas de pollo. Las concentraciones de cada aceite vario según el tratamiento establecido.

Para el control de microorganismos *Aerobios mesófilos* o de recuento total, los tratamientos evaluados con resultados sobresalientes fueron T3, T4 y T5, los mismos que controlaron la estabilidad del producto como la proliferación de unidades formadoras de *Aerobios mesófilos*, dentro de los lineamientos establecidos por la norma INEN 1338.

En el análisis microbiológico para *Staphylococcus aureus*; las diferencias significativas mostraron a los tratamientos T5 y T8 con las medias más bajas como los más efectivos, estos lograron controlar el crecimiento microbiano limitado por la norma INEN 1338.

En el período de 30 días no se reportó la presencia de unidades formadoras de colonias de *Escherichia coli*, *Clostridium* y *Salmonella* en las muestras analizadas con aceites de aguacate, guayaba y orégano.

No se evidenciaron cambios notables en cuanto a pH, humedad y peróxidos en el período de estudio de 30 días.

En el método DPPH o de decoloración se obtuvo como resultado el efecto antioxidante, 91.9 para el aceite de guayaba, 76 en el aceite de aguacate y 74 % para el aceite de orégano.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios en productos cárnicos afines a las salchichas como; chorizos, salami o productos curados, empleando los aceites esenciales ya mencionados en esta investigación.

Se recomienda utilizar aceites esenciales de aguacate, guayaba y orégano en diferentes concentraciones a las ya usadas, para evaluar el poder antioxidante de los mismos.

REFERENCIAS

- Alandy, M. y García, J. (2008). Aditivos Alimentarios. Barcelona, España: Editorial Agrivia.
- Alarcón, K. (2010). Aceite esencial de Orégano como Antioxidante Natural para aceite de Maní. Buenos Aires, Argentina: Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC) – IMBIV-CONICET.
- Amadio, C. (2011). Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. Recuperado el 12 de marzo de 2017 de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/refca/v43n1/v43n1a17.pdf>
- Amadio, C; Medina, R; Dediol, C. (2011). Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. (1° Ed). Mendoza, Argentina; Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO.
- Amadio, V. (2001). Recuento de bacterias aerobias mesófitas totales en canales bovinas mediante el método de hisopado en un camal de Lima Metropolitana. Lima, Perú. Recuperado el 21 de marzo de 2017 de http://biblioteca.universia.net/html_bura/ficha/params/title/recuento-bacterias-aerobias-mesofilas-totales-canales-bovinas-metodo-hisopado-camal/id/51066932.html
- Amézquita, A; Arango, C; Restrepo, R. y Restrepo, D. (2001). Industria de Carnes. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia: REIC.
- Andino, F., & Castillo, Y. (2010). Microbiología de alimentos: Enfoque práctico para la inocuidad de alimentos. Estelí: Universidad Nacional de Ingeniería.
- Arcila, E. (2004). *Cryoscopic approach to wáter activity measurement of non-liquid foods*. Recuperado el 18 de abril de 2017 de: http://soregano.com/wp-content/uploads/2017/02/El-organo_-propiedade.pdf
- Aronson (2012). *Pathogenicity and resistance islands of staphylococcus*. Recuperado el 18 de abril de 2017 de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527413002191>

- Ashbolt, N.J., W.O.K. Grabow and M. Snozzi (2001). *Indicators of microbial water quality*. In Fewtrell, L. and Bartram, J. (ed.), *Water Quality: Guidelines, Standards and Health. Risk assessment and management for water-related infectious disease*. IWA Publishing, London.
- Astudillo, S. (2014). Utilización de aceites esenciales naturales como conservantes en la elaboración de salchichas de pollo. Recuperado el 22 de octubre de 2016 de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7009/1/UPS-CT003676.pdf>
- Azti Difusión Tecnológica (2001). Servicio de Información Alimentaria. Recuperado el 18 de abril de 2017 de http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/Funcionales/aditivos.pdf
- Badui, S. (2006). *Aditivos alimentarios*. (4.ed.). México, Df., México: Editorial Pearson.
- Başer, K., & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*. New York: CRC Press.
- Bauer K., Garber D., Surburg H. (2001). *Common Fragrance and flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*. (2 nd edn.). Wiley-VCH, Weinheim.
- Berdanier, C. D., Dwyer, J., & Feldman, E. B. (2010). *Nutrición y alimentos* (2a. ed.). Distrito Federal, MÉXICO: McGraw-Hill Interamericana.
- Bergliter, D y Hernández, S. (2010) *Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias*, de J.L. Multon. Editorial Acribia S.
- Bosh, N y Pérez, L. (2011). *Evolución de las sales nitrificantes en el proceso de elaboración y conservación de las salchichas tipo Frankfurt*. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid.
- Botero, L., Monsalve, C. y Rojano, B. (2007). Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. *Scntia Tech* 33:295-296.
- Bourgeois, C. (2001). *Microbiología Alimentaria. Aspectos Microbiológicos de la Seguridad Alimentaria*. Zaragoza, España: Acribia.

- Brun, I. (2009). *Enhanced production of exopolysaccharide matrix and biofilm by a menadione auxotrophic Staphylococcus aureus small-colony variant*. Scintia Tech.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales*. Zaragoza: Acribia S.A.
- Buchbauer, I. (2010). *Microorganisms in foods 5. Characterization Characteristics of Microbial Pathogens*. Chapman & Hall-London.
- Burt, S. (2004). *Essential oils: Their antibacterial properties and potencial applications in foods- A review. International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Burt, T. (2007). *The use of natural antioxidants in food products of animal origin. New York: Chapman & Hall. Cap. 12, p. 285-310*. Recuperado el 08 de mayo de 2017 de: http://www.123foodscience.com/food_chemistry/The_use_of_natural_antioxidants.pdf
- Carrillo, C y Mendoza, M. 2012. *Toxicología de los alimentos*. México, D.F., McGraw-Hill Interamericana.
- Carrillo, G. (2012). *Aditivos, tecnología en la industria alimentarias*. Lima; Perú.
- Castañeda, C., Ibáñez, L y Ramos, E. (2008). *Evaluation of the antioxidant capacity of seven peruvian medicinal p*. *Revista Horizonte Médico*.
- Cervato, B. (2000). *Water activity of fresh foods. J. Food. (Vol 47)*. Recuperado el 10 de enero de 2017 de: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfds.1982.47.issue-2/issuetoc>
- Chan, I. (2013). *Report of the Scientific Committee for Food on Adverse Reactions to Food and Food Ingredients. Food Sciences and Techniques*, EC, 1997, 1-29.
- CODEX ALIMENTARIUS CAC/RCP 75-2015. (2015). *Código de prácticas de higiene para alimentos con bajo contenido de humedad. Normas internacionales de los alimentos*.
- Crespo, R. (2012). *Future Research Needs for Prevention and Treatment of Clostridium difficile Infection*. New York: USA.

- Cubero, K. (2002). *The effects of sugar-free and sugar-rich beverages on feelings of fullness and subsequent food intake*. International Journal of Food Sciences and Nutrition 51:59-71
- Cubero, N., Montferrer, A., y Villalta, J. (2002). Aditivos alimentarios. Madrid España: Editorial Mundi-Prensa Libros, S.A.
- Dawson, S. (2008). *Antimicrobial resistance in Staphylococcus, Salmonella. Infectious Diseases of North America*. (Vol.11). New York: USA.
- Dean, J., Merritt, A. y Lynne L. (2011). Métodos instrumentales de análisis. México, D.F.: Compañía Editorial Continental
- Delgado, A. (2015). Efecto de butilhidroxitolueno (BHT) en la estabilidad oxidativa de un lubricante a base de aceite de ajonjolí. Bogotá: Colombia.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H. y Günther, J. (1992). *The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL*. Free Rad. Biol Med DOI 3: 341–390.
- Falcone, P., Speranza, B. y Del Nobile. (2005). *A study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative*. Journal of Food Protection. ISSN 68(8):1664-1670.
- Faria, J. (2007). Estudio de aspectos importantes en la conservación y empaques para carnes frescas. Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba.
- Fernández, L. y Morales, M. (2012). Deterioro del aceite de soya y oleina de palma durante el freido; Determinación del índice de peróxidos. Sevilla, España: Mundi- Prensa.
- Fernández, S., García, M. y Morales, M. (2012). Toxicología de los aditivos alimentarios. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Flóres, S., González, J., Gallego. y Culebras, J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Madrid- España.
- García, D. y Mendoza, J. (2012). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Ciudad de México: Editorial Alhambra Mexicana.
- García, Fernández y Morales. (2008). *Principles and methods in toxicology*. (5^a ed). New York: CRC Press.

- García, H. (2016). Conservación de alimentos y su evolución. Medellín, Colombia.
- García, H. Morales, O. y Pachón, A. (2012). Nitritos y Nitratos. (7ª ed.). El Ateneo.
- García, L. (2010). Aceites y grasas alimentarios Tecnología, utilización y nutrición. Editorial Acribia
- García, M y Soto, A. (2009). Productos Cárnicos Enriquecidos. Instituto de Investigaciones para industrias Cárnicas.
- Gavilán, Á. (2012). Seguridad Alimentaria y nutrición: Actualidad y nuevos enfoques. Santiago de Compostela: AFCA.
- Gavilán., D. y Jácome, H. (2012). Antioxidante, clasificación y uso en alimentos. Universidad Interamericana de Puerto Rico.
- Gil, Á., & Ruiz, M. (2010). Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos. Madrid: Médica Panamericana.
- Gómez, I. (2012). *Impedance measurement to study antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. Int. J. Food Microbiol. DOI: 67 187-195.*
- Gómez, J. y Leiva, A. (2012). *Síntesis Modificada del Peróxido Dimerico de Acetaldehído. An Update, National Academic Press, Washington, DC, 1982; (b) T.A. Carney and J. Fishman, Tellus, 38B, 127(1986)*
- Gómez, S., & López, M. (2009). *Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (Origanum vulgare) y canela (Cinnamomum zeylanicum).* Ingeniería de Alimentos, 33-45.
- González, U. (2013). Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Programa CYTED: Madrid, España.
- Gould, G. (2013). *Mechanisms of action of food preservation procedures. Irlanda: Elsevier Applied Science.*
- Grosch, W. y Schieberle, P. (2010). *Food Chemistry.* Berlin: Springer.
- Grosso, A. (2012). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores (2a ed.). Buenos Aires, Argentina: CYTED.

- Güngörmüs, et al, (2010.) Toxicología de los alimentos. México, D.F., McGraw-Hill Interamericana.
- Gurrieri, S., Miceli, L. y Lanza, M. (2000). *Chemical characterization of sisilian prickly pear (Opuntia ficus indica) and perspectives for the storage of its juice*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. DOI:48 5424-5431.
- Halliwell, B., Murcia, M., Chirico S y Aruoma O. (1995). *Free radicals and antioxidants in foods and in vivo: What they do and how they work*.
- Hernández, C., Ventura, I., Belmares, J., Contreras, J., Michelena, A. y Martínez, K. (2016). La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar. (50)1. 12-19. ISSN: 0138-6204.
- Hill, J. (1999). Química para el nuevo milenio. (8.ed.). México, Mexico: Pearson.
- Hirasa, C. (2012). Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. (Vol 3) México: Compañía Editorial Continental S.A.
- HONIKEL, O., et al. (2008). Influencia de la temperatura de almacenamiento de los músculos vacunos recién faenados sobre la capacidad de retención de agua de la carne y los pastones. (Vol. 2) En: Fleischwirtschaft, Español.
- Housam, H. (2014). *Estimating the antioxidant activity form natural antioxidants and synthetic one by DPPH*. International Journal of Pharmacys and Pharmaceutical Sciences, ISSN- 0975-1491.
- Hudson, F. (2009). *Preparation of natural antioxidants*. Food Technol., (Vol. 54). New York: USA.
- Huerta, C. (2007). Los aceites esenciales, una alternativa a los antimicrobianos. Virginia, Laboratorios Calier.
- Hussein, J. (2012). *Microorganisms in foods 6. Microbioal ecology of food commodities*. Blackie Academic & Professional-London.
- IARC. (2015). Consumo de carnes procesadas y sus riesgos en la salud.
- Ibáñez, F., Torre, P. y Irrigoyen, A. (2008). Aditivos Alimentarios. Área de Nutrición y Bromatología. Universidad Pública de Navarra
- INEN 1217. (2006). Carne y producto cárnicos. Definiciones. Quito.

- INEN 1338. (2012). Carne y Productos Cárnicos, Productos Cárnicos Crudos, Productos Cárnicos Curados Madurados y Productos Cárnicos Precocidos – Cocido.
- INEN 1529-14. (2004). Control microbiológico de los alimentos. *Staphylococcus aureus*. Quito.
- INEN 1529-5. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Quito: Instituto Ecuatoriano de Regularización.
- INEN 1529-8. (2016). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y *E. Coli*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Regularización.
- INEN 2346. (2016). Carnes y menudencias comestibles de animales de abasto. Quito: Instituto Ecuatoriano de Regularización.
- Jaramillo, R. (2007). *Antibacterial activity of carvacrol, citral and geranial against Salmonella typhimurium in culture medium and on fish cubes*. J. Food Sci. 60, 1364–1368.
- Kraemer, K. (2002). *The Antioxidants: Vitamins C and E*. Illinois: AOCS Press.
- Lorenzo, M., Casais, D. (2010). Técnicas de Separación en Química Analítica. Universidad de Madrid. Madrid.
- Lozada, C y Pérez, M. (2015). Tecnología de extractos vegetales. México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Lozano, U. (2014). *Biochemistry of Foods*. Orlando: Academic Press.
- Luximon-Ramma, A., Bahorun, T. y Crozier, A. (2009). *Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 83. 496-502
- MAGAP. (2013). Estudio de Cadenas Pecuarias del Ecuador. (1. ed). Quito, Ecuador. Barzola Ediciones.
- Martínez, A. (2012). Aceites Esenciales. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Martínez, R. (2013). *Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers*. Meat science, ISSN-781-788.

- McKee, T. y McKee, J. (2009). *Bioquímica: las bases moleculares de la vida* (4a. ed.). México, D.F., MX: McGraw-Hill Interamericana.
- Miller, J. (2009). *Antimicrobial activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system.*
- Montoya, G. (2010). *Aceites Esenciales*. Sede Manizales. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Bogotá, Colombia.
- Mora, L. (2013). *Staphylococcus aureus of innate antimicrobial defense. International Journal of Food Microbiology.*
- Morataya, A. (2006). *Caracterización Farmacopéica de cuatro plantas aromáticas nativas de Guatemala Albahaca de monte (Ocimum micranthum), Orégano (Lippia graveolens), Salvia sija (Lippia alba) y Salviyá (Lippia chiapasensis) (Tesis de Licenciatura).* Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Moreno, J. (2012). *Industria de Carne*. Centro de Investigaciones de Madrid: Madrid, España.
- Muguerza, D. (2012). *Resistance and adaptation to food antimicrobials, sanitizers, and other process controls.*
- Murano, A (2000). *Microbiología de la Carne*. En: CURSILLO TEÓRICO - PRÁCTICO DE TECNOLOGÍA CÁRNICA, Memorias del V Cursillo Teórico Práctico de Tecnología Cárnica. Ames, Iowa: Iowa State University.
- Murphy, J. (2005). *Toxicological Evaluation of Certain Aditivos alimentarios. WHO Food Additives Series NO 22*, Cambridge University Press.
- NIELSEN. (2012). Lo saludable, una tendencia en alza. Recuperado el 22 de octubre del 2016 de: <http://www.nielsen.com/latam/es/insights/news/2015/oportunidades-saludables.html>
- Núñez, T. (2010). *Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. Microbes Infect* 4, 433–440.

- Oña, C. y Serrano, D. (2012). Certificado de Profesionalidad INAI0108-Carnicería y elaboración de productos cárnicos. (1. ed). Universidad de Andalucía e Innova Ediciones. Andalucía, España
- Pavia, G. y Lampman, S. (2009). Química Orgánica Experimental. Universitaria de Barcelona Eunibar.
- Pérez, R., Mitchell, R., & Vargas, S. (2008). *Psidium Guajava: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Ethnopharmacol.*
- Pino, A. (2015). Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos. Havana, CUBA: Editorial Universitaria.
- Pollio M y Moreno, A. (2012). Actividad de Agua. París, Francia: Universidad Nacional de Quilmes.
- Prescott, L., Harley, J., & Klein, D. (2000). Microbiología. Madrid: McGraw Hill Interamericana,
- Prieto, A. (2011). *Antimicrobial properties of some herb essential oils.* Food Australia 54 (9), 384–387.
- Ramírez, M. (2014). Análisis y determinación de humedad: Universidad Nacional de Perú.
- Readorn, J. (2009). Humedad, pH y AW en alimentos. Carolina del Norte: North Carolina Department of Agriculture.
- Robledo,S, Bocalón, J, Giacomelli, L, Ceballos, C y Mattea, M. (2013). Estudio de la influencia de antioxidantes en aceites vegetales durante la oxidación térmica forzada. Universidad Nacional del Río Cuarto. Córdoba: Argentina.
- Rodríguez, I. (2009). Higiene, Inspección y Control Alimentario Técnicas analíticas en carne y productos cárnicos. Universidad de Murcia: Murcia, España.
- Rojas, B, Andrade, M., Bezerra, J., Macrae, A., Sousa, O., Fontoles, A., y otros. (2011). *Antibacterial activity of guava, Psidium guajava linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from seabob shrimp.* Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 11-15.
- Sáez, O. (2002). *Community associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus the way to wound is through the nose.*

- Sánchez, H. (2008). *Comparison of community and health care associated methicillinresistant Clostridium botulinum infection*. (Vol. 29)
- Sánchez, G. (2013). Ciencia básica de la carne, Evaluación del pH en canales de toros Holstein (*Bos taurus*) y Nelore (*Bos indicus*). Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogotá.
- Schmaus, G. (1993). Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias (2ª ed.). Editorial Acribia, S.A. Zaragoza
- Serrano, D. y Orts. (2012). Elaboración de preparados cárnicos frescos: carnicería y elaboración de productos cárnicos (MF0297_2). Málaga, ES: IC Editorial.
- Sofos, J. (1997). *Microbial growth and its control in meat, poultry and fish*. "Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products". Great Britain: Blackie Academic & Professional.
- Stashenko, E. (2009). Aceites Esenciales. Bucaramanga: CENIVAM.
- Tirado, S. (2005). *Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia*. Int. J. Food Microbiol. 80, 223–230.
- Tovar, U., Ortiz, T. y Soriano, J. (2012). La transformación y conservación de los alimentos. México, DF. México: Editorial: Nuevo México
- Trujillo, O. (2011). *Partial substitution of animal fat with plant origin oil in the production of finely comminuted sausages*.
- UNAM. (2011). Canales y Cortes del Bovino. Departamento de investigación UNAM: México DF, México.
- Vallejo, M. y Velasco, A. (2005). Aceites esenciales: ensayo de la quimiotaxonomía. Madrid- España; Universidad Complutense de Madrid.
- Van de Braak y Leijten, (1999). *Food Aditives: what every manager needs to know about the law*. Chandos Publishing/The British Library.
- Velázquez, A. (2009). *Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure*. Int. J. Food Microbiol. 77, 205–212.
- Velázquez, G. (2012). *Deactivating the bacteria and yeast in kefir using heat treatment, irradiation and high pressure*. Int. Dairy J. 11, 45–49.

- Vidal, P. y Hernández, A. (1999). Conservantes alimenticios en la elaboración de productos cárnicos. Bogotá: Colombia.
- Vitagor, S.A. (2008). Antioxidantes. Laboratorios Vitafor S.R.L.
- Vladés, F. (2010). Vitamina C. Unidad Investigadora de Medicina. Hospital de Costa. Burela. Lugo. España.
- Zumbado, H. (2012) "Análisis Químico de los Alimentos - Métodos Clásicos. Lima, Perú: Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

ANEXOS

Anexo 1. Aerobios mesófilos, datos de unidades formadoras de colonias por repetición en un período de 30 días

TRATAMIENTO	REPETICION	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30	Log DIA 0	Log DIA 10	Log DIA 20	Log DIA 30
T1	1	223	219	437	597	2.35	2.34	2.64	2.78
T2	1	160	145	290	490	2.21	2.16	2.46	2.69
T3	1	41	43	85	235	1.62	1.63	1.93	2.37
T4	1	20	40	80	215	1.31	1.60	1.90	2.33
T5	1	51	43	85	273	1.71	1.63	1.93	2.44
T6	1	90	68	136	295	1.96	1.83	2.13	2.47
T7	1	71	43	85	205	1.85	1.63	1.93	2.31
T8	1	82	96	191	373	1.91	1.98	2.28	2.57
T1	2	210	208	415	635	2.32	2.32	2.62	2.80
T2	2	150	163	325	375	2.18	2.21	2.51	2.57
T3	2	53	33	66	205	1.72	1.51	1.82	2.31
T4	2	45	51	102	290	1.65	1.71	2.01	2.46
T5	2	63	36	71	200	1.80	1.56	1.85	2.30
T6	2	98	70	139	355	1.99	1.85	2.14	2.55
T7	2	88	57	114	275	1.94	1.76	2.06	2.44
T8	2	100	90	180	432	2.00	1.95	2.25	2.64
T1	3	193	193	385	459	2.28	2.29	2.59	2.66
T2	3	175	176	352	459	2.24	2.25	2.55	2.66
T3	3	77	84	168	353	1.89	1.92	2.23	2.55
T4	3	62	48	96	214	1.79	1.68	1.98	2.33
T5	3	66	67	133	265	1.82	1.83	2.12	2.42
T6	3	101	130	260	485	2.01	2.11	2.41	2.69
T7	3	134	79	157	355	2.13	1.90	2.20	2.55
T8	3	131	121	241	498	2.12	2.08	2.38	2.70

Anexo 2. Aerobios mesófilos, datos de unidades formadoras de colonias.

Promedio de la evaluación en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30
T1	209	207	412	564
T2	162	161	322	441
T3	57	53	106	264
T4	42	46	93	240
T5	60	49	96	246
T6	96	89	178	378
T7	98	60	119	278
T8	104	102	204	434

Anexo 3. *Staphylococcus aureus*, datos de unidades formadoras de colonias por repetición en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	REPETICION	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30	Log DIA 0	Log DIA 10	Log DIA 20	Log DIA 30
T1	1	111	198	220	270	2.05	2.30	2.34	2.43
T2	1	65	96	130	185	1.81	1.98	2.12	2.27
T3	1	71	125	155	205	1.85	2.10	2.19	2.31
T4	1	67	60	112	135	1.83	1.78	2.05	2.13
T5	1	45	104	110	153	1.65	2.02	2.04	2.18
T6	1	76	105	80	118	1.88	2.02	1.90	2.07
T7	1	67	111	150	199	1.82	2.04	2.18	2.30
T8	1	65	67	100	139	1.81	1.82	2.00	2.14
T1	2	134	192	280	420	2.13	2.28	2.45	2.62
T2	2	96	82	169	201	1.98	1.92	2.23	2.30
T3	2	98	114	175	222	1.99	2.06	2.24	2.35
T4	2	99	101	160	200	1.99	2.01	2.20	2.30
T5	2	78	95	130	165	1.89	1.98	2.11	2.22
T6	2	108	119	93	136	2.03	2.08	1.97	2.13
T7	2	98	140	160	215	1.99	2.15	2.21	2.33
T8	2	85	91	105	145	1.93	1.96	2.02	2.16
T1	3	173	216	260	380	2.24	2.33	2.41	2.58
T2	3	60	115	100	141	1.78	2.06	2.00	2.15
T3	3	102	107	110	149	2.01	2.03	2.04	2.17
T4	3	110	124	115	164	2.04	2.09	2.06	2.21
T5	3	88	77	92	126	1.94	1.89	1.96	2.10
T6	3	102	111	100	141	2.01	2.05	2.00	2.15
T7	3	100	105	120	161	2.00	2.02	2.08	2.21
T8	3	102	131	170	219	2.01	2.12	2.23	2.34

Anexo 4. *Staphylococcus aureus*, datos de unidades formadoras de colonias.
Promedio de la evaluación en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30
T1	139	202	253	357
T2	74	98	133	176
T3	90	115	147	192
T4	92	95	129	166
T5	70	92	111	148
T6	95	112	91	132
T7	88	119	143	192
T8	84	96	125	168

Anexo 5. Determinación de pH, datos evaluados por número de repetición en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30
1	1	6.69	6.80	6.74	6.82
2	1	6.45	6.72	6.78	6.76
3	1	6.60	6.68	6.62	6.74
4	1	6.52	6.61	6.49	6.74
5	1	6.38	6.43	6.40	6.61
6	1	6.67	6.79	6.72	6.86
7	1	5.52	6.62	6.60	6.89
8	1	6.49	6.65	6.60	6.74
1	2	6.67	6.78	6.71	6.8
2	2	6.31	6.54	6.51	6.72
3	2	6.55	6.57	6.45	6.7
4	2	6.41	6.56	6.56	6.71
5	2	6.35	6.46	6.45	6.58
6	2	6.63	6.43	6.31	6.82
7	2	6.28	6.57	6.49	6.68
8	2	6.21	6.55	6.51	6.62
1	3	6.65	6.74	6.68	6.8
2	3	6.29	6.58	6.47	6.7
3	3	6.51	6.52	6.48	6.68
4	3	6.41	6.44	6.43	6.68
5	3	6.4	6.45	6.43	6.55
6	3	6.63	6.72	6.69	6.78
7	3	6.44	6.52	6.48	6.63
8	3	6.39	6.44	6.43	6.59

Anexo 6. Determinación de peróxidos, datos evaluados por número de repetición en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	DIA 0	DIA 10	DIA 20	DIA 30
1	1	0	0	0,5	2
2	1	0	0	0,5	2
3	1	0	0	0,5	0,5
4	1	0	0	0,5	0,5
5	1	0	0	0	0
6	1	0	0	0	0
7	1	0	0,5	0	0,5
8	1	0	0	0	0,5
1	2	0	2	2	2
2	2	0	2	2	5
3	2	0	0	0,5	0,5
4	2	0	0	0,5	2
5	2	0	0	0,5	2
6	2	0	0	0	0,5
7	2	0	0	0	0,5
8	2	0	0	0	5
1	3	0	2	2	2
2	3	0	2	2	5
3	3	0	0	0,5	0,5
4	3	0	0	0,5	2
5	3	0	0	2	5
6	3	0	0	0	2
7	3	0	0	0,5	2
8	3	0	0,5	0	2

Anexo 7. Determinación de humedad, datos evaluados por número de repetición en un período de 30 días.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	DÍA 0	DÍA 10	DÍA 20	DÍA 30
1	1	0.6	0.63	0,63	0,64
2	1	0.61	0.63	0.63	0,64
3	1	0.62	0,66	0,65	0.62
4	1	0.61	0,65	0,63	0,61
5	1	0.61	0,66	0,64	0.62
6	1	0.62	0.65	0,63	0.61
7	1	0.6	0.61	0,62	0.66
8	1	0.6	0.67	0.69	0.69
1	2	0.6	0.63	0.62	0.66
2	2	0.62	0.63	0.65	0.65
3	2	0.61	0.67	0.66	0.63
4	2	0.61	0.65	0.64	0.62
5	2	0.62	0.66	0.64	0.63
6	2	0.62	0.64	0.63	0.61
7	2	0.61	0.61	0.67	0.65
8	2	0.6	0.64	0.65	0.66
1	3	0.59	0.63	0.6	0.62
2	3	0.61	0.62	0.64	0.66
3	3	0.61	0.64	0.66	0.63
4	3	0.62	0.65	0.63	0.62
5	3	0.62	0.65	0.64	0.61
6	3	0.66	0.64	0.63	0.61
7	3	0.62	0.61	0.66	0.65
8	3	0.6	0.64	0.65	0.66

Anexo 8. Evaluación de efecto antioxidante durante 60 minutos de los aceites esenciales de guayaba, orégano y aguacate.

Número de tomas	Aceite esencial de guayaba	Aceite esencial de orégano	Aceite esencial de aguacate
1	0.943	0.344	1.171
2	0.857	0.344	1.122
3	0.766	0	1.111
4	0.730	0	1.121
5	0.699	0.376	1.129
6	0.664	0.345	1.138
7	0.295	0.335	1.14
8	0.241	0.332	1.152
9	0.206	0.330	1.152
10	0.181	0.327	1.167
11	0.155	0.329	1.175
12	0.149	0.328	1.176
13	0.138	0.328	1.184
14	0.124	0.326	1.187
15	0.103	0.312	1.198
16	0.087	0.331	1.208
17	0.054	0.327	1.212
18	0.042	0.327	1.221
19	0.029	0.330	1.223
20	0.029	0.330	0.29
21	0.004	0.328	0.29
22	-0.013	0.330	0.29
23	-0.018	0.333	0.29
24	-0.030	0.318	0.29
25	-0.033	0.329	0.29
26	-0.067	0.336	0.29
27	-0.070	0.336	0.29
28	-0.077	0.331	0.29
29	-0.082	0.332	0.29
30	-0.094	0.315	0.29
31	-0.098	0.316	0.29

