



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ESTUDIO DE CALIDAD DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS
EN LOS NEGOCIOS DE COMIDA RAPIDA EN LAS PARROQUIAS
LIZARZABURO, VELOZ Y YARUQUÍES DE LA CIUDAD DE
RIOBAMBA Y SU INCIDENCIA EN LA SALUD”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: FÁTIMA DE LOS ÁNGELES PILCO MOROCHO

DIRECTORA: Dra. NELLY IVONNE GUANANGA DÍAZ MSc.

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, **Fátima de los Ángeles Pilco Morocho**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, FÁTIMA DE LOS ÁNGELES PILCO MOROCHO, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 23 de agosto de 2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Fátima P.', with a stylized flourish.

Fátima de los Ángeles Pilco Morocho

060425272-6

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación; Tipo: Trabajo Experimental, “**ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS EN LOS NEGOCIOS DE COMIDA RÀPIDA EN LAS PARROQUIAS LIZARZABURO, VELOZ Y YARUQUIES DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA Y SU INCIDENCIA EN LA SALUD**” realizado por la señorita: **FÁTIMA DE LOS ÁNGELES PILCO MOROCHO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA



Firmado electrónicamente por:

**SANDRA NOEMI
ESCOBAR
ARRIETA**

Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta MSc

23-08-2021

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

**NELLY IVONNE
GUANANGA
DIAZ**

Firmado digitalmente
por NELLY IVONNE
GUANANGA DIAZ
Fecha: 2021.10.01
06:27:28 -05'00'

Dra. Nelly Ivonne Guananga Díaz MSc

23-08-2021

**DIRECTORA DE TRABAJO DE
TITULACIÓN**

**GALO
ALBERTO
INSUASTI
CASTELO**

Firmado
digitalmente por
GALO ALBERTO
INSUASTI CASTELO
Fecha: 2021.10.01
20:21:22 -05'00'

Dr. Galo Alberto Insuasti Castelo MSc

23-08-2021

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

Dedico todo mi esfuerzo y sacrificio a mi madre Gladys, a mi abuela Blanca mi segunda madre, con todo mi cariño y admiración por darme la vida, por sus enseñanzas, su ejemplo, guía, paciencia y dedicación.

A mi hijo Leonel, por ser mi compañero, por enseñarme el amor infinito y por ser el impulso de mi superación personal y profesional.

A mis hermanas Cristina y Nikol que se convirtieron en un soporte de mi carrera universitaria.

Fátima de los Ángeles Pilco M.

AGRADECIMIENTO

A Dios por todas por cada una de sus bendiciones.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por permitirme cumplir una meta tan anhelada.

A la Doctora Sandra Escobar por su ayuda, sus consejos y por compartir sus conocimientos.

A la Doctora Nelly Guananga por ser una guía en el desarrollo de este proyecto

A la Bioquímica Yolanda Buenaño por su acompañamiento, compromiso y aporte de conocimientos.

Fátima de los Ángeles Pilco M.

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY	xiv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	7
1.1. Aceites Vegetales	7
1.1.1. Composición de los aceites vegetales	8
1.1.1.1. Ácidos Grasos	8
1.1.1.2. Acilgliceroles	9
1.1.1.3. Fosfoglicéridos.....	9
1.1.2. Clasificación	9
1.2. El aceite vegetal usado (AVUs)	10
1.3. Proceso de fritura	10
1.3.1. Mecanismos generales de la fritura.....	11
1.3.2. Cambios físicos y químicos en el aceite de fritura	12
1.3.3. Parámetros de calidad del aceite o grasa de fritura	14
1.4. Análisis de calidad de aceites vegetales	15
1.4.1. Análisis físico-químicos	15
1.4.2. Análisis microbiológicos	16
1.4.2.1. Tinción Gram	16
1.5. Medios de cultivo.....	19
1.6. Resistencia antimicrobiana	22
1.7. Problemas en la salud por el reusó del aceite vegetal	23
1.8. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs).....	24
1.9. Medidas higiénico- sanitarias.....	26
1.10. Base Legal	27
1.11. Limitaciones de la investigación	27

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO.....	28
2.1.	Lugar de Investigación	29
2.2.	Población de estudio.....	30
2.3.	Tamaño de la muestra y muestreo.....	31
2.6.	Materiales, equipos y reactivos	32
2.7.	Metodología	33
2.7.1.	<i>Toma y transporte de muestras</i>	33
2.7.2.	<i>Análisis físico-químicos</i>	33
2.7.3.	<i>Análisis microbiológico.....</i>	34
2.7.3.1.	<i>Proceso previo a los análisis microbiológicos</i>	34
2.7.3.2.	<i>Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable (NMP).....</i>	34
2.7.3.3.	<i>Recuento de aerobios mesófilos</i>	34
2.7.3.4.	<i>Aislamiento y purificación de las colonias de las diferentes bacterias</i>	35
2.7.3.5.	<i>Tinción Gram</i>	35
2.7.3.6.	<i>Recuento Staphylococcus aureus</i>	35
2.7.3.7.	<i>Prueba confirmatoria para Staphylococcus aureus.....</i>	36
2.7.3.8.	<i>Prueba confirmatoria para Staphylococcus Epidermidis y Staphylococcus Saprofítico</i>	36
2.7.3.9.	<i>Prueba para la identificación de Salmonella.....</i>	36
2.7.3.10.	<i>Identificación de bacterias Gram negativas mediante Pruebas Bioquímicas.....</i>	37
2.7.3.11.	<i>Antibiograma en agar Mueller Hinton.....</i>	37

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	38
3.1.	Análisis físico-químico del aceite vegetal usado.....	38
3.2.	Análisis microbiológico del aceite vegetal usado	40
3.2.1.	<i>Identificación de cepas puras</i>	41
3.3.	Antibiograma.....	48
3.4.	Check list.....	51

3.5.	Asociación de variables.....	52
	CONCLUSIONES.....	56
	RECOMENDACIONES.....	58
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1:	Factores que influyen en la oxidación de lípidos	13
Tabla 3-1:	Diferencias entre bacterias Gram positivas y negativas	17
Tabla 4-1:	Tipos de medios de cultivo.....	19
Tabla 5-1:	Medios de cultivo de acuerdo con su estado físico	20
Tabla 6-1:	Medios de cultivos para identificación de bacterias en aceites vegetales.....	20
Tabla 8-2:	Materiales utilizados.....	32
Tabla 9.2:	Equipos, Medios de cultivo y Reactivos usados en los análisis microbiológicos.....	32
Tabla 10.2:	Norma utilizada para el análisis físico-químico.....	33
Tabla 11-3:	Parámetros físico químicos determinados en cada muestra.	38
Tabla 12-3:	Estadísticos descriptivos de los análisis físicos químicos de las muestras de aceites vegetales usados	40
Tabla 13-3:	Identificación de cepas de cocos Gram positivos mediante pruebas específicas.	41
Tabla 14-3:	Identificación de cepas aisladas mediante el uso de pruebas bioquímicas en agar SS.....	42
Tabla 15-3:	Identificación de cepas aisladas mediante el uso de pruebas bioquímicas en agar EMB y MCK.....	42
Tabla 16-3:	Identificación de cepas de bacilos Gram negativos mediante pruebas específicas. ..	43
Tabla 17-3:	Ausencia (0) y presencia (1) de microorganismos detectados, y resultado del conteo de otros microorganismos, en las muestras de los 20 aceites usados muestreados.....	44
Tabla 18-3:	Antibiograma para cocos Gram positivos identificados y aislados.	48
Tabla 19-3:	Antibiograma para Bacilos Gram negativos identificados y aislados.	49
Tabla 20-3:	Frecuencias y porcentajes de la evaluación sanitaria para los locales de comida rápida.	51
Tabla 21-3:	Pruebas Chi-cuadrado.....	53
Tabla 22-3:	Comparación de resultados y sus diferentes normas.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Factores de Riesgo ante intoxicaciones alimentarias.	25
Figura 2-2: Mapa de las parroquias urbanas de la ciudad de Riobamba.....	30

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3:	Recuento de aerobios mesófilos en UFC/g.....	45
Gráfico 2-3:	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en UFC/g.....	46
Gráfico 3-3:	Cumplimiento (%) de la evaluación sanitaria para los locales de comida rápida.....	52

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** CHECK LIST- GUÍA DE EVALUACIÓN SANITARIA PARA PUESTOS DE EXPENDIO AMBULATORIOS DE ALIMENTOS PREPARADOS
- ANEXO B:** IMÁGENES DEL PROCEDIMIENTO
- ANEXO C:** RESULTADOS EN MEDIOS DE CULTIVO
- ANEXO D:** IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS
- ANEXO E:** PRUEBAS BIOQUÍMICAS
- ANEXO F:** ANTIBIOGRAMA
- ANEXO G:** NORMA INEN 35. GRASA Y ACEITES COMESTIBLES. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA
- ANEXO H:** NORMA INEN 38. GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ.
- ANEXO I:** NORMA INEN 277. GRASAS Y ACEITES. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDO

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es determinar la relación entre los parámetros: físico-químicos, bacteriológicos, riesgos para salud y manejo de los aceites vegetales usados (AVUs) en los negocios de comida rápida, en las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba, bajo un diseño experimental con muestreo por conveniencia de un total de veinte muestras y posterior análisis de las variables independientes y dependientes. Los resultados de las medias fueron: pH de 7,20, temperatura 18,57 grados Celsius, densidad relativa 0,9145, conductividad 0,10 microsiemens, solidos totales disueltos 0 mg/L; índice de acidez 1,778 mgNaOH/g aceite, índice de peróxido 31,60 meq O₂/Kg de aceite. Los análisis bacteriológicos identificaron agentes patógenos como *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium spp*; e indicadores de la calidad como: *Aerobios mesófilos*, *Pseudomonas*, *S. epidermis*, *S. saprofítico* y *Streptococo viridans*. En cuanto a los riesgos para la salud se estableció que del 100% de negocios el 66.22% cumplen con los ítems evaluados y el 37.78% no los cumple; convirtiéndose en una fuente de contaminación que puede conllevar a enfermedades transmitidas por alimentos. Para los patógenos encontrados, se identificó sensibilidad para algunos antibióticos es decir se puede administrar el tratamiento adecuado. El análisis de Chi, determino tres correlaciones, manipulación del dinero mientras el vendedor está sirviendo los alimentos puede dar presencia de *Salmonella spp*; si las sillas y mesas están o no limpias y en buen estado se asocia con la presencia o ausencia de *S. saprofítico*; el arrojar a la vía pública desperdicios o aguas de lavado se asocia con la cantidad de *S. aureus*, este crecimiento se debe a que las bacterias crecen y se dividen hasta el nivel máximo a una velocidad constante mientras existen nutrientes suficientes para su crecimiento. Se recomiendan controles de calidad frecuentemente en los locales de comida rápida e impartir capacitación sobre manipulación de alimentos.

Palabras clave: <CALIDAD DEL ACEITE>, <ACEITE VEGETAL USADO (AVUs)>, <MICROORGANISMOS INDICADORES DE LA CALIDAD>, <MICROORGANISMOS PATÓGENOS>, <ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA)>.

LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.09.03 09:39:10 -05'00'



1710-DBRA-UTP-2021

SUMMARY

The objective of this study is to determine the relationship between parameters: physical-chemical, bacteriological, health risks and handling and the waste of vegetable oils (WVO), in the fast-food stalls in the parishes of Lizarzaburo, Veloz, and Yaruquíes of the city of Riobamba, under an experimental design with a convenience sampling for a total of twenty samples, and a subsequent analysis of the independent and dependent variables. The results of the means were: pH of 7.20, temperature 18.57 degrees Celsius, relative density 0.9145, and conductivity 0.10 micro siemens, total dissolved solids 0 mg / L; acid number 1,778 mg NaOH / g oil, peroxide value 31.60 meq O₂ / Kg of oil. The bacteriological analysis identified pathogens such as *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium spp*; and quality indicators such as *Mesophilic aerobes*, *Pseudomonas*, *S. epidermis*, *S. saprophytic*, and *Streptococcus viridans*. Regarding health risks, it was established that from the 100% of the businesses, 66.22% comply with the items evaluated and 37.78% do not comply; becoming a source of contamination that can lead to foodborne diseases. For the pathogens found, it was identified that some antibiotics are sensitive to the appropriate treatment that can be administered. The Chi-square analysis, determined three correlations, the manipulation of money while the seller is serving the food can lead to the presence of *Salmonella spp*, whether or not the chairs and tables are clean and in good condition is associated with the presence or absence of *S. saprophytic*, throwing waste or filthy water is associated with the amount of *S. aureus*, this growth is due to bacteria growth and its divide to the maximum level at a constant rate while enough nutrients are present for their growth. Frequently quality controls are recommended in fast food stalls and, also to provide food handling training.

Keywords: <OIL QUALITY>, <WASTE VEGETABLE OIL (WVOs)>, <QUALITY INDICATOR MICROORGANISMS>, <PATHOGENIC MICROORGANISMS>, <FOODBORNE DISEASES (FBDs)>.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

En diferentes estudios se ha reportado los cambios físicos y químicos que presenta el aceite luego de ser sometido al proceso de fritura; y análisis microbiológicos de las diferentes comidas expandidas para su consumo.

Un primer trabajo corresponde artículos de revisión consideran que la resistencia antimicrobiana se encuentra en un punto crítico ya que se la ubica dentro de los diez problemas de especial atención para la OMS, dado que algunos microorganismos potencialmente patógenos crean resistencia a fármacos tratantes de las afecciones que estos provocan, perdiendo así la eficacia y, en muchos de los casos la falta del tratamiento, aumentando el riesgo de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Calero et al., 2019: pp.307-323).

Este estudio nos da información, sobre la posible resistencia de algunos patógenos que pueden estar presentes en los aceites vegetales usados, los cuales pueden empeorar la salud del consumidor, ya que los tratamientos no serán eficaces y serán proclives a enfermedades difíciles de tratar que pueden ocasionar hasta la muerte. (Lázaro, 2018, pp.14-42), quien en su tesis “Alteraciones de los aceites vegetales durante la fritura” desarrollada en la Universidad de Sevilla, estudio las alteraciones de los aceites vegetales durante la fritura, estableciendo que los productos de degradación formados en este proceso son los responsables de alterar las características organolépticas y físico-química del aceite como consecuencia de las reacciones de termooxidación, polimerización e hidrólisis.

También se realizó una “Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del mercado de Lima” determinando la presencia de microorganismo que se consideraron inaceptables para el consumo humano, según la Norma Sanitaria (Galarza, 2018, pp.13-43). Es importante las condiciones higiénico sanitarias en las que se realiza el proceso de fritura, ya que pueden originar enfermedades de transmisión alimentaria; “La contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento” es un artículo publicado por la UNED Madrid - España en donde establece que las alteraciones se deben a las reacciones producidas por luz y calor expuestos en su conservación y a los envases utilizados en el almacenamiento (Garcinuño, 2017, pp.51-63).

También se realizó un estudio sobre las “Modificaciones fisicoquímicas y sensoriales producidas durante las frituras domésticas sobre aceite de girasol refinado y aceite de oliva virgen extra”, se encontró que ambos aceites modificaron sus parámetros fisicoquímicos a partir del segundo ciclo de fritura; mientras que se percibieron cambios sensoriales sólo para el aceite de oliva virgen extra, en el cuarto ciclo; afirman que es necesario revisar estas prácticas hogareñas, que según diversos autores

originan la formación de aldehídos nocivos para la salud (Ciappini et al., 2016: pp.153-161).

En cuanto a las enfermedades transmitida por alimentos, en un artículo de la revista REDVET se revisó el fenómeno de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), en donde se trata la temática y causas de las ETAs, determinando que múltiples factores, entre los que destacan la incorrecta manipulación y conservación de los alimentos, fundamentalmente en los países en vías de desarrollo, los que padecen estas enfermedades en grado extremo. Afirman que para el control de las ETA se requiere, como mínimo del esfuerzo conjunto de gobiernos, productores y consumidores, de ahí la importancia de la capacitación a la población involucrada (Rodríguez et al., 2015: pp.01-27).

En una investigación se determinó de la “Calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. ”, en donde se estableció que la mayoría de puestos de venta ambulatoria de alimentos tienen un riesgo sanitario alto y presencia de múltiples bacterias, asegurando que se requiere un mayor control por parte de las autoridades correspondientes, una mayor información, capacitación a vendedores y consumidores de este tipo de alimentos (Campuzano et al., 2015: p.81).

En otro estudio se llevó a cabo una “Cuantificación del deterioro de aceites vegetales mediante el diagnóstico de siete establecimientos procesadores de frituras (entornos comerciales y universitarios), ubicados en el Municipio Libertador del Estado Mérida - Venezuela”, a partir de la evaluación de índices físicos y químicos característicos de los aceites; concluyeron que el desconocimiento por parte de los usuarios de la manipulación y uso adecuado del aceite en frituras, la falta de normativa y fiscalización por entes responsables del tema, contribuyen a que algunos de los establecimientos eliminen el aceite usado en condiciones excesivas de degradación termooxidativa (Rivera et al., 2014: pp.157-163). Debido a que las frituras han tenido gran aceptación en los consumidores, en un trabajo realizado en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo se describe la composición química de los aceites comestibles utilizados en la elaboración de frituras y algunas modificaciones que presentan durante el proceso térmico, las cuales pueden tener efectos en la salud humana como enfermedades cardiovasculares (Esquivel et al., 2014: pp.4-9).

(Barbosa, 2012, pp.9-29), describe las “Condiciones higiénico sanitarias de la venta callejera de alimentos del Parque Nacional – Bogotá D.C.”, en donde se demostró un inadecuado lavado de manos, un deficiente acceso de agua e incorrecto manejo de desechos; convirtiéndose en un factor de riesgo en la contaminación de los alimentos.

Respecto a la reutilización de aceites (Ayala, 2011, pp.13-39), realizó una investigación en la Universidad de Javeriana la cual consistió en la “Evaluación de la calidad del aceite de mezclas vegetales utilizado en doce frituras sucesivas empleado para freír plátano hartón verde” estableciendo que los aceites sufren modificaciones en sus componentes químicos al ser sometidos a procesos de fritura sucesivas

(reutilización), afectando su calidad nutricional y sensorial, que a su vez con un consumo frecuente puede relacionarse con el desarrollo e incremento de enfermedades crónicas no transmisibles.

En nuestro país en la ciudad de Cuenca, se realizó un estudio “Evaluación del deterioro del aceite vegetal en la preparación de papas fritas”, determinando que los peróxidos fueron los más relevantes, en donde influyó el tiempo y la temperatura de cocción de los aceites (Astudillo, 2018, pp.10-38).

En el estudio “Evaluación del aceite vegetal usado domestico de la ciudad de Riobamba” se realizaron 394 encuestas en los hogares para establecer hábitos de consumo y manejo de los aceites, determinando que en los hogares riobambeños se utilizan mezclas de aceites y grasas; dando lugar a características físico-químicas específicas, respecto a su manejo el 39,09% desecha el aceite cada dos frituras, y el 27,42% lo separa si lo considera sucio o se ha quemado, el 94,16% indican que a veces, rara vez o siempre queman el aceite, el 21,36% utilizo como alimento para animales, regaló, vendió o guardó el aceite usado (Guananga et al., 2018: pp.42-51). Este estudio nos da información sobre los aceites de frituras de la ciudad en donde se desarrolla la presente investigación, y aunque enfoca el tema hacia los hogares, su información sobre el tipo de aceites, mezclas, reusó, quema y destino final de los aceites usados, se estima que en los negocios de comida rápida el porcentaje de reutilización de los AVU sea mayor, puesto que en los hogares hay un cuidado personalizado por la calidad de los alimentos preparados.

Se estipuló la “Incidencia de microorganismos patógenos (*Escherichia coli*) en la contaminación microbiológica de comidas preparadas en el mercado central de la ciudad de Ambato-Ecuador”, estableciendo la presencia de microorganismos patógenos debido a las malas prácticas de higiene (Baño, 2014, pp.4-59).

Todos estos estudios nos van ayudar en nuestra investigación, ya que nos dan información muy importante en cuanto al cambio que pueden sufrir químicamente los aceites, las características físicas que van a cambiar, los factores que pueden ocasionar presencia de microorganismos en el aceite vegetal usado, así como también las malas condiciones higiénico sanitarias; ocasionando daños a la salud del consumidor.

Planteamiento del problema

Enunciado del problema

Las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen un importante problema de salud pública a nivel mundial, son de perfil infeccioso o tóxico causadas por agentes patógenos, virus, parásitos, hongos, bacterias o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o por los

alimentos contaminados (Ramos, 2019, p.3).

La (OMS, 2020a, párr.2), informa que las infecciones alimentarias pueden ser obtenidas por la población en general, todos los seres humanos podemos estar en condiciones de contraer las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), se estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de individuos, 1 de cada 10 personas se enferman por ingerir alimentos contaminados, de los cuales 420.000 mueren por esta causa. Las infecciones causadas por alimentos contaminados tienen mayor impacto en los niños, ancianos, mujeres embarazadas e inmunodeprimidos, por ser vulnerables son considerados el grupo de riesgo frente a las (ETA) (ANMAT, 2015, párr.3). Mientras (OMS, 2015, párr.3), indica que 125.000 niños menores de 5 años mueren por enfermedades de transmisión alimentaria cada año a nivel mundial.

Los alimentos juegan un papel significativo en la transmisión de enfermedades de origen alimentario, las cuales constituyen un serio problema de salud pública y pérdidas económicas. Estas enfermedades se encuentran entre las primeras causas de morbilidad tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (OMS, 2015, párr.4); causando infecciones por microorganismos como *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella spp*, *Mesófilos aerobios*, *Coliformes totales* y *Coliformes fecales* en alimentos expendidos en las calles, así como una tendencia al aumento gradual de las cantidades de bacterias en esos alimentos durante el almacenamiento y el proceso de venta (Campuzano et al., 2015: pp.82-85); los compuestos tóxicos formados durante la fritura afectan la calidad de los alimentos y la salud del consumidor, ya que puede darse reacciones de deterioro del aceite como hidrólisis, oxidación y las alteraciones causadas por las altas temperaturas en donde las reacciones de oxidación son las más relacionadas con la salud y la nutrición (Rivera et al., 2014: pp.160-162); de allí la importancia de analizar los parámetros físicos, químicos y bacteriológicos.

El consumo de comida rápida va en incremento tanto a nivel nacional como local, siendo las frituras de mayor demanda y su mayor consumidor es la población juvenil, investigaciones sobre los cambios de los aceites en los procesos de fritura y la manipulación revelan que estos se deterioran e inciden en la salud del consumidor con el desarrollo de diversas enfermedades dependiendo de edad, frecuencia de consumo, número de reutilización y detrimento de los aceites y grasas empleados en las frituras (Ciappini et al., 2016: pp.153-161), por lo que la calidad de los aceites vegetales usados (avu) adquiere relevancia, en base a esta necesidad identificada se propone el “Estudio de la calidad de aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida de Riobamba y su incidencia en la salud”. La manifestación clínica más común de una enfermedad transmitida por los alimentos consiste en la aparición de síntomas gastrointestinales, pero estas enfermedades también pueden dar lugar a síntomas neurológicos, inmunológicos y de otro tipo. La ingestión de alimentos contaminados puede

provocar una insuficiencia multiorgánica, incluso cáncer, por lo que constituye una carga considerable de discapacidad, así como de mortalidad (OMS, 2015). Para el sistema de salud público estas ETAs representan un gasto económico representativo, ya que forman parte del segundo o tercer motivo de consulta en servicios sanitarios de todo tipo, debido al consumo de alimentos contaminados por microorganismos potencialmente patógenos (MSP, 2020)(Perez et al., 2017: p. 26).

Justificación

En la actualidad el enfoque preventivo de los riesgos de origen alimentario es la estrategia de la salud pública, por ello es de vital importancia realizar estudios que determinen los riesgos que pueden ser causales de enfermedades de transmisión alimentaria e incluso pueden desencadenar patologías más complicadas de tratar y acabar en la muerte (OMS, 2020a). Además en estudios realizados se han encontrado que los aceites poliinsaturados como colza, soya, girasol y maíz se degradan fácilmente a compuestos tóxicos y cancerígenos como las acrilamidas, cuando se calientan (Montes et al., 2016: p.87). Diversos problemas de salud se asocian con el consumo de alimentos fritos (Gay, 2018, p.120), los cuales son preferidos por los consumidores por la rapidez en satisfacer sus necesidades alimenticias y porque estos productos son ofertados en diferentes negocios. En los hogares riobambeños el 39,09 % desecha el aceite cada dos frituras, y el 27,42 % lo separa si lo considera sucio o se ha quemado (Guananga et al., 2018: p.44), se estima que en los negocios de comida rápida el porcentaje de reutilización de los AVUs sea mayor.

No existen estudios sobre este tema enfocado a los negocios de comida rápida, y considerando el alto porcentaje (54%) de consumidores en Riobamba (Monar, 2014. p. 3) y su posible implicación en enfermedades, se detecta la necesidad de conocer las condiciones en las que llegan al consumidor estos alimentos. Desarrollar esta investigación proporcionara evidencia científica sobre: la calidad de estos aceites, tipos de aceites, manejo del proceso y los peligros que conllevan para la salud los aceites reutilizados de acuerdo a los niveles tóxicos y nocivos detectados; hasta el momento no hay una ordenanza de manejo de los AVU, por lo que estos resultados serán una herramienta para el Gobierno Autónomo Descentralizado (GAD) de Riobamba para implementar mejoras o cambios en el control de los alimentos de comida rápida que se ofertan en la ciudad, en beneficio tanto del expendedor como del consumidor. Además, este estudio será una guía para investigaciones en la temática, y contribuirá con soluciones.

Para determinar el manejo que se dan a los aceites y grasas empleadas en los negocios de comida rápida en la Ciudad de Riobamba se realizaran encuestas para establecer la calidad de los aceites vegetales utilizados; se analizaran los parámetros físico-químicos y bacteriológicos de las muestras

tomadas de forma aleatoria in situ, luego se repetirán estos análisis en 15 días a partir de su recolección con el fin de conocer los cambios de calidad a través del tiempo ya que este tipo de aceites tienen un alto porcentaje de reutilización con diferentes fines que son parte de la alimentación humana e inciden directamente en su salud y calidad de vida.

La venta de comida rápida es una importante actividad económica en la ciudad de Riobamba y estos negocios constituyen el 41% (Vallejo et al., 2020: p.373) del empleo informal, así que, ofertar sus frituras mejor preparadas también asegura su actividad económica.

El estudio es viable puesto que se desarrollará en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en la Facultad de Ciencias en los laboratorios de análisis microbiológico y físico-químico. Además, se contará con los permisos municipales para acceder a información y muestras de los negocios de comida rápida en las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la relación existente entre los parámetros: físico-químicos, bacteriológicos, riesgos para salud y manejo de los aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida en las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba.

Objetivos Específicos

- Identificar las condiciones higiénicas sanitarias de expendio de comida rápida a través de un check list de buenas prácticas de higiene, determinando los puntos críticos de contaminación para que se tome las acciones correctivas del caso.
- Analizar la calidad físico-química y bacteriológica de los aceites vegetales utilizados en los negocios de comida rápida de las parroquias del Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes en Riobamba, mediante pruebas cualitativas y cuantitativas.
- Evaluar la resistencia y sensibilidad de bacterias patógenas y el impacto que estas generan en la salud del consumidor.
- Establecer la relación entre las variables de estudio

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Aceites Vegetales

Los aceites vegetales son productos naturales en estado líquido a temperatura de 20°C (Delgado, 2019, p.15), los cuales son obtenidos a partir de semillas, frutos o nueces, mediante la aplicación de métodos como prensado, extracción con solventes o combinación de los mismos (Nour et al., 2018: pp.4-5).

Los aceites (entendidos como lípidos compuestos mayoritariamente por acilglicéridos) son alimentos fundamentalmente calóricos, componen depósitos muy concentrados de energía puesto que se encuentran en estado reducido y se almacenan en forma prácticamente anhidra. El rendimiento de la oxidación completa es de alrededor de 9 kcal/g de estos lípidos, en comparación con las 4 kcal/g que suministran los carbohidratos y las proteínas. Debido a su carácter hidrófobo, los lípidos prácticamente no tienen agua asociada por lo que pueden almacenar mayor cantidad de energía en menor peso de material. En consecuencia, 1 g de lípido anhidro acumula más de seis veces la misma energía que 1 g de glucógeno hidratado (Martínez y Maestri, 2016: pp.11-12).

El valor nutricional mencionado puede variar de un aceite a otro, dependiendo de la concentración de ácidos grasos presentes, y de la digestibilidad, es decir la proporción de los ácidos grasos que son absorbidos en forma eficiente luego de la digestión (Martínez y Maestri, 2016: p.17).

En los aceites vegetales, y en proporción mucho menor a la de los triglicéridos, se encuentran ácidos grasos libres (no esterificados), fosfátidos (habitualmente en la forma de fosfoglicéridos), ceras, y un residuo conocido como material insaponificable en el que se incluyen esteroides, hidrocarburos, pigmentos y vitaminas liposolubles como los carotenoides y tocoferoles, entre otras sustancias (Martínez y Maestri, 2016: p.17).

Tabla 1-1: Composición General de Aceites Vegetales (%).

Acilglicéridos(principalmente triglicéridos)	95-98
Fosfoglicéridos	0,1-2
Ácidos grasos libres	0,1-2
Material insaponificable (Esteroides, hidrocarburos, pigmentos, tocoferoles, etc.)	0.2-2

Fuente: Martínez y Maestri, 2016: p.17.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Los aceites vegetales poseen un contenido ampliamente mayor de acilglicéridos (ésteres de ácidos grasos con el glicerol). Los más comunes y abundantes son los triglicéridos o triacilglicéridos, en los cuales los tres grupos hidroxilo del glicerol se hallan esterificados con ácidos grasos (Martínez y Maestri, 2016: p.17).

1.1.1. Composición de los aceites vegetales

1.1.1. Ácidos Grasos

Se define un ácido graso como una cadena hidrocarbonada, la cual posee en uno de sus extremos un grupo funcional conocido como ácido carboxílico -COOH (Delgado, 2019, p.13).

Los ácidos grasos se pueden catalogar según las insaturaciones presentes en la cadena carbonada y su longitud:

- a) **Ácidos grasos saturados (AGS):** Son ácidos grasos que no tienen ningún tipo de enlaces dobles, dentro de este grupo se encuentran el ácido láurico (AL), ácido mirístico (AM), ácido palmítico (AP) y ácido esteárico (AE) (Delgado, 2019, p.14).
- b) **Ácidos grasos insaturados:** Son aquellos ácidos grasos que tienen uno o más dobles enlaces en la cadena carbonada. Debido a sus insaturaciones, estos compuestos son propensos a la saturación y a transformaciones oxidativas y de isomerización ya que tienen una gran reactividad química. En los aceites vegetales y marinos son muy abundantes; su temperatura de fusión reduce con el aumento de los dobles enlaces, y siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los que poseen una insaturación se llaman monoenoicos o monoinsaturados, y a los que tienen más de una se les denomina polienoicos o poliinsaturados (Badui, 2010, pp.249-250).
- c) **Ácidos grasos poliinsaturados (AGP):** Tienen dos o más dobles enlaces, los cuales pueden reaccionar con el oxígeno del aire aumentando el riesgo de enranciamiento de la grasa, son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, los pescados y algunos alimentos de origen vegetal. En forma natural, los AGP tienen sus dobles enlaces como no conjugados, es decir, están separadas por un grupo metileno, como ocurre con los ácidos linoleico, linolénico y araquidónico; lo contrario a esto es la conjugación, en la que no existe dicho metileno de por medio (Badui, 2006, p.251). En el aceite girasol se encuentra en cantidades consideradas el ácido linoleico (C18:2). Desde el punto de vista nutricional son importantes los ácidos grasos poliinsaturados de las familias omega-3 (n-3) y omega-6 (n-6), en donde el primer doble enlace está ubicado junto al C3 (ácidos grasos

omega-3) o junto C 6 (ácidos grasos omega-6) contando desde el metilo terminal de la cadena (Carbajal, 2013, p.2). Los componentes de estas familias pueden tener diferente número de dobles enlaces y diferente número de átomos de carbono, pero el primer doble enlace siempre está en el C 3 o en el C 6; algunos de ellos son esenciales para el hombre como es el ácido linoleico (C18:2 n-6) y alfa-linoleico (C18:3 n-3) (Carbajal, 2013, p.2).

- d) **Ácidos grasos monoinsaturados (AGM):** Se caracterizan por tener un doble enlace entre sus átomos de carbono principalmente entre el C9 y C10 (Carbajal, 2013, p.2); lo cual al ser insaturado son capaces de fijar más hidrógeno. El consumo de grasas monoinsaturadas debe ser entre el 13 y el 23 %, el representante de esta familia es el ácido oleico, presente en el aceite de oliva (54 a 80%) (Medina, 2010, pp.1-2). Siendo este el aceite más adecuado para las frituras por dos motivos: Este tipo de aceite es el más resistente a la descomposición química que provocan las altas temperaturas. Es menos absorbido por la superficie de los alimentos que se fríen, ocasionando el aumento de la digestibilidad de éstos y disminuye su valor calórico final (Medina, 2010, p.2).

1.1.1.2. Acilgliceroles

Son ésteres de ácidos grasos, que se adhieren al esqueleto del glicerol en número de uno, dos o tres para originar mono, di y tri-acilglicerol o triglicérido, respectivamente. Los triacilgliceroles son los más abundantes en los alimentos; la naturaleza y la localización de los ácidos grasos sobre la molécula de glicerol determinan su respuesta biológica (FESNAD, 2014, p.4).

1.1.1.3. Fosfoglicéridos

Están conformados por una estructura de glicerol, dos cadenas de ácidos grasos y un alcohol fosforilado.

Los fosfoglicéridos poseen una cabeza polar y dos colas largas hidrocarbonadas, con características hidrofílicas e hidrofóbicas, respectivamente. Es decir son anfifílicas y pueden formar agregados moleculares cuando se encuentran en medio acuoso, exponiendo las zonas polares. Debido a esta característica, los fosfoglicéridos tienen propiedades emulsionantes y se utilizan con esta finalidad en la industria alimenticia (Martínez y Maestri, 2016: p.22).

1.1.2. Clasificación

Los aceites vegetales se dividen en cuatro grupos:

- a) Los aceites saturados: Con índices de yodo de 5-50
 - Laúricos: copra, palmito, babasú (etc.)
 - Palmíticos: palma
 - Esteáricos: karité
- b) Los aceites mono-insaturados: Con índices de yodo de 50-100
 - Oleicos: aceituna, cacahuete, colza, sésamo.
- c) Los aceites bi-insaturados: índices de yodo de 100-150
 - Linoleico: girasol, algodón, maíz, soja, etc.
- d) Los aceites tri-insaturados o poli-insaturados: Con índices de yodo > 150

En el mercado ecuatoriano existen tres tipos de aceites: los monoinsaturados, los poliinsaturados y los saturados; los ácidos grasos insaturados son una alternativa más sana en la dieta diaria, reemplazando a los saturados; tenemos como ejemplo el aceite oliva el cual es un aceite mono-insaturado, el de girasol, maíz y soja son poliinsaturados. Los aceites de palma y coco son saturados. El aceite de coco, habitualmente no se usa en el país; pero el de palma si, ya que es uno de los más económicos y se halla presente en varios de los aceites que se venden como mezclados (Schettini, 2013, p.19).

1.2. El aceite vegetal usado (AVUs)

Los AVUs proceden de toda entidad que genere, suministre, produzca, fabrique aceites comestibles que hayan pasado por un proceso térmico de desnaturalización en su utilización, por lo que las características físico-químicas no sean las mismas del producto de origen. Los aceites reutilizados por muchas ocasiones son menos eficientes al momento de freír con niveles elevados de hidrólisis y oxidación, de manera que el alimento absorbe mayor grasa, además de haber un exceso de cocción en la zona externa del producto; este impacto en el producto, comienza a los 15 minutos de iniciada la fritura y se extiende hasta las 10 o más horas de fritura (Paz, 2018, p.24).

1.3. Proceso de fritura

El proceso de fritura de los alimentos es definida como la cocción a temperaturas elevadas (175-185 °C) del aceite o grasa caliente, donde el aceite ejerce como transmisor del calor produciendo un calentamiento uniforme y rápido en el alimento (Suaterna, 2009, p.40).

El aceite pasa por cinco fases a lo largo de su período de utilización en el proceso de freído (Arango, 2015, p.18):

- a) Fase 1 (aceite inicial): En esta fase no presenta productos de degradación, ni contaminantes ya que el aceite es nuevo por lo tanto; tiene poco poder surfactante y poca viscosidad; lo que hace que el aceite no transfiera adecuadamente el calor, y no ingresa al alimento; en esta fase se considera de 0 horas el tiempo de fritura (Arango, 2015, p.18).
- b) Fase 2 (aceite fresco): Debido al proceso inicial de hidrólisis se forman mono y diglicéridos que aumentan sutilmente el poder surfactante del aceite, la acidez del aceite empieza a crecer, esta etapa empieza con el proceso de fritura y dura aproximadamente 5 minutos (Arango, 2015, p.18).
- c) Fase 3 (aceite óptimo): Para un correcto contacto entre el aceite y alimento la cantidad de sustancias emulsionantes es importante ya que la transferencia de calor va hacer correcta, así como la absorción del aceite. Se empieza a formar espuma que beneficia a la oxidación, el inicio de esta etapa se da entre los 5 minutos y 15 minutos (Arango, 2015, p.18).
- d) Fase 4 (aceite degradado): En esta etapa aparecen sustancias contaminantes, se elevan los niveles de hidrólisis y oxidación, el alimento absorbe una gran cantidad de aceite y existe un exceso de cocción en la zona externa del alimento. Esta etapa empieza a los 15 minutos de iniciada la fritura y continúa hasta cerca de las 10 horas de fritura (Arango, 2015, p.18).
- e) Fase 5 (aceite descartado): Aquí se agravan los problemas de la fase anterior, en esta fase aparecen sabores y olores anómalos, también disminuye el punto de humo. Este proceso comienza a partir de las 10 horas de fritura continua (Arango, 2015, p.18).

1.3.1. Mecanismos generales de la fritura

Existen dos mecanismos que se basan en la cantidad de aceite utilizado uno de estos es la fritura superficial, la cual se realiza en sartenes y recipientes de poca profundidad y la cantidad de aceite es escaso; La fritura por inmersión o profunda es un proceso de cocción que involucra la transferencia directa de calor del aceite caliente al alimento frío, siendo esta una técnica rápida en donde el alimento se sumerge completamente en el aceite. Cuando el alimento se introduce en el aceite caliente, ocurren varios fenómenos (Arango, 2015, p.16):

- a) El alimento absorbe grasa durante el proceso, normalmente de 4 a 30% del peso final del alimento frito es grasa absorbida. En la mayoría de los alimentos, la mayor proporción tiende almacenarse cerca de la superficie del alimento; esta grasa añade una textura deseable en el alimento y le proporciona una calidad comestible placentera.
- b) La humedad presente en el alimento empieza a crear vapor; que se elimina mediante un burbujeo el cual va a descender gradualmente a medida que el alimento va friéndose.
- c) Se produce un aspecto dorado o caramelizado en la superficie del alimento.

- d) Se origina cambios en la grasa de fritura a medida que se va utilizando.
- e) El calor continúa transfiriéndose, incluso después que el alimento es freído y retirado del recipiente.

1.3.2. Cambios físicos y químicos en el aceite de fritura

Los aceites de fritura sufren cambios físico-químicos los cuales reducen su valor nutritivo y producen olores y sabores indeseables en los alimentos freídos en ellos. El deterioro del aceite depende de varios factores: el tipo de proceso de freído, la temperatura, la pausa entre enfriar y calentar, el grado de insaturación del aceite utilizado, la luz, el alimento, el mantenimiento del equipo de freído y el uso de filtros (Ayala, 2011, p.13). Los cambios en el aceite durante el proceso de fritura más importantes son:

- a) **Formación del color:** Los materiales extraídos reaccionan con el aceite y causan el oscurecimiento del mismo, estos son provenientes de todos los alimentos que se fríen los cuales se van almacenando en el aceite durante el proceso de fritura (Arango, 2015, p.17).
- b) **Hidrólisis:** Es la reacción del agua del alimento con la grasa de fritura para dar como resultado ácidos grasos libres. La proporción de hidrólisis o ácidos grasos libres formados va a depender de factores como la cantidad de agua liberada en el aceite, temperatura del aceite de fritura, la velocidad de renovación del aceite, el número de ciclos de calentamiento y enfriamiento de los aceites, a mayor cantidad de partículas quemadas procedentes del alimento y mayor desarrollo de ácidos grasos libres (Arango, 2015, p.17). El vapor formado en el proceso de fritura favorece la hidrólisis de los triacilglicéridos, la liberación de ácidos grasos, mono, diacilglicéridos y de glicerina; si el aceite es laúrico (palmiste), se forman jabones y si los AGL son de cadena larga, actúan como espumantes y solubilizan los metales, facilitando así la oxidación de los insaturados (Badui, 2010, p.257).
- c) **Lipólisis o rancidez hidrolítica:** La lipólisis es catalizada por lipasas, por las altas temperaturas utilizadas en presencia de agua, generan la hidrólisis del enlace éster de los triglicéridos y fosfolípidos, formando ácidos grasos libres, los cuales son mucho más sensibles a la autoxidación que en forma esterificada (Badui, 2010, p.257).
- d) **Oxidación:** El oxígeno del aire al entrar en contacto con la grasa de la freidora produce una reacción de oxidación; varios de los productos de la reacción son eliminados de la freidora por el vapor que se desarrolla durante la fritura; pero otros van a quedarse en el aceite y pueden acelerar la oxidación posterior de la grasa. Este proceso, es relativamente lento, sin embargo, a temperaturas elevadas de fritura la oxidación se produce de manera más rápida (Arango, 2015, p.17).

La oxidación ocurre cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de la reducción.

Esta reacción se ve favorecida con el incremento del índice de yodo, como el esteárico, oleico, linoleico y linolénico, que absorben oxígeno; esto indica que los compuestos más insaturados necesitan menos tiempo para absorber la misma cantidad de gas y, por consiguiente, se oxidan más rápido.

- **Volátiles:** Las reacciones oxidativas que implican la formación y descomposición de hiperóxidos dan compuestos como aldehídos saturados e insaturados, cetonas, hidrocarburos, lactonas, alcoholes, ácidos y ésteres. La cantidad de productos volátiles varía considerablemente, dependiendo del tipo de aceite, el alimento y el tratamiento térmico (Arango, 2015, p.17).
 - **Compuestos no poliméricos de volatilidad moderada:** Estos compuestos se producen a lo largo de varias rutas oxidativas, en las que participan los radicales alcoxi (por ejemplo, hidroxilo y epoxiácidos) (Fennema, 2000, p.320).
- e) **Polimerización:** Cuando los aceites y grasas sufren calentamiento en el proceso de fritura, se forman varios productos en descomposición tales como peróxidos, monoglicéridos, diglicéridos, cetonas, aldehídos y ácidos carboxílicos. La polimerización también puede tener como resultado la formación de espuma; con el desarrollo de polímeros de elevado peso molecular, el aceite de fritura tendrá diferentes ácidos grasos de longitudes de cadenas, esta diferencia en las longitudes de cadena ocasiona la formación de espumas en los aceites o grasa de fritura (Arango, 2015, p.18).
- **Dímeros y polímeros de ácido y glicéridos:** Estos compuestos se forman por combinaciones térmicas y oxidativas de radicales libre. La polimerización produce un crecimiento sustancial de la viscosidad del aceite fritura (Fennema, 2000, p.320).

Tabla 2-1: Factores que influyen en la oxidación de lípidos

Precusores	Inhibidores
Temperaturas altas	Refrigeración
Metales, Cu, Fe, etcétera	Secuestradores
Peróxidos de grasas oxidadas	Antioxidantes
Lipoxidasas	Escaldado
Presión de oxígeno	Gas inerte o vacío
Luz UV, azul	Empaque opaco
Poliinsaturación	Hidrogenación de ácidos insaturados

Fuente: Badui, 2010, p.259.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

1.3.3. Parámetros de calidad del aceite o grasa de fritura

Los compuestos tóxicos desarrollados durante la fritura afectan la calidad sensorial de los alimentos pudiendo causar daños en la salud del consumidor. Existen otros compuestos relacionados con la calidad nutricional del aceite, que pueden presentarse en el aceite nuevo a ciertas concentraciones y modificarse durante el proceso de fritura, que pueden ocasionar riesgos para la salud por su consumo; es el caso de los ácidos grasos trans, que pueden aumentar, mientras que algunos compuestos nutricionales, como los compuestos fenólicos y las vitaminas liposolubles pueden disminuir significativamente (Suaterna, 2009, p.42).

Para establecer la calidad de los aceites de fritura se encuentran los siguientes parámetros:

- a) **Compuestos polares:** Se denominan así a todos los subproductos que se forman cuando un triglicérido es transformado por el proceso de fritura. Su formación se relaciona con factores como el tipo de aceite utilizado, el tiempo de utilización, el sobrecalentamiento del aceite; fritura discontinua (calentar-freír, y viceversa), la fritura combinada de diferentes clases de alimentos (alimentos de origen vegetal con alimentos de origen animal); todos estos son factores críticos en restaurantes, negocios de comidas rápidas y en los hogares (Suaterna, 2009, pp.42-43).
- b) **Polímeros y monómeros de ácidos grasos cíclicos:** La medición de monómeros cíclicos de ácidos grasos es otro criterio utilizado para determinar el deterioro del aceite; compuestos que a diferencia de los polares, han indicado ser más precisos acerca del deterioro del aceite debido a que muchas veces estos compuestos ya han excedido el límite máximo sin que los compuestos polares hayan alcanzado el nivel máximo de formación y su rápida absorción por la mucosa intestinal los convierte en compuestos de mayor toxicidad (Suaterna, 2009, pp.44-45).
- c) **Ácidos grasos trans (TFA):** Son ácidos grasos insaturados que tienen al menos un doble enlace en configuración trans, se forman en grasas y aceites de fritura como resultado de una isomerización geométrica. Debido a que aumentan el punto de humo de los aceites estos ácidos grasos son formados intencionalmente, cuando se compara con el mismo ácido graso en forma cis o su forma saturada correspondiente, mejorando así sus propiedades industriales (Valenzuela, 2008, p.2). Sin embargo, el consumo de estos ácidos grasos, se ha relacionado con un aumento en el riesgo de enfermedad cardiovascular y otras enfermedades (Badui, 2006, p.47).
- d) **Ácidos grasos:** El perfil de ácidos grasos sufren cambios durante el proceso de fritura de los aceites principalmente en los insaturados, los cuales tienden a reducir, mientras que los ácidos grasos saturados se mantienen constantes o aumentan (Suaterna, 2009, p.47-48).
- e) **Antioxidantes en los aceites:** En busca de brindar mayor estabilidad al aceite durante la fritura uno de los mecanismos ha sido la adición de antioxidantes naturales a los aceites comerciales. No

obstante, algunas investigaciones reportan pérdidas constantes con el tiempo de fritura, la adición de una mezcla de tocoferoles a los aceites ha sido utilizada para optimizar la actividad antioxidante en la fritura, debido a que existe resistencia a la termo oxidación en aceites de 1 a 2 h de fritura, pero al término de 15 h algunos tipos de tocoferoles ya no se detectan (Quiles et al., 2002, pp.465-466).

Las condiciones de almacenamiento también son un factor que incide en la calidad, determinan el tiempo de vida útil; en el almacenamiento se debe controlar especialmente la temperatura, el tiempo y el tipo de empaque utilizado; los ácidos grasos insaturados tienden a disminuir en los tres primeros meses de almacenamiento y desde el sexto mes se presenta un aumento en los saturados. El recipiente de plástico tradicional no es el más apropiado para comercializar y almacenar aceite, es el que tiene menor estabilidad y provoca mayor disminución de los compuestos fenólicos (Suaterna, 2009, p.49).

1.4. Análisis de calidad de aceites vegetales

1.4.1. Análisis físico-químicos

Densidad: Para un aceite determinado cuando esta puro y fresco esta es una constante que no varía mucho, puede ser afectada por la rancidez, edad y cualquier procedimiento que se le haga al aceite. Los valores obtenidos se deben a diferentes ácidos grasos presentes, el rango de los aceites vegetales es de 0,88 y 0,99; el cual va a aumentar cuando se incrementa el peso molecular de los ácidos combinados (Bernal, 2014, p.141).

Índice de acidez: Son los miligramos de hidróxido de potasio necesarios para saturar los ácidos grasos libres contenidos en un gramo de muestra. se puede expresar como el porcentaje de ácido oleico que es el resultado de la titulación con álcali en presencia de fenolftaleína que va desde 0.2-1,5 (Bernal, 2014, p.144).

Índice de peróxidos: Permite detectar la oxidación antes de que se note organolépticamente, indica el estado de oxidación inicial del aceite en miliequilaventes de oxígeno activo por kilo de grasa (Bernal, 2014, p.158); en donde menor que 10 meqq/kg indica que no hay rancidez, mayor que 10 inicia el periodo de inducción, de 20 a 40 meqq/kg indica una rancidez notable (Flores, 2011).

Índice de saponificación: Es el número de miligramos de KOH necesarios para saponificar un gramo de aceite o grasa, los aceites o grasas que se consideran, como ésteres de glicéridos de ácidos grasos, pueden hidrolizarse en glicerol y ácidos grasos o a su vez descomponerse por bases en glicerol y sales de ácidos grasos. Una reacción característica es la llamada saponificación, las diferencias encontradas en el valor de saponificación se deben a que los ésteres de los ácidos de bajo pesos equivalentes,

necesitan más cantidad de base para la saponificación que el peso en gramos de aquellos de más alto peso equivalente (Bernal, 2014, p.145).

Índice de yodo: El índice de yodo es una medida del grado de instauración de los componentes, es directamente proporcional al número de dobles enlaces por unidad de grasa, utilizándose para evidenciar la identidad y pureza de los aceites o grasas. Simultáneamente se determinan los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados y también se determinan las sustancias acompañantes insaturadas, por ejemplo, los esteroides (Bernal, 2014, p.148).

Punto de humo: Es la temperatura en la que se originan compuestos de descomposición, es un indicador de componentes no triglicéridos como AG libres, monoglicéridos, diglicéridos, glicerol y hexano; disminuye con el tiempo de fritura y presenta una excelente correlación con la acidez libre, aunque no tanto con el porcentaje de compuestos polares (Lázaro, 2018, pp.29). La presencia de 1% de estos compuestos induce la reducción de 230 a 160°C en la temperatura en un aceite para freír (Badui, 2010, p.265).

1.4.2. Análisis microbiológicos

Los microorganismos son bacterias, virus, hongos, parásitos por sus características y tamaño se pueden observar a través de un microscopio.

Una de las clasificaciones de las bacteria es *Salmonella spp*, *Pseudomonas*, *Chromobacterium spp*, *Aerobios mesófilos*, *Staphylococcus aureus*.

1.4.2.1. Tinción Gram

Durante la década de 1880 el médico danés Hans Christian Gram, desarrolló una de las técnicas bacteriológicas más importantes hasta la actualidad, al observar tejidos pulmonares de pacientes con neumonía, de modo que, ahora es conocida como la “Tinción Gram” que diferencia a las bacterias en dos grandes grupos de acuerdo a su coloración (Rodríguez and Arenas, 2018, p. 166).

A las que se teñían de color azul-violeta las denominó Gram positivas, mientras que a las que toman una coloración roja las llamó Gram negativas. Estas bacterias se diferencian de acuerdo a la estructura de sus paredes celulares y cuyas características se observan en la tabla 3-1 a continuación (Rodríguez y Arenas, 2018: pp.166-167):

Tabla 3-1: Diferencias entre bacterias Gram positivas y negativas

Características	Bacterias Gram Positivas	Bacterias Gram Negativas
Color de la tinción	Violeta	Rojo
Pared celular	Gruesa	Delgada
Presencia de lipopolisacáridos en la pared celular	Ausente	Presente
Presencia de ácidos lipoproteicos y teicoicos en la pared celular	Presente	Ausente

Fuente: Rodríguez y Arenas, 2018: pp.166-167.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

También las bacterias se clasifican en tres grupos, según su incidencia en los alimentos: el primer grupo corresponde a los indicadores de alteración (asociados a la vida útil y alteración del producto); el segundo grupo al indicador de higiene (microorganismos no patógenos), y el tercer grupo a los patógenos, que corresponde a cualquier microorganismo que puede causar enfermedades o iniciar un proceso patológico (Ramos, 2019, p.12).

- a) ***Aerobios mesófilos:*** En el grupo de aerobios mesófilos se incluyen a todos los microorganismos, estos se pueden desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C, con una óptima de crecimiento entre 30°C y 40°C. El recuento de aerobios mesófilos estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos pueden estar presentes microorganismos patógenos como no patógenos. Reflejan la calidad sanitaria de los productos, un recuento aerobios mesófilos bajo no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, así como no significa presencia de flora patógena un recuento elevado, los recuentos elevados puede significar una incorrecta manipulación durante el proceso de elaboración, excesiva contaminación de la materia prima, y la inmediata alteración del producto (ANMAT, 2014, p. 5).
- b) ***Coliformes totales:*** Son Bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, con la producción de ácido y gas fermentan la lactosa a 35°C +/- 2°C, catalasa positiva, en su gran mayoría son móviles por medio de flagelos peritricos, estos son indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Son considerados como un indicador de calidad higiénica de los alimentos y son indicadores de contaminación post proceso térmico, pues estos microorganismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico Las bacterias de este género se localizan principalmente en el intestino de las personas y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, también se encuentra distribuidas abundantemente en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales (Campuzano et al., 2015: p.83).
- c) ***Staphylococcus aureus:*** Son cocos Gram-positivos, anaerobios facultativos, su temperatura óptima de crecimiento es 37°C, tienen una enzima que coagula el plasma sanguíneo es decir son

coagulasa positiva (Seija, 2015, p.271). Alrededor de un 20% de la población es portadora permanente de este microorganismo en las mucosas nasales, puede colonizar otras áreas como el tracto intestinal y la piel, con frecuencia puede causar infección a través de una herida abierta durante el proceso de elaboración y manipulación de los alimentos. La intoxicación estafilocócica por alimentos es el resultado de la ingesta de alimentos contaminados con cepas de *Staphylococcus aureus* que producen enterotoxinas termoestables. Los productos implicados por lo general se contaminan por medio de un operario quien los procesa, con el subsiguiente desarrollo del microorganismo y la producción de la toxina. La aparición de los síntomas como náuseas, vómitos, espasmos abdominales y diarrea tiene lugar entre 2 y 4 horas después de la ingestión del alimento (ANMAT, 2014, párr.7).

- d) ***Staphylococcus epidermidis***: Es un coco Gram positivo, catalasa positiva, no exigentes, Forma esférica se agrupa en racimos, sensible a la novobiocina. Debe su nombre al carotenoide que produce, desarrollando colonias de color rosáceo, es estrictamente aerobio (Seija, 2006, p.266).
- e) ***Staphylococcus saprophyticus***: Es un coco Gram positivo, catalasa positiva, no exigentes, Forma esférica se agrupa en racimos, resistente a la novobiocina es estrictamente aerobio (Seija, 2006, p.267).
- f) ***Streptococcus viridans***: Cocos Gram positivos, que pueden ser o bien del tipo α -hemolítico, produciendo una coloración verde en placas agar sangre, o bien del tipo no hemolítico. Son habitantes normales de la mucosa oral, respiratoria y gastrointestinal de los mamíferos y del tracto genital en la mujer, donde juegan un papel importante en la prevención de la colonización de patógenos potenciales (Ecured, 2020, párr.3).
- g) ***Escherichia coli***: Pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos cortos Gram-negativos, anaerobios facultativos, temperatura óptima de crecimiento es 37°C, para su desarrollo un pH casi neutro es el mejor, la mayoría de las cepas son fermentadoras de lactosa con producción de gas, catalasa positivo y oxidasa negativo, el tracto intestinal del hombre y de los animales es el hábitat idóneo de *Escherichia coli*, en un alimento la presencia de este microorganismo indica una contaminación directa o indirecta de origen fecal (Soto et al., 2016: pp.109-110).
- h) ***Salmonella spp***: El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son anaerobios facultativos, bacilos gram negativos de 0,7-1,5 x 2-5 micrometros, no formadores de esporas, son generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *S. gallinarum*). Fermentan glucosa, manitol y maltosa, pero no fermentan sacarosa ni lactosa. Estos son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos (ANMAT, 2011, pp. 1-3). La salmonelosis se identifica por la aparición violenta de fiebre, dolor abdominal, náusea, diarrea y a veces, vómitos, los

síntomas de la enfermedad comienzan a presentarse entre las 6 y 72 horas después de la ingesta de *Salmonella*, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días (OMS, 2018, párr.1).

- i) ***Pseudomonas spp***: Bacilos rectos o ligeramente curvados, Gram negativos, oxidasa positivos, aeróbicos estrictos aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. Algunos sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso se encuentran en suelo agua, en condiciones húmedas, pertenece a la familia enterobacteria, bacilo intracelular facultativo (Ruiz, 2021, párr.1).

Pseudomona fluorescens: Es un bacilo gran negativo, anaerobio, recto o ligeramente curvado pero no vibrioide, es saprofito. Se puede encontrar en suelo y agua (Ruiz, 2021, párr.3).

Pseudomona maltophilia: es una bacteria aerobia Gram negativa, tienen bacilos rectos o ligeramente curvado ampliamente difundida en el medio ambiente y patógeno humano oportunista multirresistente, especialmente del tracto respiratorio (Herrera, 2017, p.9).

Pseudomona aeruginosa: Es una bacteria Gram negativa, aerobio estricto y no formadora de esporas. Es común en aguas y suelos. Se aísla frecuentemente de superficies de trabajo de fábricas y, ocasionalmente de la piel y mucosas respiratorias de las personas y animales sanos. Se considera una bacteria contaminante habitual de productos vegetales frescos, leche cruda, carne y agua (Ruiz, 2021, párr.4).

- j) ***Chromobacteria spp***: Es una Bacilo Gram negativo, anaerobia facultativa con forma de cocobacilo, forma parte de la microbiota normal del agua y suelo, produce colonias convexas bajas lisas con un brillo metálico de color violeta oscuro (Herrera, 2005, p.5).

1.5. Medios de cultivo

Un medio de cultivo se define como el conjunto de factores y nutrientes que crean condiciones necesarias para el crecimiento, metabolismo y desarrollo de microorganismos. Las sustancias alimenticias son creadas artificialmente en laboratorios, tomando en cuenta que dichos medios deben tener las características y composición similar a los líquidos orgánicos del cuerpo humano (Barrero, 2017, p.15). A continuación, en la tabla 4-1 se indican los diferentes tipos de medios de cultivo.

Tabla 4-1: Tipos de medios de cultivo

Medios de cultivo	Descripción
Generales	Permiten el crecimiento de una extensa variedad de microorganismos.

De enriquecimiento	Favorecen el crecimiento de determinados microorganismos sin inhibir totalmente a los demás.
Selectivos	Favorecen el crecimiento selectivo de determinados microorganismos, inhibiendo completamente el desarrollo de los demás.
Diferenciales	Estos medios de cultivo ponen de manifiesto las propiedades de determinados microorganismos.

Fuente: Barrero, 2017, p.41.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Por otro lado, los medios de cultivo también pueden clasificarse en función de su estado físico, como se observa en la tabla 5-1, a continuación.

Tabla 5-1: Medios de cultivo de acuerdo con su estado físico

Medios de cultivo	Descripción
Sólidos	Estos se caracterizan por usar un agente gelificante (agar – agar) que da solidez a los medios de cultivo, en donde el componente mayoritario es un polisacárido obtenido de algas marinas, el cual además es utilizado como nutriente (Barrero, 2017, p.41) Ejemplo: Agar SS.
Líquidos	Estos medios se caracterizan por ser líquidos enriquecidos que permiten el desarrollo de microorganismos que no pueden crecer fácilmente en medios sólidos, Ejemplo: Caldos de cultivo o aguas peptonadas (Barrero, 2017, p.41).
Semisólidos	Estos medios de cultivo se caracterizan por un menor contenido de agar, por lo que no se solidifican completamente a temperatura ambiente, se utilizan preferentemente como pruebas de bioquímicas, de motilidad, fermentación o selectividad de bacterias Ejemplo: Agar SIM (Barrero, 2017, p.41).

Fuente: Barrero, 2017, p.41.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

A continuación, en la tabla 6-1, se describen medios de cultivo específicos que pueden ser utilizados para el desarrollo de bacterias presentes en aceites vegetales.

Tabla 6-1: Medios de cultivos para identificación de bacterias en aceites vegetales.

Medio	Descripción	Modo de acción
Medios de cultivo líquidos		
Agua peptonada	Este medio de cultivo se utiliza como diluyente y enriquecedor para bacterias presentes en alimentos o muestras de interés sanitario (Laboratorio Britania, 2018, p.1).	Este medio es enriquecedor no selectivo, en el cual la peptona es el nutriente fundamental para el desarrollo microbiano, mientras que el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. Además, se utiliza como diluyente en reemplazo de suero fisiológico (Laboratorio Britania, 2018, p.1).

Caldo verde bilis brillante	Este medio de cultivo se utiliza para el enriquecimiento de <i>Escherichia coli</i> y coliformes fecales de diversas muestras que incluyen el agua (Laboratorio Britania, 2021c, p.1).	La bilis y el verde brillante resultan ser selectivos para el crecimiento de coliformes, mientras que inhiben el crecimiento de bacterias gran positivas y negativas. Por otro lado, la peptona aporta los nutrientes y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable (Laboratorio Britania, 2021c, p.1).
Medios de cultivo sólidos		
Agar eosina azul de metileno (EMB)	Medio de cultivo utilizado para aislar bacilos Gram negativos (familia <i>Enterobacteriaceae</i>) de rápido desarrollo y escasas exigencias nutricionales (Laboratorio Britania, 2020a, p.1).	Este medio se utiliza para aislar selectivamente a enterobacterias y otras especies de bacilos Gram negativos. La eosina y el azul de metileno inhiben el crecimiento de bacterias gran positivas, que son incapaces de utilizar la lactosa y sacarosa. <i>Escherichia coli</i> y <i>Citrobacter spp.</i> En este medio, presentan un característico brillo metálico. Por otro lado, las especies de <i>Cándida</i> forman colonias rosadas puntiformes (Laboratorio Britania, 2020a, p.1).
Agar Manitol Salado	Medio de cultivo usado para aislar y diferenciar de estafilococos (Laboratorio Britania, 2020b, p.1).	La fuente de carbono lo constituyen el extracto de carne, tripteína y peptona, mientras que el nitrógeno, vitaminas y minerales promueven el desarrollo. El cloruro de sodio se encuentra en concentraciones altas por lo que inhibe el desarrollo de otros microorganismos. El manitol es el carbohidrato fermentable y el rojo fenol el indicador de pH, el cual varía hacia amarillo cuando las bacterias fermentan el manitol y producen ácidos. Los estafilococos pueden o no fermentar el manitol (Laboratorio Britania, 2020b, p.1).
Agar PCA (Recuento en Placa Agar)	Medio de cultivo utilizado para el recuento de bacterias aeróbicas en agua y alimentos (Laboratorio Britania, 2021b, p.1).	Este medio contiene nutrientes que permiten el desarrollo bacteriano como glucosa, tripteína, mientras que el agar es el agente gelificante (Laboratorio Britania, 2021b, p.1).
Agar Salmonella shigella (SS)	Este medio de cultivo es selectivo para el aislamiento de <i>Salmonella spp.</i> y de algunas especies de <i>Shigella spp.</i> de alimentos, heces o muestras en donde se tenga sospecha de su presencia (Laboratorio Britania, 2020c, p.1).	La pluripeptona y el extracto de carne son fuente de nutrientes para el crecimiento microbiana, por otro lado, las sales biliares junto con el verde brillante interfieren en el desarrollo de bacterias gran positivas, el tiosulfato de sodio permite que se forme anhídrido sulfúrico. <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> no fermentan la lactosa y crecen adecuadamente en este medio de cultivo (Laboratorio Britania, 2020c, p.1).
Medios semisólidos (Pruebas bioquímicas)		

Prueba de catalasa	Esta prueba permite diferencias Streptococcus y Staphylococcus, debido a que los últimos, son capaces de descomponer el peróxido de hidrógeno (Olmos et al. 2011: p.32)	Las bacterias aerobias contienen catalasa que descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno cuya reacción se caracteriza por el desprendimiento de burbujas para resultados positivos (Olmos et al. 2011: p.32)
Prueba coagulasa	La coagulasa es una enzima capaz de coagular el plasma sanguíneo, sirviendo para la diferenciación de <i>Staphylococcus Aureus</i> de otros Staphylococcus (Olmos et al. 2011: p.35).	La coagulasa desnaturaliza la fibrina del plasma formando un coagulo, el que indicara un resultado positivo (Olmos et al. 2011: p.35).
Prueba de ureasa	La enzima urea presente en algunos organismos es capaz de catalizar la hidrolisis de la urea, para obtener dióxido de carbono y amoniaco como productos finales (Olmos et al. 2011: p.40).	La ureasa presente en el microorganismo es capaz de alcalinizar el medio y cambiarlo de color de acuerdo al indicador rojo fenol (Olmos et al. 2011: p.40).
Prueba Citrato de Simmons	Este medio es utilizado como una prueba bioquímica para diferencias bacilos gramnegativos entéricos, de muestras de alimentos, agua o laboratorio (Olmos et al. 2011: p.8).	Las bacterias capaces de utilizar el citrato sódico y el amonio como única fuente de nitrógeno, crecerán en este medio y lo cambiaran de color de verde a azul, debido al indicador de azul de bromotimol al aumentar el pH (Olmos et al. 2011: p.8)
Kligler Hierro agar	Medio de cultivo utilizado para la diferenciación de enterobacterias en base a su fermentación de hidratos de carbono y producción de anhídrido sulfúrico (Laboratorio Britania, 2021a, p.1).	La peptona de carne y tripteína aportan nutrientes, mientras que la lactosa y glosa con los carbohidratos fermentables, en tanto que el tiosulfato de sodio es el sustrato para la producción del anhídrido (Laboratorio Britania, 2021a, p.1).

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

1.6. Resistencia antimicrobiana

La resistencia de los microorganismos se produce cuando estos, ya sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar o tratar las infecciones dejen de ser eficaces (OMS, 2020c, párr.3). La resistencia a los antimicrobianos es en la actualidad una de las principales emergencias que afecta a todas las especies microbianas. La prevalencia creciente de los microorganismos resistentes tiene una importante consecuencia en la salud pública ya que determina el incremento de los índices de morbilidad y mortalidad por infecciones, extiende la enfermedad y el incremento sustancial de los costos sanitarios (Calero et al.,

2019: pp.313-314).

El fenómeno de la resistencia afecta principalmente a las bacterias, y de forma general, a la gran mayoría de los géneros y especies microbianas y parasitarias que pueden ser transferidos al hombre desde el ambiente por diferentes vías, entre ellas, la cadena alimentaria (OMS, 2020b, párr.3). La intensa actividad del metabolismo bacteriano propio del sistema gastrointestinal establece el aumento del intercambio del material genético siendo este, el lugar de elección para la transferencia a gran escala de los genes de resistencia. Otro factor de diseminación de esta característica está vinculado a la utilización de heces como sistema de fertilización de los suelos y por el uso de las aguas contaminadas para el regadío de los cultivos, estos factores están implicados directamente con la contaminación de los vegetales y del medio ambiente en general (Puig et al., 2011: p.30).

El control de la resistencia a los antimicrobianos en alimentos se debe realizar en bacterias indicadoras de la calidad sanitaria tales como: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, que se emplean a menudo como parámetros de higiene. También, en las bacterias zoonóticas y agentes patógenos humanos como *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* (Soto et al., 2016: p.115).

Salmonella y *Escherichia coli*, que con frecuencia afectan al hombre y también a los animales, se consideran los dos géneros con mayores riesgos de transmisión zoonótica de resistencias. La resistencia de estas bacterias ha desencadenado problemas de salud por ejemplo *Salmonella* Typhimurium DT104 multiresistente que ha incrementado en los últimos años, ocasionando brotes de fiebre tifoidea, causando incluso la muerte (Puig et al., 2011: p.32).

1.7. Problemas en la salud por el reusó del aceite vegetal

En el proceso de frituras el aceite utilizado repetidamente está relacionado con problemas de salud, ya que el aceite al ser recalentado produce radicales libres, sustancias que dañan nuestras células, como la acrilamida, agente tóxico para el cerebro y además uno de los principales agentes cancerígenos (Badui, 2006, p.214); por el simple hecho de calentar aceites a altas temperaturas produce ácido grasos trans los cuales pueden dar enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, por el aumento de peso puede darse problemas respiratorios; se han observado en ratas a las cuales se les administró aceites que pasaron por un estrés térmico, acciones teratogénicas y aterogénicas (Astudillo, 2018, p.7).

La toxicidad de los aceites térmicamente oxidados atribuyen a los productos secundarios que son resultantes de las grasas rancias, estas componen sustancias altamente reactivas y tóxicas que pueden modificar ácidos nucleicos, proteínas y otras biomoléculas in vivo (Abilés et al., 2009, pp.473-478).

El reúso de los aceites vegetales puede ocasionar ETAs por la presencia de bacterias las cuales están relacionadas con factores intrínsecos como actividad de agua, acidez (pH), potencial de óxido reducción, composición química del alimento (nutrientes) y otros. Los factores extrínsecos más importantes son la humedad del medio y la temperatura; algunos tipos de microorganismos, pueden indicar exposición, manipulación y conservación inadecuadas del producto alimenticio; una de las bacterias que pueden presentarse es la salmonela el cual es un grupo de bacterias que causa enfermedad diarreica en el hombre; se puede dar intoxicación estafilocócica causada por la enterotoxina producida por cepas de *S. aureus*, los síntomas más comunes son náuseas, vómitos, cólicos abdominales, arcadas y postración. Algunos individuos pueden no presentar todos los síntomas asociados a la enfermedad. Los casos más graves pueden presentar dolores musculares, dolor de cabeza, alteraciones de presión arterial y de la pulsación (OPS, 2015, párr.2).

1.8. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs)

Partimos de las acciones y procesos dirigidos a garantizar la seguridad máxima posible de los alimentos, es decir la “inocuidad de los alimentos”, que incluyen actividades y políticas que deben contener toda la cadena alimenticia, comenzando con la producción hasta el consumo (OMS, 2020a, párr.1).

Si no se cumple con la condición de inocuidad de los alimentos, se produce la contaminación, que se evidencia con la presencia de cualquier agente microbiológico, físico o químico extraño a la composición del alimento. Existen varias formas de contaminación de los alimentos: durante el proceso de manejo, con la contaminación directa de los alimentos crudos, o indirecta a través de las manos, utensilios y superficies contaminados (Ramos, 2019, p.22). Se suman diversos factores que pueden causar el crecimiento bacteriano, entre los cuales pueden estar los relacionados con las características intrínsecos del alimento, o extrínsecas, es decir con el ambiente en el cual dicho alimento se encuentra. Los factores intrínsecos que pueden ser causa del crecimiento bacteriano son la actividad de agua (a_w), potencial de óxido reducción (Eh), acidez (pH), disponibilidad de nutrientes, entre otros y los factores extrínsecos como la humedad relativa, la temperatura (PAHO, 2015, párr.10).

Las enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial constituyen un problema sanitario y económico. Millones de personas se enferman y muchas mueren por la ingesta de alimentos insalubres. La Organización Mundial de la Salud reconoce el papel fundamental de la inocuidad alimentaria para la salud pública, ello implica la implementación de acciones dirigidas a garantizar la máxima seguridad posible desde la producción hasta el consumo de los alimentos (Ruiz et al., 2017:

p.175).

Se consideran ETAs todas aquellas enfermedades producidas por la ingestión de agua o alimentos contaminados que provocan un efecto nocivo en la salud del consumidor, o de un grupo de consumidores, en forma aguda o crónica. Pueden ser causadas por patógenos, sustancias químicas o parásitos que contaminan los alimentos en distintos puntos de la cadena de producción (ANMAT, 2015, p.6).

Las bacterias que causan ETAs corresponden a las especies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Listeria monocytogenes* o a los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter* (Ruiz et al., 2017: pp.175-176). Constituyen un problema debido al aumento en casos de este tipo de enfermedades, la aparición de grupos vulnerables, nuevas formas de transmisión, el aumento de la resistencia de los patógenos a los compuestos antimicrobianos, y el impacto socioeconómico que ocasionan (Rodríguez et al., 2015: pp.2-3). La incidencia de ETAs es un indicador directo de la calidad higiénico-sanitaria que se tiene en el proceso de los alimentos (Cáceres y Guillen, 2018: p.19).

Debe considerarse además las intoxicaciones transmitidas por alimentos ingeridos que contienen toxinas o venenos que han sido producidas por hongos o bacterias, aunque éstos ya no se encuentren en el alimento como por ejemplo toxina botulínica, enterotoxina de *Staphylococcus*, etc., (ANMAT, 2015, p.5).



Figura 1-1: Factores de Riesgo ante intoxicaciones alimentarias.

Fuente: ARCSA 2015, p. 9.

Realizado por: Pilco, Fátima. 2021.

1.9. Medidas higiénico- sanitarias

En la industria alimentaria se deben controlar los agentes potenciales que puedan contaminar los productos. En la etapa de producción, se desarrollan planes de limpieza y desinfección para garantizar la inocuidad del producto. Estas acciones se las toma especialmente con los manipuladores que constituyen una de las principales vías de contaminación debido a que están directamente relacionados a la producción de productos alimenticios para el consumo humano, manteniendo las condiciones higiénico-sanitarias y reduciendo así la cantidad de microorganismos potencialmente patógenos (Jara, 2016, p.9).

En la cadena alimentaria las consecuencias de un mal manejo o manipulación de los alimentos pueden tener repercusiones graves sobre el consumidor. Por ello se debe tomar medidas preventivas encaminadas a evitar la contaminación de los alimentos y la multiplicación de los gérmenes (PAHO, 2014, párr.4). Se debe considerar:

- a) Los prácticas o hábitos de higiene personal de las personas involucradas en el proceso de manufactura del alimento debe ser el cabello recogido adecuadamente, ropa de trabajo exclusiva y limpia para el desarrollo de cualquier actividad relacionada con la producción, uñas cortadas, deben estar sin esmalte y sin adornos.
- b) El lavado de manos debe ser siempre que se utilice los servicios sanitarios, se manipule cajas o cualquier otro producto ajeno, después de manipular carne cruda, pollos, pescado, etc., si se manipula basura o al tocar el dinero.
- c) Lavado y Desinfección de utensilios en donde se debe considerar retirar primero los residuos de comidas, utilizar agua potable corriente para el lavado, utilizar detergente; después del enjuague se recomienda desinfectar con cualquier producto de limpieza aprobado por el Ministerio de Salud.
- d) Almacenamiento adecuado de equipos y utensilios: La vajilla, cubiertos y vasos se deben almacenar en un lugar cerrado, protegido del polvo e insectos, guardar en un lugar limpio, seco, el lugar a guardar debe estar por encima del 0.20 m del piso, cuando no se van a utilizar seguidamente cubrir los equipos que tienen contacto con las comidas, no colocar los equipos o utensilios cerca de drenajes.

La adecuada manipulación de los alimentos, desde el inicio de su producción hasta que se consumen debe ser correcta basándose en buenas prácticas de higiene y BPM, ya que incide directamente sobre la salud de la población (PAHO, 2014, párr.2).

1.10. Base Legal

Las bases legales de este anteproyecto de investigación se encuentran en las siguientes normativas:

- Norma para aceites vegetales especificados. CODEX ALIMENTARIUS
- Reglamento para el control sanitario de alimentos que se expenden en la vía pública (Acuerdo No. 14381)
- NMX-F-101-SCFI-2012. Alimentos – aceites y grasas vegetales o animales – determinación de ácidos grasos libres - método de prueba.
- NTE INEN 1529-5: 2006. Control microbiológico de alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos Aerobios mesófilos.Rep.
- INEN 1529-14:2013. Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. recuento en placa de siembra por extensión en superficie.
- NTE INEN 35. 1973-08. Grasas y aceites comestibles. Determinación de la densidad relativa.
- NTE INEN-ISO 10523. Determinación de pH.
- NTE INEN 1529-6. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable.
- NTE INEN 38 1973-08. Grasas y aceites comestibles. Determinación de la acidez.
- NTE INEN 277 1978-02. Grasas y aceites. Determinación del índice de peróxido.
- DIGESA-V.01. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.

1.11. Limitaciones de la investigación

La presente investigación se realizó en el periodo enero-mayo 2021, presentándose limitaciones por la pandemia Covid-19, ya que las medidas de cuarentena hicieron imposible salir antes de este periodo, algunos negocios han cerrado y algunos no abren con regularidad, de manera que al momento del trabajo de campo hubo una baja actividad de estos negocios, disminución de ventas y de consumidores.

También faltaron de reactivos para los análisis físico-químicos: índice de ester, % ácidos grasos libres, % total de compuestos polares, índice de saponificación, Índice de Ester, Humedad, Contenido de jabón, y, para el análisis microbiológico de: *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* y Mohos y levaduras.

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

- Por el método de investigación: Mixto
- Según el objetivo: Aplicada
- Según el nivel de profundización en el objeto de estudio: Descriptiva
- Según la manipulación de variables: Experimental
- Según el tipo de inferencia: Deductiva
- Según el periodo temporal: Transversal

Diseño de la Investigación

Experimental, cualitativa-cuantitativa, hipotética-deductiva.

Diseño Experimental

En esta investigación se plantean las siguientes variables:

Variables independientes:

- Tipo de frituras
- Condiciones higiénico sanitaria establecida a través de check list

Variables dependientes:

- Calidad físico química de aceites vegetales usados
- Calidad microbiológica de aceites vegetales usados a 0 días y 15 días

Se da la manipulación de la variable calidad microbiológica al medir a los cero y quince días. Se busca además establecer relaciones de causalidad entre las variables. El diseño experimental es:

$$T^1 C^{18} Fi^5 Q^3 M^{11 \times 2}$$

Donde:

T: tipo de fritura

C: condiciones higiénico sanitaria
Fi: análisis físicos
Q: análisis químicos
M: análisis microbiológicos a 0 y 15 días.

Planteamiento de la hipótesis

General

Existe relación entre los parámetros de calidad, tipo de frituras y condiciones higiénico sanitaria de los aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida en las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba, lo que permite determinar los riesgos a la salud del consumidor.

Específicas

- El 60% de los negocios de comida rápida cumplen con el check list.
- La caracterización físico-química y bacteriológica cumple con las normativas.
- Al menos dos variables de estudio tienen relación, e influyen en la salud del consumidor.
- La sensibilidad determinada en los organismos patógenos detectados facilita la protección de la salud del consumidor

2.1. Lugar de Investigación

La presente investigación se realizó en las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

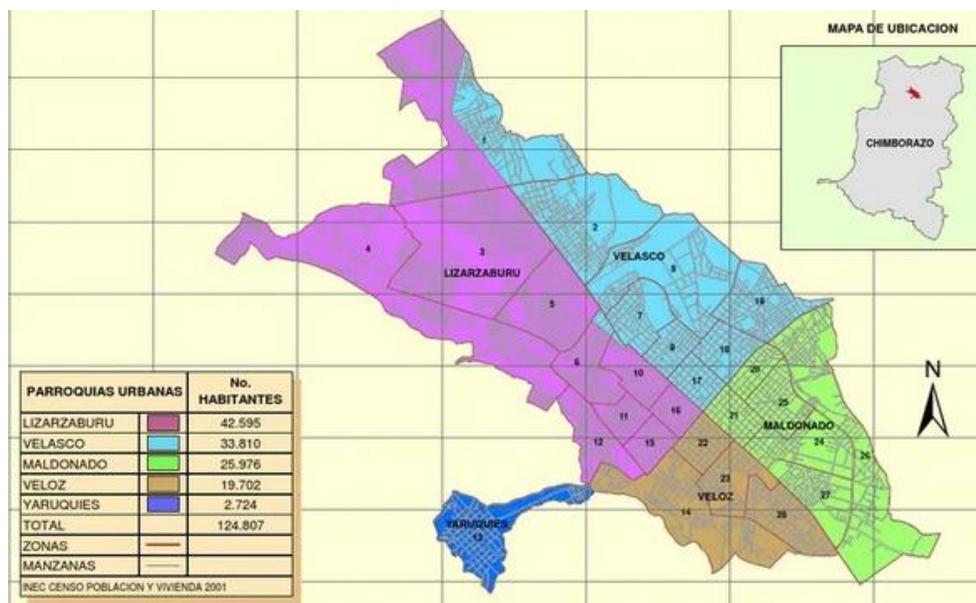


Figura 2-2: Mapa de las parroquias urbanas de la ciudad de Riobamba.

Fuente: Yubi, 2013, párr.1.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

En la tabla 7.2 se presentan los datos de ubicación y población de las parroquias estudiadas:

Tabla 7-2: Datos de ubicación y población de las parroquias estudiadas

PARROQUIA	UBICACIÓN	POBLACION
Lizarzaburo	Eugenio Espejo y Primera Constituyente hacia el noroeste de la ciudad de Riobamba.	42.535 habitantes
Veloz	Ubicada al sur oeste de la ciudad de Riobamba	19.702 habitantes
Yaruquíes	Situada sobre el río Chibunga	2.724 habitantes

Fuente: Goraymi, 2018, párr.1.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

El análisis y procesamiento de las muestras se realizaron en el Laboratorio de Análisis microbiológico y Laboratorio de Análisis físico-químico de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Población de estudio

La población constituyó 76 negocios de comida rápida en la ciudad de Riobamba ubicados en las

parroquias de Lizarzaburo, Veloz y Yaruquies; constituidos de 62 negocios en la parroquia Lizarzaburo, 11 de la parroquia Veloz y 3 de la parroquia Yaruquies, la base de datos de los negocios que se hallaban en funcionamiento se hizo en un recorrido de estas parroquias.

2.3. Tamaño de la muestra y muestreo

La muestra constituyó 20 negocios de comida rápida en la ciudad de Riobamba, en donde 11 negocios fueron de la parroquia Lizarzaburo, 7 de la parroquia veloz y 2 de la parroquia Yaruquies. El muestreo se realizo in situ. Se utilizó la técnica de muestreo por conveniencia (Hernández et al., 2017: pp. 390-392), tomando como criterio de selección a los negocios de comida rápida en donde hubo disposición a colaborar del propietario –empleado.

2.4. Técnicas de recolección de datos

- a) Check list para evaluar el cumplimiento de las buenas prácticas de higiene en los expendios de comida rápida.
- b) Hojas de registros de los resultados de los análisis de control de calidad de las muestras de aceites de frituras recolectados.

2.5. Análisis Estadístico Inferencial

Se aplicó estadística descriptiva, y Chi cuadrado para encontrar posibles relaciones entre las variables,

$$X^2 (df) = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

X^2 = Chi cuadrada

df = grados de libertad

\sum = suma

O= eventos observados

E = eventos esperados

2.6. Materiales, equipos y reactivos

Tabla 8-2: Materiales utilizados.

MATERIALES		
Análisis Físico-Químico		Análisis Microbiológico
<ul style="list-style-type: none"> • Guantes • Mascarillas • Gorro • Mandil • Cooler • Marcador • Erlenmeyer de 50 mL y 250 mL • Algodón • Gaza • Cinta indicadora 	<ul style="list-style-type: none"> • Puntas azules estériles • Pipeta automática de 1000 µL • Probeta de 100mL • Jeringuillas de 10mL • Tubos de ensayo • Gradillas • Lámpara de alcohol • Bureta • Picnómetro • Termómetro • Balones de aforo • Papel parafilm 	<ul style="list-style-type: none"> • Puntas azules estériles • Puntas amarillas estériles • Pipeta automática de 1000 µL • Cajas Petri • Porta y cubreobjetos • Papel parafilm • Asa de platino • Tubos Durham • Hisopos • Gradillas • Guantes • Mascarillas • Gorro • Mandil • Cooler • Tubos tapa lila y roja

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Tabla 9.2: Equipos, Medios de cultivo y Reactivos usados en los análisis microbiológicos.

Análisis Microbiológico		
EQUIPOS	MEDIOS DE CULTIVO	REACTIVOS
<ul style="list-style-type: none"> • Balanza analítica • Cámara de flujo laminar • Estufa bacteriológica • Autoclave • Microscopio • Baño María 	<ul style="list-style-type: none"> • Plate Count Agar (PCA) • Plate Count AgarAgar manitol • Agar S.S. • Agar Mueller Hinton • Caldo verde bilis brillante • Agua peptonada • Enriquecimiento Base para Salmonella • Suplemento de enriquecimiento de Salmonella • Agar soya 	<ul style="list-style-type: none"> • Tinción Gram • Cristal Violeta • Alcohol acetone • Safranina • Aceite de inmersión

Análisis Físico Químico	
REACTIVOS	EQUIPOS
<ul style="list-style-type: none"> • Solución indicadora de almidón. • Tiosulfato de sodio 0,1 N • Yoduro de potasio saturada • Ácido acético • Cloroformo • Hidróxido de sodio 0,1N • Fenolftaleína • Alcohol-éter(1:1) 	<ul style="list-style-type: none"> • Desecador • Baño Maria • Estufa • Balanza analítica • Agitador

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

2.7. Metodología

2.7.1. Toma y transporte de muestras

Se tomaron 100 ml de aceite vegetal usado in situ. Las muestras se transportaron en un culeer, para mantener 2- 8 ° C para su posterior análisis (FAO, 2010, pp. 35-36).

2.7.2. Análisis físico-químicos

En la tabla 11.2 se presentan los análisis, métodos y técnicas aplicados para los análisis físico-químicos de las muestras de aceites usados recolectados.

Tabla 10.2: Norma utilizada para el análisis físico-químico

ANALISIS FISICO-QUIMICOS DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS		
DETERMINACION	METODO	NORMA
pH	Potenciométrico Equipo Multiparámetro	INEN-ISO 10523
Temperatura °C	Equipo Multiparámetro	INEN-ISO 10523
Densidad relativa	Del picnómetro	INEN 35 1973-08
Acidez %	Volumétrico	INEN 38 1973-08
Índice de acidez	Volumétrico	INEN 38 1973-08
Índice de peróxido	Volumétrico	INEN 277 1978-02

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

2.7.3. Análisis microbiológico

2.7.3.1. Proceso previo a los análisis microbiológicos

- a) Preparar agua de peptona al 0,01% en Erlenmeyer 90 mL (dilución 10^{-1}) y tubos 9mL (diluciones subsiguientes hasta 10^{-3})
- b) Mediante la técnica siembra por profundidad, tomar 1mL de cada dilución e inocular en cada caja Petri Agar PCA.
- c) Verter 15 mL de agar PCA con el inóculo de muestra.
- d) Incubar a 35°C por 24-48 horas.
- e) Conteo.
- f) Se decidió realizar el análisis de las diluciones 10^{-1} y 10^{-2} puesto que el conteo era factible en las mismas.

2.7.3.2. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable (NMP)

- a) 10 ml de muestra homogenizada + 90mL de agua peptonada 0.01%
- b) Homogenizar
- c) Realizar las diluciones hasta la 10^{-3}
- d) De las dilución 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} tomar 1mL y añadirlo a los tubos que contienen el caldo verde bilis brillante con sus respectivos tubos Durham.
- e) Incubar a 37°C durante 24-48 horas
- f) Reportar la presencia de gas y turbulencia, presunto positivo.
- g) Prueba confirmatoria sembrar en agar Eosina Azul de Metileno a 37°C por 24 horas.

2.7.3.3. Recuento de aerobios mesófilos

- a) Técnica de siembra en profundidad
- b) Con una micropipeta desinfectada y puntas estériles tomar 1mL de muestra (Diluciones 10-1 y 10-2)
- c) Esparcir homogéneamente por una caja petri estéril y rotulada
- d) Colocar 15mL de medio PCA en la caja, homogenizar y dejar que solidifique
- e) Incubarlas en la estufa a 37°C durante 24 horas

- f) Transcurrido ese tiempo cuantificar las colonias

2.7.3.4. Aislamiento y purificación de las colonias de las diferentes bacterias

- a) Tomar las bacterias fenotípicamente diferentes y sembrar en nuevos medios
- b) Bacterias obtenidas en agar EMB sembrar en el mismo agar y en agar MacConkey de igual forma
- c) Tomar una sola colonia de bacterias e inocular en el nuevo medio de cultivo, realizar los que sean necesarios
- d) Sembrar en las cajas mediante el método de siembra en estría tratando de obtener un completo aislamiento
- e) Incubar a 37°C por 24/48h
- f) Repetir el proceso hasta obtener colonias visiblemente puras

2.7.3.5. Tinción Gram

- a) Codificar la placa portaobjetos
- b) Agregar una gota de solución salina
- c) Tomar asépticamente con el asa de platina una colonia,
- d) Extender con el asa de platino en la placa
- e) Fijar la placa
- f) Cubrir la superficie con cristal violeta por 1 minuto y lavar
- g) Cubrir la superficie con lugol por 1 minuto y lavar
- h) Colocar alcohol al 95° durante 30 segundos y lavar
- i) Cubrir con safranina por 1 minuto y lavar
- j) Secar
- k) Colocar una gota de aceite de inmersión y observar en el microscopio
- l) Reportar

2.7.3.6. Recuento *Staphylococcus aureus*

- a) Con una micropipeta desinfectada y puntas estériles tomar 1mL de muestra (diluciones 10^{-1} y 10^{-2}).
- b) Esparcir homogéneamente por una caja Petri estéril y rotulada de Manitol con una asa sobre la superficie del agar.

- c) Incubarlas en la estufa a 37°C durante 24 horas
- d) Transcurrido ese tiempo cuantificar las colonias

2.7.3.7. Prueba confirmatoria para *Staphylococcus aureus*

- a) Aislamiento de colonias de *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado
- b) Tinción Gram: Cocos Gram positivos, agrupación en racimos
- c) Prueba de catalasa: Colocar una gota de agua oxigenada en un portaobjetos y suspender la bacteria, si existe formación de burbujas es positivo
- d) Prueba de la coagulasa: Con 0.5 microlitros de plasma (con anticoagulante EDTA), suspender una colonia; La prueba es positiva si se forma aglutinación macroscópica
- e) *Staphylococcus aureus*.- Catalasa y coagulasa positivo

2.7.3.8. Prueba confirmatoria para *Staphylococcus Epidermidis* y *Staphylococcus Saprofítico*

- a) Tinción Gram: Cocos Gram positivos, agrupación en racimos
- b) Prueba de catalasa: Colocar una gota de agua oxigenada en un portaobjetos y suspender la bacteria, si existe formación de burbujas es positivo
- c) Prueba de la coagulasa Con 0.5 microlitros de plasma (con anticoagulante EDTA), suspender una colonia;; la prueba es positiva si no se forma aglutinación macroscópica
- d) *Staphylococcus Epidermidis* y *Saprofitico*.- Catalasa positivo y coagulasa negativo
- e) Realizar prueba de sensibilidad en agar nutritivo utilizando el disco de sensibilidad Novobiocina
- f) *Staphylococcus Epidermidis*: Se forma un halo; *Staphylococcus Saprofitico*: No se forma un halo.

2.7.3.9. Prueba para la identificación de *Salmonella*.

Preparación de la muestra en caldo tetratonato

- a) Suspender 4,6g de caldo de enriquecimiento en 100mL de agua destilada estéril
- b) Llevar la mezcla a ebullición y posteriormente bajar la temperatura hasta 60°C
- c) Añadir 2mL de solución de yodo
- d) No volver a calentar el medio, no llevar al autoclave
- e) Colocar el caldo en tubos previamente esterilizados
- f) Sembrar las muestras en los tubos con el caldo tetratonato
- g) Incubar a 37°C por 12-24 horas

Determinación de Salmonella en agar Salmonella – Shigella (SS)

- a) Preparación del medio
- b) Disolver 63g del medio en 1 litro de agua destilada
- c) Esterilizar en el autoclave a 121°C por 15 minutos
- d) Colocar aproximadamente 15mL de medio en cajas estériles
- e) Tomar con un asa estéril una cantidad homogénea de caldo tetrionato incubado
- f) Sembrar por el método de estría por toda la caja e incubar a 37°C por 24/48h
- g) Salmonella: Colonias incoloras, transparentes, con o sin centro negro

2.7.3.10. Identificación de bacterias Gram negativas mediante Pruebas Bioquímicas

- a) Preparación de los principales medios de identificación
- b) Kligler hierro agar: Suspender 52g de medio en 1L de agua destilada y autoclavar
- c) Agar SIM: Suspender 30g de medio en 1L de agua destilada y autoclavar
- d) Agar Citrato: Suspender 24,2g de medio en 1L de agua destilada y autoclavar
- e) Agar Manitol: Suspender 111g de medio en 1L de agua destilada y autoclavar
- f) Agar Úrea: Suspender 21g de medio en 1L de agua destilada y autoclavar
- g) Colocar aproximadamente 3mL de cada medio en tubos estériles, dejar enfriar
- h) Inocular los tubos con las colonias previamente aisladas
- i) Incubar los tubos a 37°C por 18/24h

2.7.3.11. Antibiograma en agar Mueller Hinton

- a) Disponer de un cultivo bacteriano puro en un medio no selectivo
- b) En un tubo de ensayo preparar agua esteril
- c) Tomar un hisopo estéril y sumergir en el agua, eliminar el exceso, tomar una colonia
- d) Inocular toda la superficie de la caja de agar tres veces girando la placa para una inoculación uniforme
- e) Colocar los discos de antibiótico con una pinza estéril
- f) Incubar por 24 horas a 37°C
- g) Leer los resultados midiendo el diámetro de inhibición de cada disco
- h) Reporte e interpretación

CAPÍTULO III

3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En términos generales las muestras recolectadas presentaron un color ámbar oscuro, un olor a rancio, el método de fritura utilizado en los negocios de comida rápida fue de profundidad, en donde se procesaban papas fritas.

3.1. Análisis físico-químico del aceite vegetal usado

En la tabla 11-3 se presentan los resultados de la media de los análisis físico-químicos de los AVUs:

Tabla 11-3: Parámetros físico químicos determinados en cada muestra.

Muestra	MEDIA						
	Ph	Densidad relativa	Temperatura °C	STD* mg/L	Conductividad µs	Índice de acidez mgNaOH/g aceite	Índice de peróxido meq O2/Kg aceite
L1	7,00	,9043	18,55	,00	,10	1,178	49
L2	7,35	,9148	18,40	,00	,10	1,347	27
L3	7,20	,9096	18,15	,00	,10	2,188	3
L4	7,07	,9121	18,65	,00	,10	2,301	31
L5	7,41	,9107	18,35	,00	,10	1,403	49
L6	7,40	,9015	19,25	,00	,10	2,188	27
L7	7,85	,8947	18,85	,00	,10	2,413	119
L8	7,26	,8902	18,25	,00	,10	2,076	15
L9	6,93	,9279	18,55	,00	,10	1,852	21
L10	6,88	,9101	19,15	,00	,10	2,132	43
L11	7,12	,9026	18,40	,00	,10	1,178	13
L12	7,10	,9113	18,75	,00	,10	1,515	51
L13	6,85	,9107	18,35	,00	,10	1,178	17
L14	5,99	,9105	18,85	,00	,10	1,403	13
L15	7,35	,9320	18,25	,00	,10	2,132	31
L16	6,92	,9110	18,35	,00	,10	1,178	27
L17	7,89	,9488	18,65	,00	,10	2,244	19
L18	7,64	,8905	18,25	,00	,10	2,020	23
L19	7,71	,9728	18,90	,00	,10	1,234	45
L20	7,13	,9233	18,65	,00	,10	2,413	9

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

STD*: Solidos Totales Disueltos

En la Tabla 11-3, respecto a la medición de pH en cada local analizado, cuyos valores oscilan entre 6,84 hasta 7,89; es decir que las muestras presentan un pH cercano a neutro. Es importante mencionar

que las bacterias se desarrollan mejor en un pH neutro o cercano a él, mientras que en un pH ácido se detiene su crecimiento (PAHO, 2015, párr.5).

La densidad relativa en vegetales puros varían entre 0,850-0,920 CXS 210-1999. Codex Alimentarius 2019, los valores obtenidos se encuentran dentro de este rango excepto de cuatro locales que sobrepasan este valor; en aceites vegetales usados este valor va ir incrementando debido a la formación de polímeros ya que han pasado por varios procesos térmicos aumentando así su peso molecular

Respecto a los valores de temperatura de las muestras registrados en el laboratorio, oscilan entre 18,15 - 19,15 °C; la temperatura es el factor ambiental que más afecta el desarrollo de los microorganismos, pese a que algunos microorganismos existentes son capaces de proliferar a diferentes intervalos, desde -8° a +90°C, la temperatura ideal para casi todos los patógenos es 35°C (95°F). La temperatura puede afectar la duración de la fase latente, las exigencias nutricionales, la velocidad de crecimiento y la composición enzimática y química de las células de los microorganismos; la resistencia a las altas temperaturas depende de las características de los microorganismos, entre estos el *Staphylococcus aureus* es el más resistente, puede sobrevivir a 60 °C durante 15 minutos. En cuanto a la temperatura obtenida en el laboratorio podemos decir que se encuentra en la clasificación de microorganismos ambientales que van desde los 10 a 25°C (PAHO, 2015, párr.15).

Los valores establecidos de conductividad en todas las muestras es de 0,1 y Sólidos totales disueltos de 0, los sólidos disueltos se dan por la evaporación y secado del líquido podemos decir que las muestras de aceites vegetales usados al tener valores bajos no han formado residuos, es decir no contiene sales inorgánicas principalmente calcio, magnesio, potasio, sodio, bicarbonatos, cloruros y sulfatos (PAHO, 2012, p.3).

Según la norma mexicana: NMX-F-101-SCFI-2012 los valores permisibles del porcentaje de acidez van desde 0,2-1,5, los resultados del índice de acidez o grado de acidez de las muestras dan valores elevados de acidez en 9 locales: L3,4,6,7,8,15,17,18 y L20 lo que demuestra elevado contenido de ácidos grasos libres, que son fácilmente susceptibles a la oxidación.

Respecto al índice de peróxido tenemos de referencia un valor máximo de 10 meq O₂/Kg indicado en CODEX STAN 19-1981. Codex alimentarius 2015, los valores que se encuentran mayores a 10 meq O₂/Kg inician su periodo de inducción, los que están en el rango de 20 a 40 meq O₂/Kg indican una rancidez notable. De las 20 muestra analizadas, se halla que en los locales 3 y 20 dieron valores menores a 10 meq O₂/Kg, es decir cumplen con la norma CODEX ALIMENTARIUS 2015, mientras las muestras del restante de locales tienen valores que sobrepasan los límites; es decir estas muestras presentan mayor deterioro oxidativo dando como resultado la rancidez del mismo (Flores, 2011, párr.10), a mayor índice de peróxidos menor será la capacidad antioxidante de un aceite, los peróxidos lipídicos

formados en los procesos de frituras son reactivos y tóxicos, por lo que su frecuente consumo puede aumentar el riesgo de desarrollar cáncer e inflamación.

Tabla 12-3: Estadísticos descriptivos de los análisis físicos químicos de las muestras de aceites vegetales usados

	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
pH	7,20	5,99	7,89	± 0,42
Temperatura °C	18,57	18,15	19,25	± 0,308
Densidad relativa	,9145	,8902	,9728	± 0,0195
Sólidos totales disueltos mg/L	0,00	0,00	0,00	0,00
Conductividad µs	0,10	0,10	0,10	0,00
Índice de acidez mg/g	1,778	1,178	2,413	± 0,476
Índice de peróxido	31,60	3,00	119,00	± 24,972

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

La tabla 12-3 nos permite hacer un análisis general del conjunto de muestras respecto a los parámetros físico-químicos determinados, se observa que los valores de las desviaciones estándar de las 20 muestras indican la poca variabilidad de los resultados, en general se aprecian valores bajos es decir los datos tienen poca dispersión, excepto el índice de peróxido cuya desviación estándar es $\pm 24,9972$ meq O₂/Kg, la media 31,60 meq O₂/Kg sobrepasa los límites establecidos por normas, por lo que este parámetro indica que se han dado los procesos de oxidación y enranciamiento de los aceites, como han concluido en otros estudios, a más frituras sometidas el aceite mayor será su deterioro (Innawong et al., 2004: p.23), y también mayor su incidencia negativa en la salud del consumidor.

3.2. Análisis microbiológico del aceite vegetal usado

Para la caracterización microbiológica de las 20 muestras se aplicaron las técnicas para identificar los siguientes microorganismos patógenos: *Salmonella spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 10³UFC/g, para microorganismos Aerobios mesófilos 10³UFC/g, *Coliformes Totales*, *Pseudomonas*, *S. epidermidis*, *S. saprofítico*, *Streptococo viridans* y *Chromobacterium spp*.

Todas las pruebas se realizaron nuevamente a los 15 días de tomadas las muestras. *Escherichia coli*, y *Coliformes totales* están ausentes en las muestras en estos dos tiempos, cumplimiento de la norma (NTE INEN 1529-6), Control microbiológico de los alimentos, todos los locales de estudio están dentro

de los límites permitidos menos de 100 para coliformes y menor a 3 para *E. coli* (Digesa, 2003, p.9), concluyendo que el alimento sugiere un riesgo para la salud de quien lo consume. Por ello, es importante mencionar que, los microorganismos coliformes totales se utilizan como indicadores de la calidad sanitaria ya sea de un alimento o del agua para consumo y elaboración de estos, o a su vez puede ayudar a determinar la durabilidad de este. Deben cumplir con indicadores específicos, como la presencia (detectabilidad) de estos microorganismos en el alimento en estudio, pero su crecimiento debe ser inversamente proporcional a la calidad que presenta este alimento, se encuentran distribuidas ampliamente en la naturaleza; en el agua, vegetales, suelo, entre otros. La ausencia de *coliformes totales* y *E.coli* en las muestras tomadas de las diferentes parroquias se asume se debe al tratamiento térmico ya que estos se destruyen a partir de los 70°C en adelante (OMS, 2021, párr.2).

Chromobacterium spp está ausente en 0 días, y, a los 15 días se detecta en el 20% de las muestras, su presencia a los quince días podría ser por las técnicas de aislamiento que se utilizó ya que al aislar y purificar las muestras se utilizó medios selectivos y se realizó la respectiva diferenciación de colonias a las cuales se sometieron a seguir aislándolas, es decir que a los 0 días se aisló las otras bacterias resultantes en las muestras.

3.2.1. Identificación de cepas puras

Tabla 13-3: Identificación de cepas de cocos Gram positivos mediante pruebas específicas.

Morfología	Gram	Coloración	Manitol (Fermenta)	Catalasa	Coagulasa	Novobiocina	Agar Sangre	Esculina	Prueba de tolerancia a la sal (NaCl)	Disco Optoquima	Identificación
Forma esférica se agrupa en racimos	Cocos Gram +	blancas cremosas	No	+	-	S					<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Forma esférica se agrupa en racimos	Cocos Gram +	blancas cremosas	No	+	-	R					<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
Colonias pequeñas	Cocos Gram +	Amarillas	Si	+	+						<i>Staphylococcus aureus</i>

Colonias esféricas en cadenas	Cocos Gram +	blancas cremosas	No	-	-		Alfa hemolítico	+	-	R	<i>Streptococcus viridans</i>
-------------------------------	--------------	------------------	----	---	---	--	-----------------	---	---	---	-------------------------------

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

S: sensible

R: resistente

Tabla 14-3: Identificación de cepas aisladas mediante el uso de pruebas bioquímicas en agar SS.

Morfología	Gram	Coloración	Pruebas Bioquímicas									Identificación	
			SIM		Citrato	Kliger				Úrea	Manitol		
			Indol	Movilidad		Glucosa	Gas glucosa	Lactosa	H ₂ S				
Colonias redondas	Bacilos Gram -	Negras	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	<i>Salmonella spp</i>

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Tabla 15-3: Identificación de cepas aisladas mediante el uso de pruebas bioquímicas en agar EMB y MCK.

Morfología	Gram	Coloración	Pruebas Bioquímicas									Identificación
			SIM		Citrato	Kliger				Úrea	Manitol	
			Indol	Movilidad		Glucosa	Gas glucosa	Lactosa	H ₂ S			
Bacilos rectos o ligeramente curvados	Bacilos Gram -	blancas cremosas	-	+	-	+	-	V-	-	V	+	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bacilos rectos o ligeramente curvados	Bacilos Gram -	Colonias rugosas amarillas cremosas	-	+	-	+	-	V+	-	-	-	<i>Pseudomonas maltophilia</i>
Bacilos rectos o ligeramente curvados	Bacilos Gram -	blancas cremosas	-	+	-	+	-	-	-	V	V	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Tabla 16-3: Identificación de cepas de bacilos Gram negativos mediante pruebas específicas.

Morfología	Gram	Coloración	Catalasa	Coagulasa	Pruebas Bioquímicas							Identificación
					SIM		Kliger			Manitol	Agar MacConkey (Crecimiento)	
					Indol / Moxididad	Citrato	Glucosa / Gas glucosa / Lactosa /	Úrea				
Bacilos con extremos redondos	Bacilos Gram -	Pigmentación violeta	+	+	-/+	+	+/V/-/-	-	V	Si	<i>Chromobacterium spp</i>	

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Se identificaron mediante métodos convencionales (tinción Gram, pruebas de catalasa y coagulasa) 4 tipos de cocos Gram positivos, como se observa en la tabla 13-3, los mismos que presentaron diferentes características en agar Manitol salado, por ello se aislaron y purificaron para su posterior análisis.

En la tabla 14-3 se observa la identificación de las cepas aisladas y purificadas en agar SS donde se las identificó mediante pruebas bioquímicas de acuerdo con las características expuestas en el Manual de técnicas en Microbiología Clínica (Álvarez et al., 1995: p.73), se realizó un análisis completo incluyendo características fenotípicas de las colonias y la tinción Gram, de esa forma se pudieron identificar la presencia de *Salmonella spp*.

En la tabla 15-3 se logró identificar diferentes cepas bacterianas en los medios de cultivo EMB y MacConkey de acuerdo con su análisis fenotípico, luego estas bacterias fueron aisladas y purificadas para mediante pruebas bioquímicas y tinción Gram definir su género y especie; obteniendo así 3 bacterias Gram negativas en forma de bacilos, como se puede observar en la tabla 15-3. Las características para su identificación se tomaron del Manual de técnicas en Microbiología Clínica (Álvarez et al., 1995: pp.73-74). La importancia del uso de pruebas bioquímicas para la identificación bacteriana se basa en la capacidad que tienen dichas bacterias para fermentar azúcar, la presencia o ausencia de enzimas, su potencial al degradar compuestos, dar como producto de la reacción compuestos coloreados, entre otros; es por esto, que estas pruebas bioquímicas son ampliamente utilizadas en dicha diferenciación. En la tabla 16-3 se puede observar las diferentes pruebas diferenciales específicas que se le hizo a las colonias aisladas y purificadas obteniendo así la presencia de la bacteria *Chromobacterium spp*.

En la tabla 17-3 se presentan los resultados de aquellos microorganismos que se detectaron (0: ausencia; 1: presencia), y aquellos con los cuales se realizó el conteo.

Tabla 17-3: Ausencia (0) y presencia (1) de microorganismos detectados, y resultado del conteo de otros microorganismos, en las muestras de los 20 aceites usados muestreados.

Muestra	Tiempo 0 días								Tiempo 15 días							
	PATOGENOS				INDICADORES DE CALIDAD				PATOGENOS				INDICADORES DE CALIDAD			
	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i> (10 ^{^3})	<i>Chromobacterium spp</i>	<i>Aerobios Mesofilos</i> (10 ^{^3})	<i>Pseudomonas</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>S. saprofitico</i>	<i>Streptococo viridans</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i> (10 ^{^3})	<i>Chromobacterium spp</i>	<i>Aerobios Mesofilos</i> (10 ^{^3})	<i>Pseudomonas</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>S. saprofitico</i>	<i>Streptococo viridans</i>
1	1	0,0	0	0,2	0	0	0	0	1	0,0	0	0,4	0	0	0	0
2	0	3,8	0	0,2	0	0	1	0	0	4,2	1	0,2	0	0	1	0
3	0	0,0	0	2,9	0	1	0	1	0	0,0	1	3,9	0	1	0	1
4	0	7,6	0	3,3	0	1	0	0	0	8,2	0	3,6	0	1	0	0
5	0	0,0	0	2,4	0	1	0	0	0	0,0	1	2,9	0	1	0	0
6	0	3,8	0	0,2	0	0	1	0	0	3,8	0	0,3	0	0	1	0
7	0	7,3	0	0,8	1	0	0	0	0	8,4	0	1,0	1	0	0	0
8	0	8,0	0	1,7	1	1	0	0	0	8,6	0	2,3	1	1	0	0
9	0	4,0	0	0,2	0	0	0	0	0	4,0	0	0,3	0	0	0	0
10	0	0,0	0	0,1	0	1	0	0	0	0,0	0	0,3	0	1	0	0
11	0	8,2	0	0,7	1	0	0	0	0	8,6	0	1,0	1	0	0	0
12	0	0,0	0	1,0	0	1	0	0	0	0,0	0	1,2	0	1	0	0
13	0	7,8	0	1,9	1	0	0	0	0	8,1	0	2,5	1	0	0	0
14	0	8,1	0	1,0	0	1	0	0	0	8,2	0	1,8	0	1	0	0
15	0	0,0	0	1,0	0	0	1	0	0	0,0	0	1,7	0	0	1	0
16	0	7,9	0	0,9	1	0	0	0	0	8,3	0	1,2	1	0	0	0
17	0	0,0	0	1,3	0	1	0	0	0	0,0	1	1,9	0	1	0	0
18	0	8,0	0	2,5	1	0	0	0	0	8,1	0	3,2	1	0	0	0
19	0	0,0	0	2,2	1	0	1	0	0	0,0	0	2,9	1	0	1	0
20	0	7,8	0	1,2	1	0	0	0	0	8,7	0	1,9	1	0	0	0

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

El recuento de aerobios mesófilos (dilución 10^{-1} y 10^{-2}), cultivados en agar PCA

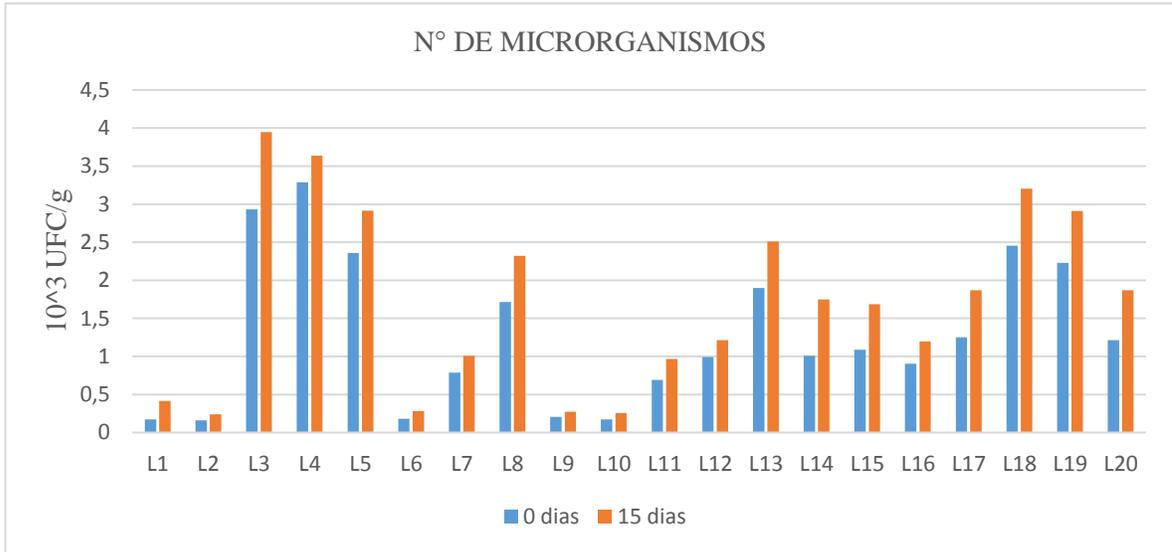


Gráfico 1-3: Recuento de aerobios mesófilos en UFC/g

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

La grafica 1-3, se presentan los resultados del promedio de recuentos de aerobios mesófilos (NTE INEN 1529-5 (2006)) a los 0 días y 15 días, apreciándose un claro aumento de estos microorganismos a los 15 días en todas las muestras. Obteniendo como resultados que la carga microbiana según la normativa sanitaria de Perú (Digesa, 2003, p.9), contempla la cantidad de aerobios mesófilos dentro de un número aceptable es igual o menor a 1000, los resultados de 11 muestras a 0 días exceden la norma, y a los 15 días son 14 las muestras que se hallaron fuera de estos límites, por tanto, el alimento representa un riesgo para la salud de quien lo consume. En el gráfico 1-3 se observa que los locales L: 3,4,5,8,13,18, y 19 contienen la carga de aerobios mesófilos más alta en comparación con los demás locales, siendo el local L2 el más bajo.

A continuación, se expone el resultado de colonias de *Staphylococcus aureus* en agar manitol salado identificadas fenotípicamente como colonias fermentadoras en agar manitol salado y coagulasa positiva. (Diluciones 10^{-1} y 10^{-2}).

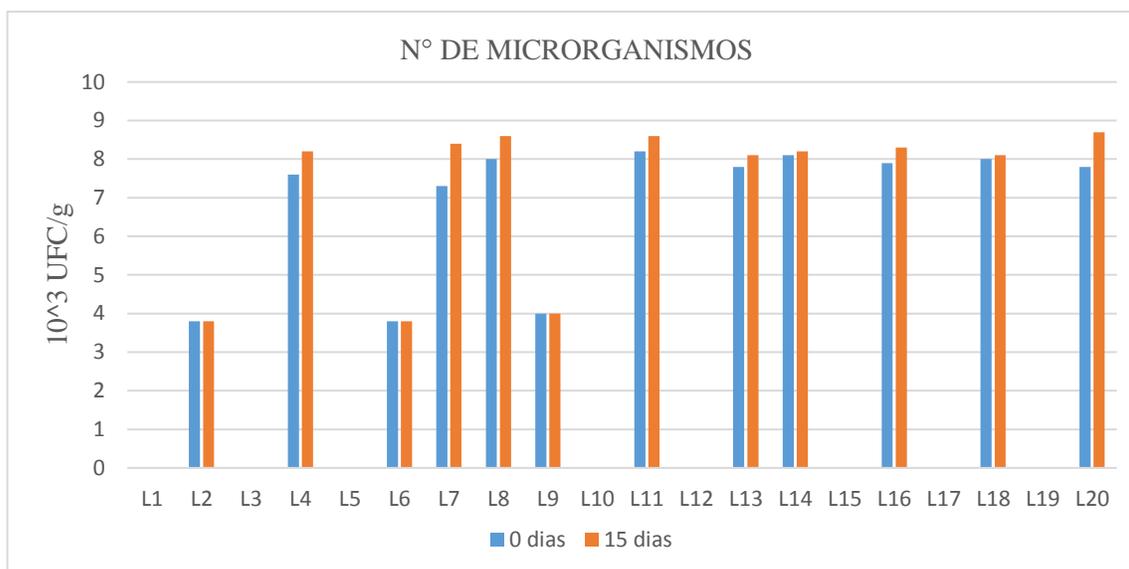


Gráfico 2-3: Recuento de *Staphylococcus aureus* en UFC/g.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

En la tabla general de los resultados microbiológicos (tabla 17-3) se aprecia la cantidad promedio de *Staphylococcus aureus* de cada muestra analizada, los cálculos del total de unidades formadoras de colonias (UFC) se realizaron de acuerdo con la norma para *Staphylococcus aureus* (NTE INEN 1529-14:2013). Por lo tanto, teniendo en cuenta la normativa sanitaria del Perú (Digesa, 2003, p.9) , para *S. aureus* considera un valor permisible de hasta 10 UFC/g y de acuerdo a los resultados analizados, los 12 puestos en donde hay la presencia de esta bacteria reportan cantidades extremadamente altas de los valores permisibles, concluyendo que ninguno de los alimentos expendidos en estos puestos se encuentra apto para el consumo humano. Se puede observar en el gráfico 3-3, que los locales 2, 6 y 9 contienen la menor cantidad de microorganismos, mientras que los locales 4, 7, 8, 11 y 20 contienen la carga microbiana más alta de todos los analizados, presentando un riesgo para la salud de quien consume dichos alimentos, al analizar el crecimiento a los 0 días y a los 15 días, se observa un ligero aumento en el número de microorganismo presentes en las muestras; por tanto, las intoxicaciones alimentarias causadas por *S. aureus*, son producidas por haber consumido alimentos contaminados con las enterotoxinas que producen estos microorganismos, también por contacto piel a piel, o al tocar algo que los contiene como una toalla, las personas colonizadas por el estafilococo contraen una infección estafilocócica real que las hace enfermar, dando como resultado diarreas y vómitos. Dichas toxinas no se eliminarán con los tratamientos convencionales de cocción de alimentos y en el análisis de las infecciones no se detectarán bacterias (por ser eliminadas en la cocción). El origen de esta contaminación se debe a que *S. aureus* se encuentra en las fosas nasales y garganta de los portadores

de la infección, siendo muy fácil su dispersión por el ambiente mientras la persona toce, estornuda o simplemente respira; a eso se le suma la incorrecta manipulación de los alimentos a expendirse (Alarcón et al., 2017: p.1560).

Debido a que no hay investigaciones referenciales sobre estas bacterias en alimentos, (Seija, 2006, p.266) especifica que el *S. epidermis* es integrante de la flora normal de la superficie corporal podemos decir que la presencia de esta bacteria en las muestras de aceites se debe a las malas prácticas de higiene empleadas al momento de freír o expender la comida. De igual manera no se ha podido disponer de investigaciones sobre la presencia de *S. saprofítico* en los alimentos nos basamos en (Seija, 2006, p.271) el cual menciona que estas bacterias están presentes en tracto urinario de la mujer, la presencia de esta bacteria en nuestras muestras se puede deber al mal lavado de manos.

Respecto a *Salmonella spp*, en la tabla 17-3 se reporta la presencia o ausencia fenotípica de colonias de Salmonella, de acuerdo con las características de las colonias se procedió a aislar para su posterior identificación con pruebas bioquímicas. De todas las muestras analizadas, se halla presencia de Salmonella en un solo local, de acuerdo a la normativa sanitaria del Perú, para alimentos preparados (Digesa, 2003, p.9); un valor aceptable es aquel que presenta ausencia de este microorganismo, por consiguiente, de los veinte locales, en los AVUs de los 19 locales no hay esta bacteria por lo tanto se consideran aptos para expender alimentos fritos, el local codificado como muestra 1 resultado con presencia de Salmonella, es decir esta fuera de los límites permisibles (Digesa, 2003, p.9). La *Salmonella spp* produce en el ser humano la enfermedad conocida como salmonelosis, que es una de las causas principales de gastroenteritis, cuyos síntomas incluyen náuseas, vómitos, dolores abdominales, fiebre y dolores de cabeza. Los alimentos llegan a contaminarse ya sea por una cocción inadecuada o por contaminación cruzada, comúnmente el microorganismo se encuentra en productos de origen avícola pero también se lo puede hallar en carnes y algunas frutas y vegetales; en Estados Unidos, Chile y la Unión Europea, esta enfermedad representa una de las principales causas de intoxicación alimentaria (Barreto et al., 2016: pp.554-555) en Ecuador es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más comunes, se han notificado 963 casos de Salmonelosis, los mismos que en su mayoría fueron en la provincia de Guayas con 296 casos, el grupo de edad más afectado por este tipo de infección es de 21 a 49 años, presentándose la manifestación clínica más común síntomas gastrointestinales.

En la tabla 17-3 se puede observar la presencia o ausencia de *Pseudomonas* en las diferentes muestras, las mismas que se procedió a aislar para identificarlas por medio de pruebas bioquímicas, en donde 8 locales tienen presencia de *Pseudomonas*, entre las cuales están *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomona maltofila*, *Pseudomona aeruginosa* su presencia se puede deber a una mala manipulación de los alimentos, pudiéndose dar una contaminación cruzada, los recipientes de guardado no están en óptimas condiciones. (Jiménez et al., 2004: p.306) encontró la presencia en un 19%

de *Pseudomonas* en alimentos se encontró que la causa principal es el incorrecto lavado de manos. Las complicaciones de salud que causan las *pseudomonas* son infecciones que pueden afectar a ojos, oídos, piel, válvulas cardiacas, pulmones, vías urinarias, e intestinales (Bush y Vásquez, 2020, párr.1). Se observó la presencia de *Chromobacterium spp* mediante el aislamiento e identificación en 4 locales, esta bacteria se considera patógena, si bien no es muy común que se dé una infección por esta bacteria, se ha dado casos de alta letalidad a personas infectadas ya que esta puede producir sepsis por *Chromobacterium violaceum* pigmentado y no pigmentado, es un género de bacilos Gram negativos, se puede dar por contaminación de agua y suelo en personas que tengan heridas superficiales o por la ingesta de agua contaminada (Herrera et al., 2005: pp.6-7).

3.3. Antibiograma

Tabla 18-3: Antibiograma para cocos Gram positivos identificados y aislados.

Bacteria Identificada	Antibióticos y Diámetros Críticos.							
	Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg R≤19mm I=(-) S≥20 mm		Tetraciclina 30µg R≤14mm I=15-18mm S≥19mm		Gentamicina 10µg R≤12mm I=13-14mm S≥15mm		Cloranfenicol 30 µg R≤12mm I= 13-17 S≥18mm	
	Diámetro del halo (mm)	Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg	Diámetro del halo (mm)	Tetraciclina 30µg	Diámetro del halo (mm)	Gentamicina 10µg	Diámetro del halo (mm)	Cloranfenicol 30 µg
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	R	24	S	27	S	22	S
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	42	S	7	R	22	S	25	S
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	32	S	7	R	20	S	23	S
<i>Streptococcus viridans</i>	25	S	32	S	8	R	31	S

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

S: sensible

R: resistente

Tabla 19-3: Antibiograma para Bacilos Gram negativos identificados y aislados.

Antibióticos y Diámetros Críticos.								
Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg R≤19mm I=(-) S≥20 mm		Amikacina 30µg R ≤14mm I=15-16 mm S≥17 mm		Gentamicina 10µg R≤12mm I=13-14mm S≥15mm		Trimetropim/sulfametoza zol 1µg R≤10mm I= 11-15 S≥16 mm		
Bacteria Identificada	Diámetro del halo (mm)	Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg	Diámetro del halo (mm)	Amikacina 30µg	Diámetro del halo (mm)	Gentamicina 10µg	Diámetro del halo (mm)	Trimetropim/sulfametoza zol 1µg
<i>Salmonella spp</i>	31	S	22	S	3	R	6	R
<i>Pseudomona fluorescens</i>	17	R	20	S	19	S	16	S
<i>Pseudomona maltophilia</i>	23	S	19	S	17	S	14	I
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	24	S	22	S	20	S	5	R
<i>Chromobacterium spp.</i>	12	R	25	S	23	S	16	S

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

S: sensible

R: resistente

I: intermedio

En la tabla 18-3, se observan los principales antibióticos que actúan sobre bacterias Gram positivas: amoxicilina/ácido clavulánico, tetraciclina, cloranfenicol y gentamicina, en donde se identifica resistencia por parte de *staphylococcus aureus* a amoxicilina/ácido clavulánico, concordando con estudios realizados en donde analizan los mecanismos de resistencia siendo el principal la producción de penicilinasas las cuales van desactivar el antibiótico, desarrollando mecanismos más complejos de resistencia frente a este tipo de medicamentos (Castellano y Perozo, 2010: pp.19-21); *staphylococcus epidermidis* de todos los antibióticos usados presenta resistencia a tetraciclina ; *staphylococcus saprophyticus* presenta resistencia a tetraciclina, según (Morejón et al., 2003: p.1) el mecanismo de resistencia de estas bacterias frente a la tetraciclina se debe a que se da la inhibición del mecanismo de transporte activo que permite la entrada del antibiótico al interior de la célula debido a la disminución o pérdida de la permeabilidad celular, y el *streptococcus viridans* presenta resistencia a

gentamicina, según (Fernández, 2002, p.6) los estreptococos de grupo viridans presentan resistencia frente a los aminoglucósidos ya sea por la alteración del sistema de transporte o por la presencia de enzimas inactivadoras que hacen que el fármaco no de efecto.

En la tabla 19-3 se observa la sensibilidad o resistencia de las bacterias aisladas e identificadas, es importante mencionar que los antibióticos especiales para bacterias Gram negativas son: Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg, Amikacina 30µg, Gentamicina 10µg, Trimetropim/sulfametoxazol 1µg ; donde se puede observar que *Salmonella spp* es resistente a Gentamicina 10µg y Trimetropim/sulfametoxazol 1µg, basándonos en un estudio realizado (Quesada et al, 2016: p.36) en donde se aislaron varias cepas de diferentes muestras podemos decir que con frecuencia la *Salmonella spp* es resistente a estos dos tipos de antibióticos , *Pseudomona fluorescens* es resistente a Amoxicilina/ácido clavulánico un estudio (Redice et al., 2011: p.140) mencionan que hay una resistencia habitual de esta bacteria a las aminopenicilinas, *Pseudomona maltophilia* es sensible a todos los antibióticos presentando un halo intermedio con Trimetropim/sulfametoxazol 1µg, según (Huertas y Lacayo, 2014: p.30) el Trimetropim/sulfametoxazol puede ser un agente eficaz presentando sensibilidad del 90%, los datos de resistencia pueden variar según zonas geográficas, *Pseudomona aeruginosa* es resistente a Trimetropim/sulfametoxazol 1µg, comparando con (Barlandas et al, 2019: pp. 224-225) en donde se aisló varias cepas de las cuales los antibióticos con más elevada resistencia fue el Trimetropim/sulfametoxazol, *Chromobacterium spp* es resistente a Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10µg concordando con (Guevara et al., 2007: pp.404-405) esta bacteria es resistente a varios antibióticos dentro de los cuales están las penicilinas. La resistencia bacteriana constituye uno de los mayores problemas no solo a nivel local sino a nivel mundial, dicha resistencia se desarrolla no solo por selección natural sino también por mutaciones de las bacterias al azar; el problema de salud radica en que las personas no pueden controlar las enfermedades infecciosas y esto aumenta la morbi-mortalidad, reduce la efectividad terapéutica y esto produce costos a nivel de salud en general (Calderón y Aguilar, 2016: p.758).

3.4. Check list

Tabla 20-3: Frecuencias y porcentajes de la evaluación sanitaria para los locales de comida rápida.

OBJETO DE EVALUACION	ASPECTOS A EVALUAR	FRECUENCIA/PORCENTAJE	
		NO	SI
NEGOCIO	Cumple con Registro/ Permiso	0 0 %	20 100 %
	Vestimenta limpia y de color claro	14 70 %	6 30 %
VENDEDOR	Cabello recogido con red	3 15 %	17 85 %
	Guantes limpios	18 90 %	2 10 %
	Accesorios	2 10 %	18 90 %
	Manipula a la vez dinero	17 85 %	3 15 %
	Limpieza y buen estado de insumos, envases	11 55 %	9 45 %
PREPARACION	Lavado con agua circulante y jabón	9 45 %	11 55 %
	Transporte higiénico	10 50 %	10 50 %
TRANSPORTE	Transporte adecuado que evita la contaminación	13 65 %	7 35 %
	Material desechable/inalterable, lavado con agua circulante	0 0 %	20 100 %
COMERCIALIZACION	Envases de papel o plástico de primer uso	0 0 %	20 100 %
	Sillas y mesas limpias en buen estado	9 45 %	11 55 %
	Depósito para desperdicio, fácil de limpiar, con tapa y funda plástica.	1 5 %	19 95 %
	No arrojan a la vía pública desperdicios o aguas de lavado	1 5 %	19 95 %
	Desagües con tapas y rejilla libre de basura	10 50 %	10 50 %
	No se permiten mascotas en el puesto y alrededores	18 90 %	2 10 %
	Control permanente de vectores	0 0 %	20 100 %

Fuente: MSP, 2016, pp.12-26.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

En la tabla 19-3 se puede observar el resultado del cumplimiento del check list para la evaluación sanitaria de los 20 negocios de comida rápida muestreados; el resultado indica que 37,78% NO cumple y el 62,22% SI cumple con los ítems evaluados. Cabe resaltar que el 100% de los negocios cumplen con el reglamento para el control sanitario de alimentos que se expenden en la vía pública. La Comercialización presenta el mayor cumplimiento con 75,62%. Mientras en NO cumplimiento el transporte tiene 57,5%, el vendedor el 54%, preparación 50%, y comercialización el 24,38%, estos no cumplimientos son importantes ya que se evidencia la posible causa que podría ser la falta de

conocimiento de la importancia de la higiene en la venta de alimentos y el difícil acceso del agua. En un estudio realizado en Colombia reportaron que la falta de disponibilidad para lavarse las manos y pobre conocimiento de higiene los cuales se correlacionaron con una inadecuada preparación de alimentos y las prácticas de los vendedores de alimentos (Barbosa, 2016, p.20).

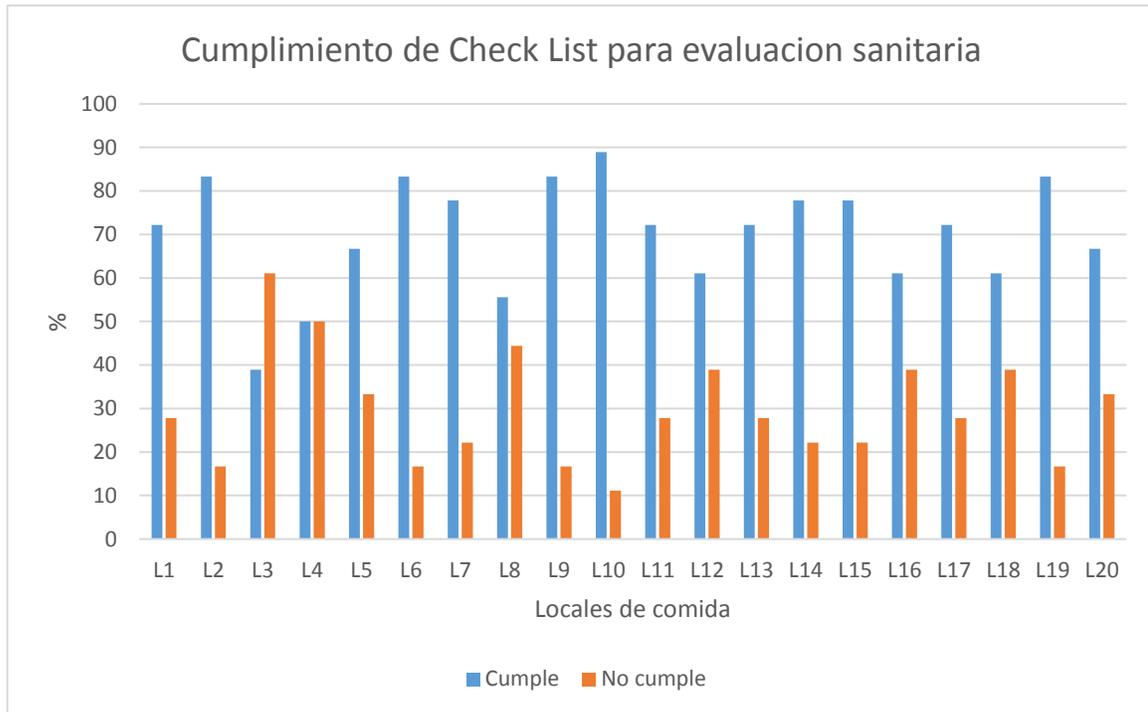


Gráfico 3-3: Cumplimiento (%) de la evaluación sanitaria para los locales de comida rápida.

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

En los resultados individuales presentados en el gráfico 4-3, se identifican puntos críticos de control, la evaluación sanitaria del negocio L3 es inaceptable, presentando un riesgo para la salud del consumidor, mientras que los locales L2, L6, L9, L10 y el L19 reportan mayor cumplimiento por lo tanto la mejor evaluación sanitaria del grupo; de todos los locales analizados ninguno presenta un óptimo cumplimiento, condición necesaria para aminorar y en el mejor de los casos eliminar cualquier fuente de daño para la salud del consumidor.

3.5. Asociación de variables

La aplicación del estadístico de χ^2 entre los ítems de las variables: vendedor, preparación, transporte y comercialización y los resultados de los análisis físico-químicos, y microbiológicos, determino las siguientes asociaciones:

Tabla 21-3: Pruebas Chi-cuadrado

OBJETO DE EVALUACION	VARIABLES RELACIONADAS	gl	Chi ² Significacion asintotica (bilateral)
Vendedor	Vendedor manipula los alimentos y el dinero a la vez (NO, SI), y <i>Salmonella spp</i> (presencia, ausencia)	1	0,015
	Sillas y mesas limpias en buen estado (NO, SI), y <i>S.saprofítico</i> a 0 y 15 días (presencia, ausencia)	1	0,043
Comercialización	Arrojan a la vía publica desperdicios o aguas de lavado (SI, NO), y <i>S. aureus</i> UFC, día 0	10	0,029
	Arrojan a la vía publica desperdicios o aguas de lavado (SI, NO), y <i>S. aureus</i> UFC, día 15	8	0,010

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021.

Los resultados de las pruebas de Chi² para un nivel de confianza $\alpha=0,05$ entre las variables indicadas en la tabla 21-3 señalan asociación entre ellas, de manera que:

La manipulación del dinero mientras el vendedor está sirviendo los alimentos se asocia con la presencia de *Salmonella spp* ($0,015 < 0,05$).

En la etapa de comercialización:

- Si las sillas y mesas están o no limpias y en buen estado se asocia con la presencia o ausencia de *S. saprofítico* ($0,043 < 0,05$), es entendible que se repita este valor en el día 0 y en el día 15 puesto que solo se determina presencia o ausencia y no se realiza conteo.
- El arrojar o no, a la vía publica desperdicios o aguas de lavado se asocia con la cantidad de *S. aureus*, resaltando en el día 0 de los análisis una asociación menos fuerte ($0,029 < 0,05$) que al día 15 ($0,010 < 0,05$); este crecimiento se debe a que las bacterias crecen y se dividen hasta el nivel máximo a una velocidad constante talvez porque existen nutrientes suficientes para su crecimiento.

Si bien en el análisis de los 20 negocios, las muestras de sus aceites en donde procesan papas fritas, no se determina estadísticamente otras asociaciones entre las variables, es preocupante la presencia en unos casos y el incremento en otros, de microorganismos.

Comprobación de Hipótesis

Hipótesis 1: El 60% de los negocios de comida rápida cumplen con el check list.

Los 20 negocios de comida rápida cumplen con el 62,22% del check list.

Se acepta la Hipótesis 1.

Hipótesis 2: La caracterización físico-química y bacteriológica cumple con las normativas

Tabla 22-3: Comparación de resultados y sus diferentes normas.

Análisis Físico-Químico	Norma	Rango de la norma	Media	Mínimo	Máximo	Cumplimiento
Ph	INEN-ISO 10523	-	7,20	5,99	7,89	-
Temperatura °C	INEN-ISO 10523	-	18,57	18,15	19,25	-
Sólidos totales disueltos mg/L	INEN-ISO 10523	-	0,00	0,00	0,00	-
Conductividad µs	INEN-ISO 10523	-	0,10	0,10	0,10	-
Densidad relativa	Norma para aceites vegetales especificados, Codex alimentarius 2019	0,840-0,960	,9145	,8902	,9728	No cumple
Índice de acidez mg/g	NMX-F-101-SCFI-2012	0.2-1,5	1,778	1,178	2,413	No cumple
Índice de peróxido	Norma para grasas y aceites comestibles , Codex Alimentarius 2015	Hasta 10 meq	31,60	3,00	119,00	No cumple
Análisis Microbiológico	Norma	Rango de la norma	Media 0 días/ 15 días	Mínimo 0 días/ 15 días	Máximo 0 días/15 días	Cumple
Aerobios Mesófilos	(DIGESA-V.01, 2003)	Hasta 1000 UFC/g	1,285/1,725	0,1/0,2	2,9/3,9	No cumple
Staphylococcus aureus	(DIGESA-V.01, 2003)	Hasta 10 UFC /g	41,15/43,6	3,8/3,8	8,2/8,7	No cumple
Salmonella	(DIGESA-V.01, 2003)	Ausencia	-	-	-	No cumple
Coliformes totales	(DIGESA-V.01, 2003)	Menor a100	-	-	-	Cumple
E.coli	(DIGESA-V.01, 2003)	Menor a 3	-	-	-	Cumple

Realizado por: Pilco, Fátima, 2021

Se rechaza la Hipótesis 2, porque la caracterización físico-química y bacteriológica de las muestras NO cumple el 100% con las normativas,

Hipótesis 3: Al menos dos variables de estudio tienen relación, e influyen en la salud del consumidor.

Para comprobar esta hipótesis, se plantean la hipótesis alternativa (Ha), y la hipótesis nula Ho.

Ha: Al menos dos variables de estudio SI tienen relación, e influyen en la salud del consumidor

Ho: Al menos dos variables de estudio NO tienen relación, e influyen en la salud del consumidor.

Las asociaciones determinadas con el estadístico χ^2 entre las variables indicadas (tabla 21-3) conducen a rechazar el Ho, por lo tanto, se acepta:

Ha: Al menos dos variables de estudio SI tienen relación, e influyen en la salud del consumidor.

Se ha encontrado tres variables asociadas, resaltando que el factor tiempo incide en la relación de las variables: Arrojan a la vía pública desperdicios o aguas de lavado y *S. aureus* en el día 0 y en el día 15.

El aumento de la carga microbiana a través del tiempo es importante ya que al a ver mayor contenido de microorganismos puede causar daño a la salud del consumidor produciendo ETAS, puesto que suele utilizarse los aceites desechados de frituras para alimentación de animales e incluso en la panificación lo que acontecería posibles enfermedades ya que la estabilidad del aceite no es el adecuado ya que puede darse la presencia de bacterias y causar posibles enfermedades (Franco, 2011, p.5).

Hipótesis 4: La sensibilidad determinada en los organismos patógenos detectados facilita la protección de la salud del consumidor.

Se acepta la Hipótesis 4, puesto que se ha determinado en las muestras analizadas que:

Muestran sensibilidad a varios antibióticos, el *S. aureus* es sensible a Tetraciclina, Gentamicina y Cloranfenicol; *Salmonella spp* es sensible a Amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 μ g y Amikacina 30 μ g; *Chromobacterium spp* es sensible a Amikacina 30 μ g y Gentamicina 10 μ g.

CONCLUSIONES

Se concluye que las muestras de los aceites vegetales usados para fritura de papas, en los negocios de comida rápida de las parroquias Lizarzaburo, Veloz y Yaruquíes de la ciudad de Riobamba no presentan calidad satisfactoria en los parámetros físico-químicos y microbiológicos establecidos en normas, los resultados de los análisis sustentan que su consumo con los alimentos indicados es un riesgo para la salud de los consumidores, presentan deterioro de sus propiedades y son foco de contaminación, su frecuente consumo bajo condiciones inadecuadas conllevan probabilidad de desarrollar cáncer e infecciones bacteriológicas.

Esta investigación planteo hipótesis para verificar la calidad de los aceites vegetales usados:

En la primera hipótesis se planteó que el 60% de los negocios de comida rápida cumplen con el check list, ha sido aceptada, ya que se confirma que el 62,22% de los negocios si cumplen con los ítems evaluados.

La segunda hipótesis: la caracterización físico-química y bacteriológica cumple con las normativas, se rechazó. Los resultados indican altos valores para el parámetro índice de peróxido, en nueve locales el índice de acidez sobrepasa los valores permisibles, es decir que esos aceites están en los primeros procesos de oxidación, ya sea por el recipiente en que se guarda, por la temperatura, por el contacto con el aire, por la presencia de agua en la fritura, o por el número de frituras; el valor del pH en todas las muestras es neutro lo que posibilita el desarrollo de bacterias. El análisis bacteriológico detecto presencia de bacterias en las 20 muestras analizadas, como aerobios mesófilos, en donde en el día 0 de análisis, 11 locales sobrepasaron el valor máximo permitido por la norma, en el día 15 su número de carga bacteriana fue más elevada teniendo 14 locales fuera del rango esto se atribuye a la manipulación de los alimentos y a prácticas inadecuadas observadas en algunos locales. El *Staphylococcus coagulasa* positiva es el agente etiológico más detectado en los resultados de las muestras analizadas con presencia en 12 de los locales analizados y con cantidades extremadamente altas respecto a los valores permisibles, concluyendo que ninguno de los alimentos expendidos en estos puestos se encuentra apto para el consumo humano, al comparar el crecimiento a los 0 días y a los 15 días en las muestras, se observa un ligero aumento en el número de microorganismos, estos resultados también están fuera del rango permitido, la presencia de este microorganismo se debe a las condiciones higiénico sanitarias deficientes de cada local. No se encontró Coliformes totales, ya que estos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico. Se encontró la presencia de *Salmonella spp* solo en un local de los 20 analizados, a los 15 días se volvió a encontrar esta bacteria en la misma muestra, asociando su presencia a las condiciones higiénico sanitarias del local específicamente a la manipulación del dinero mientras el vendedor está sirviendo los alimentos. De los 20 locales

analizados 8 de ellos tienen presencia de *Pseudomonas*, entre las cuales están *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomona maltofila*, *Pseudomona aeruginosa* su presencia se puede deber a una mala manipulación de los alimentos, pudiéndose dar una contaminación cruzada, o, los recipientes de guardado no están en óptimas condiciones.

En la tercera hipótesis se planteó: Al menos dos variables de estudio tienen relación, e influyen en la salud del consumidor, es aceptada. Estadísticamente se establece una relación entre las condiciones higiénico sanitarias empleadas en cada local con la presencia de bacterias como *S. aureus*, *Salmonella spp*, *S. saprofítico*. Al menos dos variables de estudio SI tienen relación, e influyen en la salud del consumidor, se ha encontrado tres variables asociadas, resaltando que el factor tiempo incide en la relación de las variables.

La cuarta hipótesis, enuncia: La sensibilidad determinada en los organismos patógenos detectados facilita la protección de la salud del consumidor, es aceptada. La evaluación a la resistencia y sensibilidad de los diferentes organismos patógenos presentes en las 20 muestras, indica que es factible aplicar un tratamiento adecuado frente una infección bacteriana ya que muestran sensibilidad frente a la mayoría de los antibióticos utilizados.

RECOMENDACIONES

Se recomiendan controles microbiológicos de forma periódica en los locales de comida rápida, impartir capacitación sobre manipulación de alimentos y manejo adecuado de los aceites vegetales usados en frituras, realizar estudios sobre la calidad de los AVUs a cargo de la academia y del departamento municipal correspondiente, ya que las condiciones pueden variar, a fin de prevenir posibles problemas en la salud de los consumidores. Socializar los resultados de esta investigación, como la sensibilidad frente a antibióticos de los microorganismos identificados a expendedores, consumidores y el sistema de salud.

GLOSARIO

Enfermedades transmitidas por alimentos: Un acontecimiento en el que dos o más personas muestran una enfermedad semejante después de haber consumido un alimento y apuntando al alimento como el origen de la enfermedad según los análisis epidemiológicos (OPS, 2021, párr.1).

Número más probable (NMP): Se usa cuando una evaluación cuantitativa de células individuales no es factible, esta es una estrategia eficaz de apreciación de densidades poblacionales, basándose en la determinación de presencia o ausencia en duplicados de diluciones consecutivas de microorganismos presentes en las diferentes muestras (García, 2014, párr.1).

Potencial hidrógeno (pH): Es una medida para determinar el grado de acidez o alcalinidad de una disolución (Hanna Instruments, 2020, párr.2).

Unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g): Es una unidad de medida que permite cuantificar microorganismos viables (Hongos o bacterias) presente en una muestra capaces de multiplicarse en condiciones controladas (Mateo, 2019, p.1).

BIBLIOGRAFÍA

ABILÉS, J., RAMÓN, A., MORATALLA, G., PÉREZ, R., MORÓN, J. & AYALA, A. “Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio”. *Nutrición Hospitalaria* [en línea], 2009,(España) 24 (4), pp. 473-478. [Consulta: 01 de Enero del 2021]. ISSN 02121611. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi0hYCKv_nqAhWvnOAKHYFABTkQFjAAegQIAxAB&url=https%3A%2F%2Fwww.re-dalyc.org%2Fpdf%2F3092%2F309226747012.pdf&usg=AOvVaw3-M2_JRnFgr8jSQrXoXPsY

ALARCÓN, M., OYARZO, C., ESCUDERO, C., CERDA, F. & VALENZUELA, F. “Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos”. *Revista médica de Chile* [en línea], 2017, (Chile) 145 (12), pp. 1559-1564. [Consulta: 10 de julio del 2021]. ISSN 0034-9887. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rmc/v145n12/0034-9887-rmc-145-12-1559.pdf>

ÁLVAREZ BENITO, Victoria; et al. *Manual de Técnicas en Microbiología Clínica*. 2da ed. Madrid: Asociación Española de Farmacéuticos Analistas, 1995, pp. 7-305

ANMAT. *Análisis microbiológico de los alimentos* [en línea]. 2011. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiK1ev67Y7yAhXLSjABHYf2BXoQFjACegQIGhAD&url=http%3A%2F%2Fwww.anmat.gov.ar%2Frenaloea%2Fdocs%2FAnalisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_I.pdf&usg=AOvVaw0yhv_8K0obW7cf7WYpO3q-

ANMAT. *Microorganismos indicadores* [en línea]. 2014. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiSiJ-egpTyAhURQTABHdOYCPcQFjAAegQIBRAD&url=http%3A%2F%2Fwww.anmat.gov.ar%2Frenaloea%2Fdocs%2F analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf&usg=AOvVaw3A3lbAg-raSyWrwV_dCuu2R

ANMAT. *Enfermedades Transmitidas Por Alimentos* [en línea]. 2015. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjR6_D0q7DqAhWkmOAKHTirDCYQFjAEegQIAxAB&url=http%3A%2F%2Fwww.anmat.gov.ar%2FAlimentos%2FETA.pdf&usg=AOvVaw28qmoGIMzP9KMLucajPw3W

ARANGO PARRADO, Nataly. Análisis de la calidad del aceite de mezclas vegetales utilizado en doce frituras sucesivas empleado para freír papa sabanera tipo francesa [en línea] (Trabajo de titulación). Pontificia Universidad Javeriana, Ciencias, Nutrición y diética. Bogota-Colombia. 2015. pp. 13-42. [Consulta: 2021-05-20]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8794/tesis739.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ASTUDILLO RUBIO, Gabriela. Evaluación del deterioro del aceite vegetal en la preparación de papas fritas [en línea] (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de Azuay. Cuenca-Ecuador. 2018. pp. 01-28. [Consulta: 2021-05-17]. Disponible en: <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/7818/1/13616.pdf>

AYALA RAMIREZ, María. Evaluación de la calidad del aceite de mezclas vegetales utilizado en doce frituras sucesivas empleado para freír plátano hartón verde [en línea] (Trabajo de titulación). Pontificia Universidad Javeriana, Ciencias, Nutrición y diética. Bogota-Colombia. 2011. pp. 13-39. [Consulta: 2021-05-25]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8796/tesis740.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BADUI, S. *Química de los Alimentos* [en línea]. 4 Edición. México: PEARSON Educacion, 2010. [Consulta: 27 julio 2021]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjsv93vg5TyAhUcSjABHetDB9IQFjAAegQIAxAD&url=http%3A%2F%2Ffitscv.edu.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2F2019%2F06%2FQUIMICA-DE-LOS-ALIMENTOS-4ta-Edicion.pdf&usg=AOvVaw0pBWw54XvUELD21n55-2in>

BAÑO, Mónica. Incidencia de microorganismos patógenos (escherichia coli) en la contaminación microbiológica de comidas preparadas en el mercado central de la ciudad de Ambato [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Ambato, Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Ambato-Ecuador. 2014. pp. 04-59. [Consulta: 2021-05-25]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3379/1/P118%20Ref.3089.pdf>

BARBOSA MUÑOZ, Gina. Descripción de las condiciones higiénico sanitarias de la venta callejera de alimentos del parque Nacional – Bogotá D.C [en línea] (Trabajo de titulación). Pontificia Universidad Javeriana, Ciencias, Nutrición y diética. Bogota-Colombia. 2012. pp. 09-29. [Consulta: 2021-05-25]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/12016/BarbosaMunozGinaTatiana2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BARLANDAS, N., QUINTANA, S., NÁJERA, J., VILLANUEVA, N., CRUZ, E., MAYA, P., & TORRES, F. “Farmacorresistencia de bacterias no fermentadoras de prioridad crítica aisladas en Chilpancingo, Guerrero”. *Revista Mexicana de Patología Clínica* [en línea], 2019, (México) 66(4), pp. 221-226. [Consulta: 13 agosto del 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2019/pt194f.pdf>

BARRERO, L. *Microbiología Clínica* [en línea]. Madrid- España: Editorial Síntesis, 2017. [Consulta: 27 julio 2021]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwibmNmEypbyAhVPTTABHeh5Ah8QFnoECBoQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.sintesis.com%2Fdata%2Findices%2F9788490773185.pdf&usg=AOvVaw0F5kTQfVLbzq0E-gLirL0t>

BARRETO, M., CASTILLO, M., & RETAMAL, P. “Salmonella enterica: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile”. *Revista Chilena de Infectología* [en línea], 2016, (Chile) 33(5), pp. 547-557. [Consulta: 01 Enero del 2021]. ISSN 0716-1018. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v33n5/art10.pdf>

BERNAL, I. *Análisis de alimentos* [en línea]. 3 Edición. Bogota- Colombia: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1998. [Consulta: 27 julio 2021]. Disponible en: <https://repositorio.acefyn.org.co/bitstream/001/54/1/ACCEFVN-AC-spa-1998-Analisis%20de%20alimentos..pdf>

BUSH, Larry y VASQUEZ, Maria. *Infecciones por pseudomonas y patogenos relacionados* [blog]. [Consulta: 27 julio 2021]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-ec/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-pat%C3%B3genos-relacionados>

CÁCERES GALLEGOS, Carlos. & GUILLEN MALDONADO, Andrea. Evaluación de la calidad microbiológica de espumillas y empanadas de viento de venta ambulante en los espacios públicos de la ciudad de Cuenca [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Cuenca, Ciencias Químicas, Bioquímica y Farmacia. Cuenca- Ecuador. 2018. pp. 17-49. [Consulta: 2021-01-05]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/30687/1/trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.pdf>

CALERO, V., CALERO, J., ARMIJOS, J. & TROYA, G. “La resistencia antimicrobiana: situación actual”. *Recimundo* [en línea], 2019, (Ecuador) 3 (2), pp. 307-323. [Consulta: 01 de Enero del 2021]. ISSN 2588-073X. Disponible en: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/447/523>

CALDERÓN, G., & AGUILAR, L. “Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad”. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica* [en línea], 2016, (Costa rica) 83(621), pp. 757-763. [Consulta: 17 de julio del 2021]. ISSN:22155201. Disponible en: <http://revistamedicacr.com/index.php/rmcr/article/download/51/36>

CAMPUZANO, S., MEJÍA FLÓREZ, D., MADERO IBARRA, C. & PABÓN SÁNCHEZ, P. “Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C”. *Scielo* [en línea], 2015, (Colombia) 13 (23), p. 81. [Consulta: 05 de Enero del 2021] ISSN 1794-2470. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>

CARBAJAL, Á. *Manual de nutrición y dietética* [en línea]. 2013. [Consulta: 01 de Enero del 2021]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiimZupwvbqAhVDdt8KHbW4CD8QFjABegQIBRAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ucm.es%2Fdata%2Fcont%2Fdocs%2F458-2013-07-24-cap-6-grasas.pdf&usg=AOvVaw06-HS9BRmfCKtvjI2ainU2>

CASTELLANO, M. & PEROZO, A. “Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*”. *Kasmera* [en línea], 2010,(Venezuela) 38 (1), pp. 18-35. [Consulta: 13 de agosto del 2021]. ISSN 0075-5222. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/km/v38n1/art03.pdf>

CIAPPINI, M., GATTI, M., CABRERISO, M. & CHAÍN, P. “Modificaciones fisicoquímicas y sensoriales producidas durante las frituras domésticas sobre aceite de girasol refinado y aceite de oliva virgen extra”. *Invenio: Revista de investigación académica* [en línea], 2016,(Argentina) 19 (37), pp. 153-161. [Consulta: 01 de Enero del 2021]. ISSN 0329-3475. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiKi5O7-47yAhXxRjABHcQvCtEQFjAAegQIBRAD&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5662211.pdf&usg=AOvVaw3y6N1B1Blq3cTfkzcp-HG6>

CXS 210-1999. *Norma para aceites vegetales especificados.*

CODEX STAN 19-1981. *Norma para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales.*

DELGADO SÁNCHEZ, Camila. Impacto del uso de aceites vegetales en la calidad nutricional de alimentos funcionales: revisión de literatura [en línea] (Trabajo de titulación). Pontificia Universidad Javeriana, Ciencias, Nutrición y diética. Bogota-Colombia. 2019. pp. 13-43. [Consulta: 2021-01-13]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/43693/Tesis%20de%20grado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

DIGESA-V.01. *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.*

ECURED. *Streptococcus viridans* [blog]. 2020. [Consulta: 07 julio 2021]. Disponible en: https://www.ecured.cu/index.php?title=Streptococcus_viridans&oldid=3621232

ESQUIVEL, A., CASTAÑEDA, A. & RAMÍREZ, J. “Cambios químicos de los aceites comestibles durante el proceso de fritura. Riesgos en la salud”. *PÁDI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI* [en línea], 2014, (México) 2 (3), pp. 4-9. [Consulta: 01 de Enero del 2021]. ISSN 2007-6363. Disponible en: <https://www.uaeh.edu.mx/scige/boletin/icbi/n3/e3.html>

FENNEMA, O. *Química de los alimentos*. 3 Edición. Zaragoza-España, 2011. [Consulta: 02 de julio del 2021]. Disponible en:

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiE3cOCi5TyAhUfVzABHbfHD2EQFjAEegQIBhAD&url=https%3A%2F%2Fsceqa.files.wordpress.com%2F2014%2F05%2Fquc3admica-de-los-alimentos-fennema.pdf&usg=AOvVaw30Ccc5QE2QfSAbX4hmWu7T>

FERNÁNDEZ, F. “Aspectos microbiológicos de los estreptococos del grupo viridans”. *SEIMC* [en línea], 2002, (España), pp. 1-7. [Consulta: 13 de agosto del 2021]. Disponible en:

<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/SGVirid.pdf>

FESNAD. *Consenso sobre las grasas y aceites* [en línea]. 2014. [Consulta: 07 de julio del 2021]. . Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi75puTjZTyAhVgSzABHXijA2AQFjAAegQIBRAD&url=https%3A%2F%2Fwww.fesnad.org%2Fresources%2Ffiles%2FPublicaciones%2FConsenso_sobre_las_grasas_y_aceites_2015.pdf&usg=AOvVaw3lQJX00UZ9kre5BCix_E8H

FLORES, Victor. *Rancidez oxidativa en lipidos* [blog]. 2011. [Consulta: 11 julio 2021]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/rancidezoxidativaenlipidos1/home/valor-de-peroxido>

FRANCO, Daniel. *Aplicaciones de Aceites y Grasas* [en línea]. 2011. [Consulta: 25 Enero 2021]. Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwicoGqlpvAhVpVTABHdMRBwUQFnoECACQAw&url=http%3A%2F%2Fwww.alimentosargentinos.gob.ar%2FHomeAlimentos%2FAceites%2520y%2520Oleaginosas%2FInformes%2FAplicacionesAceitesGrasas_2011_11Nov.pdf&usg=AOvVaw2on3M8ETXUrg_CJKHhK4FG

GALARZA SÁNCHEZ, Katherine. Evaluación microbiológica de alimentos adquiridos en la vía pública del mercado de lima entre mayo 2017 y junio 2018 [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Norbert Wiener, Farmacia y Bioquímica. Lima- Perú. 2018. pp. 13-43. [Consulta: 2021-01-05]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/123456789/2656/TESIS%20%20Galarza%20Katherine.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

GARCÍA HYLARY, Quistián. *Número más probable (NMP)* [blog]. 2014. [Consulta: 20 julio 2021]. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/numero-mas-probable-nmp.html>

GARCINUÑO, R. “Contaminación de los alimentos durante los procesos de origen y almacenamiento”. *Aldaba* [en línea], 2017, (España) (36), pp. 51-63. [Consulta: 01 Enero 2021]. ISSN 0213-7925. Disponible en: <http://revistas.uned.es/index.php/ALDABA/article/view/20530/17019>

GAY, A. *Nutrición* [en línea]. Secretaria General Técnica, 2018. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=pPVKDwAAQBAJ&pg=PA120&lpg=PA120&dq=La+comida+rápida+es,+hoy+en+día,+una+comida+muy+consumida+gracias+a+sus+intensos+sabores,+su+palatabilidad,+y+su+facilidad+para+adquirirla,+si+bien+este+tipo+de+alimento+conlleve+una+>

GOMAYRI. *Parroquias rurales de Riobamba* [en línea]. 2018. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponile en: <https://www.goraymi.com/es-ec/chimborazo/riobamba/mapas/parroquias-riobamba-ahholvemu>

GUANANGA, N., GUANANGA, F., CONDO, L., SORIA, V & TORRES, S. “Evaluation of the Vegetal Oil Used Domestic of the City of Riobamba”. *International Journal of Current Research and Academic Review* [en línea], 2018, (Ecuador) 6 (7), pp. 42-51. [Consulta: 01 Enero 2021]. ISSN: 2347-3215. Disponible en: [http://www.ijcrar.com/6-7-2018/Nelly I. Guananga D, et al.pdf](http://www.ijcrar.com/6-7-2018/Nelly%20I.%20Guananga%20D,%20et%20al.pdf)

GUEVARA, A., SALOMÓN, M., OLIVEROS, M., GUEVARA, E., GUEVARA, M.Y MEDINA, Z. “Sepsis por *Chromobacterium violaceum* pigmentado y no pigmentado”. *Revista chilena de infectología* [en línea], 2007, (Chile) 24 (5), pp. 402-406. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 0716-1018. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v24n5/art10.pdf>

HANNA INSTRUMENTS. *¿Qué es el pH?* [blog]. 2020. [Consulta: 20 julio 2021]. Disponible en: <https://www.hannacolombia.com/blog/post/447/que-es-el-ph>

HERNANDEZ, R., FERNANDEZ, C., & BAPTISTA, P. *Metodología de la investigación* [en línea]. Sexta edición. Colonia Desarrollo Santa Fé, México D.F-México:McGRAW-HILL / Interamericana editores, 2017. [Consulta: 23 Enero 2021]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiquJSqkY_yAhUDQzABHfMuAPYQFjABegQIBBAD&url=https%3A%2F%2Fwww.uca.ac.cr%2Fwp-content%2Fuploads%2F2017%2F10%2FInvestigacion.pdf&usg=AOvVaw0S6BhGROt3pwwqwyBTJ1Q

HERRERA HEREDIA, Sandra. Mecanismos de resistencia a antimicrobianos de aislamientos clínicos de *Stenotrophomonas maltophilia* en dos hospitales de tercer nivel de México [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciencias Biológicas, Microbiología. Monterrey-México. 2017. pp. 01-96. [Consulta: 2021-07-20]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwii1cXWwJjyAhUlszEKHSUqBCAQFnoECAsQAw&url=http%3A%2F%2Fprints.uanl.mx%2F14459%2F1%2F1080252236.pdf&usg=AOvVaw3Ip2x6q8M1PZtLmYpREN70>

HERRERA,M.,CATARINELLA,G., MORA,D., OBANDO, C & MOYA, T. “*Chromobacterium violaceum* Sensibilidad Antimicrobiana”. *Scielo* [en línea], 2005, (Costa Rica) 40(1), pp. 5-8. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 1017-8546. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rmhnn/v40n1/3566.pdf>

HUERTAS, V & LACAYO, M “Neumonía por *Stenotrophomonas maltophilia*”. *Acta Médica Costarricense* [en línea], 2005, (Costa Rica) 56(1), pp. 27-30. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 0001-6002. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v56n1/art06v56v1.pdf>

INNAWONG, B., MALLIKARJUNAN, P., IRUDAYARAJ, J., & MARCY, J. “The determination of frying oil quality using Fourier transform infrared attenuated total reflectance”. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* [en línea], 2004, 37(1), pp. 23-28. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 0023-6438. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643803001208?via%3Dihub>

JARA SANTAMARÍA, Verónica. Efecto antibacteriano del agua de plata sobre cuatro cafeterías de un centro de educación superior [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Católica del Ecuador, Microbiología. Quito-Ecuador. 2016. pp. 14-42. [Consulta: 2021-07-10]. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10937/VERO%20JARA%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

JIMÉNEZ, F., GARRO, L., RODRÍGUEZ, E. & ZELEDÓN, Z. “Evaluación de la presencia de bacterias en alimentos y en el ambiente de una sección de oncología de un hospital nacional, San José, Costa Rica”. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* [en línea], 2004, (Costa Rica) 54(3), pp. 303-307. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 0004-0622. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000300008

LABORATORIO BRITANIA. *Agua Peptonada* [en línea]. 2018. [Consulta: 2021-07-16]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/6239708/agua-peptonada---laboratorios-britania>

LABORATORIO BRITANIA. *E.M.B (con eosina y azul de metileno)* [en línea]. 2020a. [Consulta: 2021-07-16]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjRg4-NypjyAhXaSjABHTg8AygQFnoECAIQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.britanialab.com%2Fback%2Fpublic%2Fupload%2Fproductos%2Fupl_5e42adf0a6261.pdf&usg=AOvVaw0Ia6OLLEAy8S QG9Na8j231

LABORATORIO BRITANIA. Kligler Hierro Agar [en línea]. 2021a. [Consulta: 2021-07-16].

Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiLv5GxyJjyAhV1TDABHYKwCZYQFnoECAUQAaw&url=https%3A%2F%2Fwww.britanialab.com%2Fback%2Fpublic%2Fupload%2Fproductos%2Fupl_60706c3393e51.pdf&usg=AOvVaw3W8is3CXcv2INsWUzylQqp

LABORATORIO BRITANIA. *Manitol Salado Agar* [en línea]. 2020b. [Consulta: 2021-07-16].

Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjTl7bYypjyAhUnSjABHVaxAWcQFnoECAQQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.britanialab.com%2Fback%2Fpublic%2Fupload%2Fproductos%2Fupl_5e42a03c9f65c.pdf&usg=AOvVaw0AWRp8LoCoNoSGtSIWcdVA

LABORATORIO BRITANIA. *Recuento en Placa Agar* [en línea]. 2021b. [Consulta: 2021-07-16]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/5332528/recuento-en-placa-agar---laboratorios-britania>

Laboratorios Britania. *Salmonella shigella agar* [en línea]. 2020c. [Consulta: 2021-07-16].

Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi_lsXcyZjyAhW8SDABHWkfb-4QFnoECA8QAaw&url=https%3A%2F%2Fwww.britanialab.com%2Fback%2Fpublic%2Fupload%2Fproductos%2Fupl_5e42a1696350a.pdf&usg=AOvVaw1HQYrI0Fakj1YGFRIImRmr

LABORATORIO BRITANIA. *Verde Brillante Bilis 2% Caldo Uso* [en línea]. 2021c. [Consulta: 2021-07-16]. Disponible en:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjUII_ZxpjyAhUjRjABHS4xA4gQFnoECAMQAaw&url=https%3A%2F%2Fwww.britanialab.com%2Fback%2Fpublic%2Fupload%2Fproductos%2Fupl_6054e8cd82576.pdf&usg=AOvVaw3QjGW3vzOtrTs5KUub46au

LÁZARO VELA, María. Alteraciones de los aceites vegetales durante la fritura [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Sevilla, Farmacia. Sevilla- España. 2018. pp. 14-42. [Consulta: 2021-07-10].

Disponible en:

https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/82324/TFG_MariaLazaro.pdf?sequence=1&isAllowed=y

MATEO, Israel. *Conteo bacteriano* [en línea]. 2019. [Consulta: 20 julio 2021]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/437675026/Cuestionario>

MARTINEZ, M. & MAESTRI, D. *Aceites vegetales no tradicionales: guía para la producción y evaluación de calidad.* [en línea]. Córdoba- Argentina: Encuentro Grupo Editor, 2016. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: https://elibro.net/es/ereader/espoch/77036?fs_q=aceite__vegetal&prev=fs

MSP. *Reglamento Para El Control Sanitario De Alimentos Que Se Expenden En La Vía Pública* [en línea]. 2016. [Consulta: 2021-05-16]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjZ_g_ZPyAhXMRzABHUECAadoQFjAAegQIBRAD&url=https%3A%2F%2Fwww.controlsanitario.gob.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2Fdownloads%2F2016%2F12%2FA-14381-Control-de-alimentos-que-se-expenden-en-vi%25CC%2581a-pu%25CC%2581blica.pdf&usg=AOvVaw1PS7dTimbn98waLmi9kqtA

MEDINA, Gilma. *Aceites y Grasas comestibles* [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Antioquia, Farmacia. Medellín- Colombia. 2010. pp. 01-25. [Consulta: 2021-05-16]. Disponible en: <https://silo.tips/download/aceites-y-grasas-comestibles>

MONAR, D. *Índice de consumo de comida chatarra en Riobamba.* [en línea]. 2014. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: <https://prezi.com/db1clk6ajtwq/indice-de-consumo-de-comida-chatarra-en-riobamba/>

MONTES, N., MILLAR, I., PROVOSTE, R., MARTÍNEZ, N., FERNANDEZ, D., MORALES, G. & VALENZUELA, R. “Absorción de aceite en alimentos fritos”. *Revista Chilena de Nutrición* [en línea], 2016, (Chile) 43(1), pp. 87-91. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 0717-7518. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v43n1/art13.pdf>

MOREJÓN, M., SALUP, R. & CUÉ, M. “Actualización en tetraciclinas”. *Revista Cubana de Farmacia* [en línea], 2003, (Cuba) 37 (3), p.1. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 1561-2988. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152003000300008

MSP. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos ecuador, SE 30. *Gaceta Epidemiologica* [en línea]. 2019. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/11/gaceta_ETAS_SE_23.pdf.

NOUR, V., CORBU, A.R., ROTARU, P., KARAGEORGOU, I. & LALAS, S. “Effect of carotenoids, extracted from dry tomato waste, on the stability and characteristics of various vegetable oils”. *Grasas y Aceites* [en línea], 2018, (Estados Unidos) 69 (1), pp. 1-12. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN-L: 0017-3495. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323949770_Effect_of_carotenoids_extracted_from_dry_tomato_waste_on_the_stability_and_characteristics_of_various_vegetable_oils

NMX-F-101-SCFI-2012. *Alimentos – aceites y grasas vegetales o animales – determinación de ácidos grasos libres - método de prueba.*

NTE INEN 1529-5: 2006. *Control microbiológico de alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos Aerobios mesófilos.Rep.*

NTE INEN 1529-14:2013. *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. recuento en placa de siembra por extensión en superficie.*

NTE INEN 35. 1973-08. *Grasas y aceites comestibles. Determinación de la densidad relativa.*

NTE INEN-ISO 10523. *Determinación de pH.*

OLMOS, A., GARCÍA, C., SAÉZ, J. & RAMOS, S. *Procedimientos en Microbiología Clínica.* [en línea]. España: Seimc, 2011. [Consulta: 10 julio 2021]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiCl8mbzpjyAhWJRzABHf7XBrIQFnoECAgQAw&url=https%3A%2F%2Fseimc.org%2Fcontenidos%2Fdocumentoscientificos%2Fprocedimientosmicrobiologia%2Fseimc-procedimientomicrobiologia37.pdf&usg=AOvVaw3ffATzUn-D58mZeWTuD8TD>

OMS. *Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria* [en línea]. Ginebra, 2015. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>

OMS. *Salmonelosis* [en línea]. 2018. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

OMS. *Inocuidad de los alimentos* [en línea]. 2020a. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

OMS. *Resistencia a los antibióticos* [en línea]. 2020b. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>

OMS. *Resistencia a los antimicrobianos.* [en línea]. 2020c. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>.

OMS. *E.coli.* [en línea]. 2021. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

OPS. *Enfermedades transmitidas por alimentos.* [en línea]. 2021. [Consulta: 17 julio 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>

PAHO. *Peligros biológicos Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario - HACCP.* [en línea]. 2015. [Consulta: 18 julio 2021]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=en

PAHO. *Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos* [en línea]. [Consulta: 18 julio 2021]. 2014. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjB0MDM2p3yAhUrRTABHYcUDcQQFnoECAUQAaw&url=https%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fhq%2Fdocuments%2Fmanual-manipuladores-alimentos-2014.pdf&usg=AOvVaw2vMEok9tVMPULPXfo6fWLz>

PAZ OJEDA, Néstor. Efectos nocivos por aceites recalentados y hábitos alimentarios de frituras en alumnos del III y IV ciclo de la facultad de Ciencias Farmaceuticas y Bioquímica de la UIGV [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Ciencias Farmacéuticas. Lima-Perú. 2018. pp. 08-94. [Consulta: 2021-01-16]. Disponible en: http://168.121.45.184/bitstream/handle/20.500.11818/2987/TESIS_%20N%c3%89STOR%20ALBERTO%20PAZ%20OJEDA.pdf?sequence=2&isAllowed=y

PEREZ, J., USECHE, M., ISEA, F. & CUELLO, M. “Evaluación de la Hepatitis A como enfermedad transmitida por alimentos en Ecuador durante el 2015”. *Cumbres* [en línea], 2017, (Ecuador) 3 (1), pp. 25-32. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 1390-9541(p) | 1390-3365(e). Disponible en: <http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres/article/view/62/49>

PUIG, Y., ESPINO, M. & LEYVA, V. “Resistencia antimicrobiana en Salmonella y E. coli aisladas de alimentos: revisión de la literatura”. *Panorama Cuba y Salud* [en línea], 2011, (Cuba) 6 (1), pp. 30-35. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 1991-2684. Disponible en: <http://www.revpanorama.sld.cu/index.php/panorama/article/view/74>

QUESADA, A., REGINATTO, G., RUIZ, A., COLANTONIO, L. & BURRONE, M. “Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano”. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* [en línea], 2016, (Perú) 33 (1), pp. 32-44. [Consulta: 13 agosto 2021]. ISSN 1726-4634. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v33n1/a05v33n1.pdf>

QUILES, J., RAMÍREZ, C., GÓMEZ, A., HUERTAS, J. & MATAIX, J. “Role of vitamin E and phenolic compounds in the antioxidant capacity, measured by ESR, of virgin olive, olive and sunflower oils after frying”. *Food Chemistry* [en línea], 2002, (España) 76 (4), pp. 461-468. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 03088146. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwju6v_9tvnqAhWhVN8KHbVdDpgQFjAAegQIBhAB&url=http%3A%2F%2Fhera.ugr.es%2Fdoi%2F15087219.pdf&usg=AOvVaw02Xlxf8tyjzpFAJKKtbut8

RADICE, M., MARÍN, M., GIOVANAKIS1, M., VAY, C., ALMUZARA, M., LIMANSKY, A., CASELLAS, J., FAMIGLIETTI, A., QUINTEROS, M., BANTARI, C., GALAS, M., KOVENSKY, J., NICOLA, F., PASTERÁN, F., SOLOAGA, R. & GUTKIND, G. “Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica: recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas, Asociación Argentina de Microbiología”. *Revista Argentina de Microbiología* [en línea], 2011, (Argentina) 43, pp. 136-156. [Consulta: 27 de julio del 2021]. ISSN 0325-7541. Disponible en: <https://www.infobioquimica.com/radio/img/reportecaso02.pdf>

RAMOS MASACHE, Grace. Determinación de microorganismos presentes en las espumillas del Centro Histórico de Quito [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Central del Ecuador, Ciencias Químicas, Química en Alimentos. Quito-Ecuador. 2019. pp. 03-57. [Consulta: 2021-01-07]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19302/1/T-UCE-0008-CQU-159.pdf>

RIVERA, Y., GUTIÉRREZ, C., GÓMEZ, R., MATUTE, M. & IZAGUIRRE, C. “Cuantificación del deterioro de aceites vegetales usados en procesos de frituras en establecimientos ubicados en el Municipio Libertador del Estado Mérida”. *Ciencia e Ingeniería* [en línea], 2014, (Venezuela) 35 (3), pp. 157-164. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 1316-7081. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=507550626005>

RODRÍGUEZ, P. y ARENAS R. “Hans Christian Gram y su tinción”. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*[en línea], 2018, (México) 16 (2), pp. 166-167. [Consulta: 27 julio 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>

RODRÍGUEZ, H., BARRETO, G., SEDRÉS, M., BERTOT, J., MARTÍNEZ, S. & GUEVARA, G. “Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio”. *Revista Electronica de Veterinaria* [en línea], 2015, (España) 16 (8), pp. 01-27. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 16957504. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63641401002>

RUIZ, Porfirio. *Pseudomonas aeruginosa, P. putida, P. fluorescens; Morfología, medios de cultivo, enfermedades y más* [blog]. 2021. [Consulta: 20 julio 2021]. Disponible en: <http://microbitosblog.com/2015/04/28/pseudomonas-aeruginosa-p-putida-p-fluorescens-morfologia-medios-de-cultivo-enfermedades-y-mas/>

RUIZ, M., COLELLO, R., PADOLA, N.L. & ETCHEVERRÍA, A. “Inhibitory capacity of *Lactobacillus* spp. against pathogens involved in foodborne diseases”. *Revista Argentina de Microbiología* [en línea], 2017, (Argentina) 49 (2), pp. 174-177. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 03257541. Disponible en: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S032575411630116X?token=ECAC63A30455F58BF9A51A0C1CE73709EAC208C9F8D0D5AFEEDAC48B6C7F6C4B3CE69232C8AB407D0F1ECE4A998BBFD6&originRegion=us-east-1&originCreation=20210804054309>

SCHETTINI GUERRA, Diego. Estudio sobre los hábitos de consumo de aceites vegetales en los hogares de la ciudad de Quito [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Tecnológica Equinoccial, Ciencias Económicas y Negocios. Quito-Ecuador. 2013. pp. 06-81. [Consulta: 2021-05-15]. Disponible en: http://repositorio.ute.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/123456789/8771/53530_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y

SEIJA, V. *Género Staphylococcus* [en línea]. 2006.[Consulta: 10 julio 2021]. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiRorj6-ZjyAhXSRDABHQjMATQQFnoECAQQAaw&url=http%3A%2F%2Fwww.higiene.edu.uy%2Fcefa%2F2008%2FStaphylococcus.pdf&usg=AOvVaw0YAY0L5SYI80MpdDrLvbH>

SENASA. Guía de Buenas Prácticas de Higiene para la Empresa Alimentaria. [en línea]. [Consulta: 01 Enero 2021]. pp. 2-33. 2013 Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwidtJHJ34PrAhXIY98KHUdrAf0QFjABegQICxAE&url=http%3A%2F%2Fwww.senasa.gob.cr%2Fsenasa%2Fsitio%2Ffiles%2F161013055555.pdf&usg=AOvVaw2T-Lzs8e4ubsr9vb75y3qj>

SOTO, Z., PÉREZ, L. & ESTRADA, D. “Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en Colombia”. *Salud Uninorte* [en línea], 2016, (Colombia) 32 (1), pp. 105-122. [Consulta: 27 julio 2021]. ISSN 0120-5552. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwid9PDSjY_yAhX7GFkFHbfID-wQFjABegQIBBAD&url=http%3A%2F%2Fwww.scielo.org.co%2Fpdf%2Fsun%2Fv32n1%2Fv32n1a10.pdf&usg=AOvVaw03l4HrzdXQrVsFsGqV5n0u

SUATERN, A. “La fritura de los alimentos: el aceite de fritura”. *Perspect. Nutr. Hum* [en línea], 2009, (Colombia) 11 (1), pp. 39-53. [Consulta: 10 junio 2021]. ISSN 0124-4108. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/penh/v11n1/v11n1a4.pdf>

VALENZUELA, A. “Acidos grasos con isomeria trans I. Su origen y los efectos en la salud humana”. *Revista Chilena de Nutricion* [en línea], 2008, (Chile) 35 (3), pp. 162-171. [Consulta: 08 junio 2021]. ISSN 07177518. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182008000300001

VALLEJO, L., SAMANIEGO, C., BUENAÑO, C. & MOROCHO, J. “Causas de la economía informal en el cantón Riobamba, 2018”. *KnE Engineering* [en línea], 2020, (Ecuador) 2020, pp. 370-391. [Consulta: 08 enero 2021]. DOI 10.18502/keg.v5i2.6255. Disponible en: <https://knepublishing.com/index.php/KnE-Engineering/article/view/6255/11626>

TUBI, Jeffrey. *Parroquias urbanas de Riobamba* [en línea]. [Consulta: 01 Enero 2021]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/141608979/Parroquias-Urbanas-Riobamba>

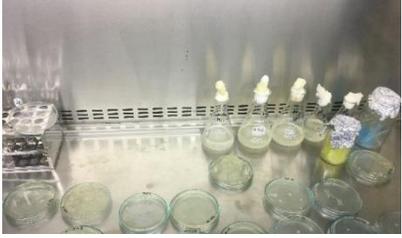
ANEXOS

ANEXO A: CHECK LIST- GUÍA DE EVALUACIÓN SANITARIA PARA PUESTOS DE EXPENDIO AMBULATORIOS DE ALIMENTOS PREPARADOS

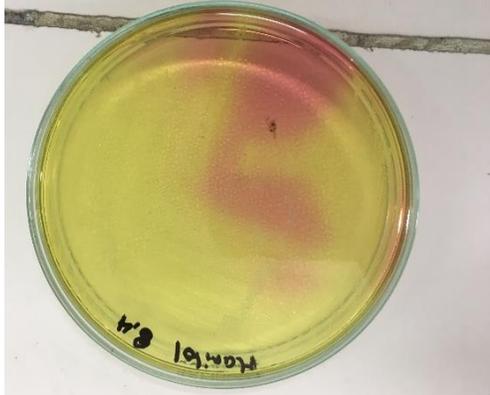
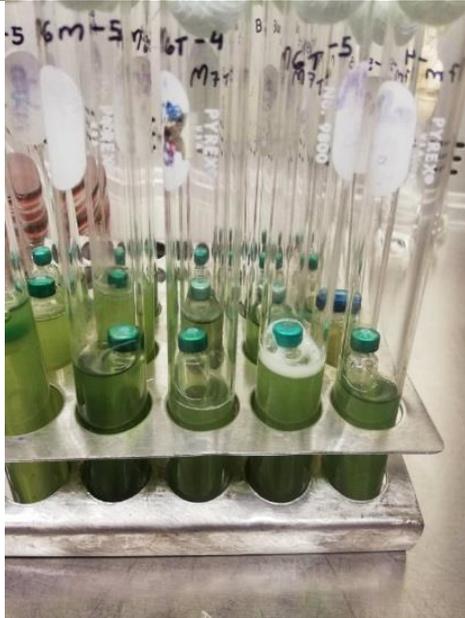
Guía de evaluación Sanitaria para puestos de expendio ambulatorios de alimentos preparados. (Comida rápida)		
	NO CUMPLE	SI CUMPLE
¿Posee registro-permiso sanitario de venta, otorgado por la Municipalidad?		
DEL VENDEDOR:		
Vestimenta apropiada: delantal o mandil que cubra la ropa usual, preferiblemente blanco o de colores claros limpios y en buen estado de presentación.		
Cabello corto o recogido, cubierto por un gorro o redecilla.		
Uso de guantes limpios		
No portar anillos, pulseras ni reloj.		
No debe manipular alimentos y dinero en forma conjunta		
LA PREPARACIÓN:		
Las materias primas deberán guardarse en envases adecuados y en buen estado de conservación y limpieza.		
Para el lavado de utensilios se utilizará agua potable circulante y jabón, desechando el uso de baldes y recipientes con agua sin renovar.		
TRANSPORTE:		
El transporte de alimentos se realizará en condiciones higiénicas y de temperatura que garanticen la conservación e inocuidad de los mismos.		
El vehículo o medio de transporte es adecuado		

para proteger los alimentos de la contaminación.		
COMERCIALIZACIÓN:		
Los alimentos se despachan, utilizando material desechable, caso contrario debe ser en material inalterable y lavado con agua potable circulante y jabón después de cada utilización.		
En caso de utilizarse papel o plástico para el expendio, deberá ser de primer uso.		
Sillas y mesas limpias y en buen estado.		
SANEAMIENTO		
El expendedor dispone de un depósito para los desperdicios y será de material de fácil limpieza, con tapa y con una funda plástica para facilitar su eliminación.		
El expendedor no puede arrojar a la vía pública desperdicios o agua de lavado.		
Desagües con tapa y rejilla con buen funcionamiento y libres de basura.		
No se permite la presencia de animales domésticos en el puesto, cerca de él o en sus alrededores.		
Es responsabilidad del vendedor, en coordinación con las autoridades de salud correspondiente, realizar un control permanente de vectores (moscas, cucarachas, roedores, etc.)		
Evaluador: Fátima de los Ángeles Pilco Morocho	Firma:	

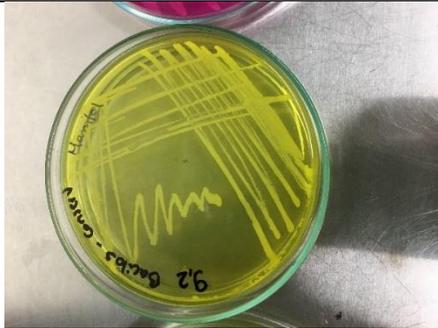
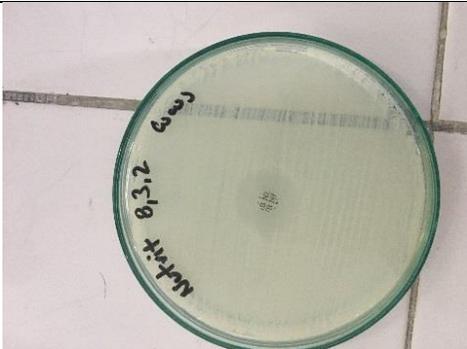
ANEXO B: IMÁGENES DEL PROCEDIMIENTO.

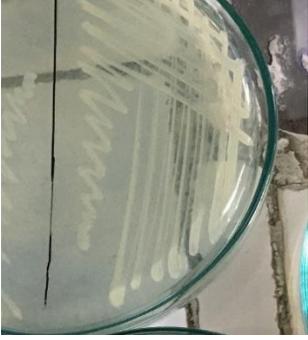
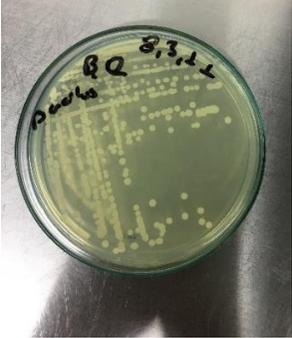
Análisis Físico – Químico	
	
Titulación para el índice acidez	Peso del picnometro con el aceite para la densidad
	
Titulación para el índice de peroxido	Análisis fisico con el multiparametrico
Análisis Microbiológico	
	
Dilución de la muestra madre	Tinción Gram
	
Aislamiento y Purificación de bacterias en diferentes medios	Identificación microscópica de bacterias

ANEXO C: RESULTADOS EN MEDIOS DE CULTIVO.

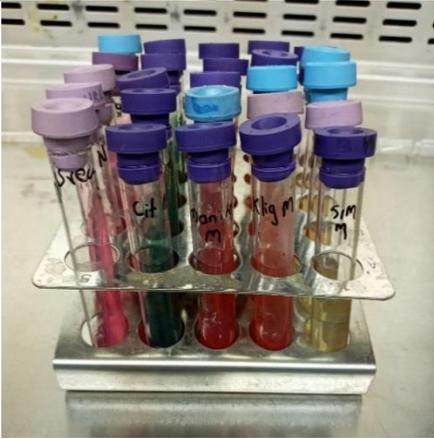
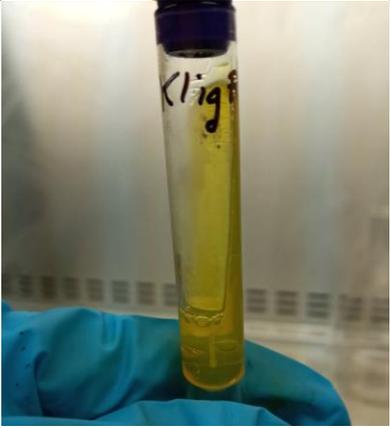
	
<p>Recuento de Aerobios mesófilos.</p>	<p>Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en agar manitol</p>
	
<p>Técnica NMP para Coliformes</p>	

ANEXO D: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS.

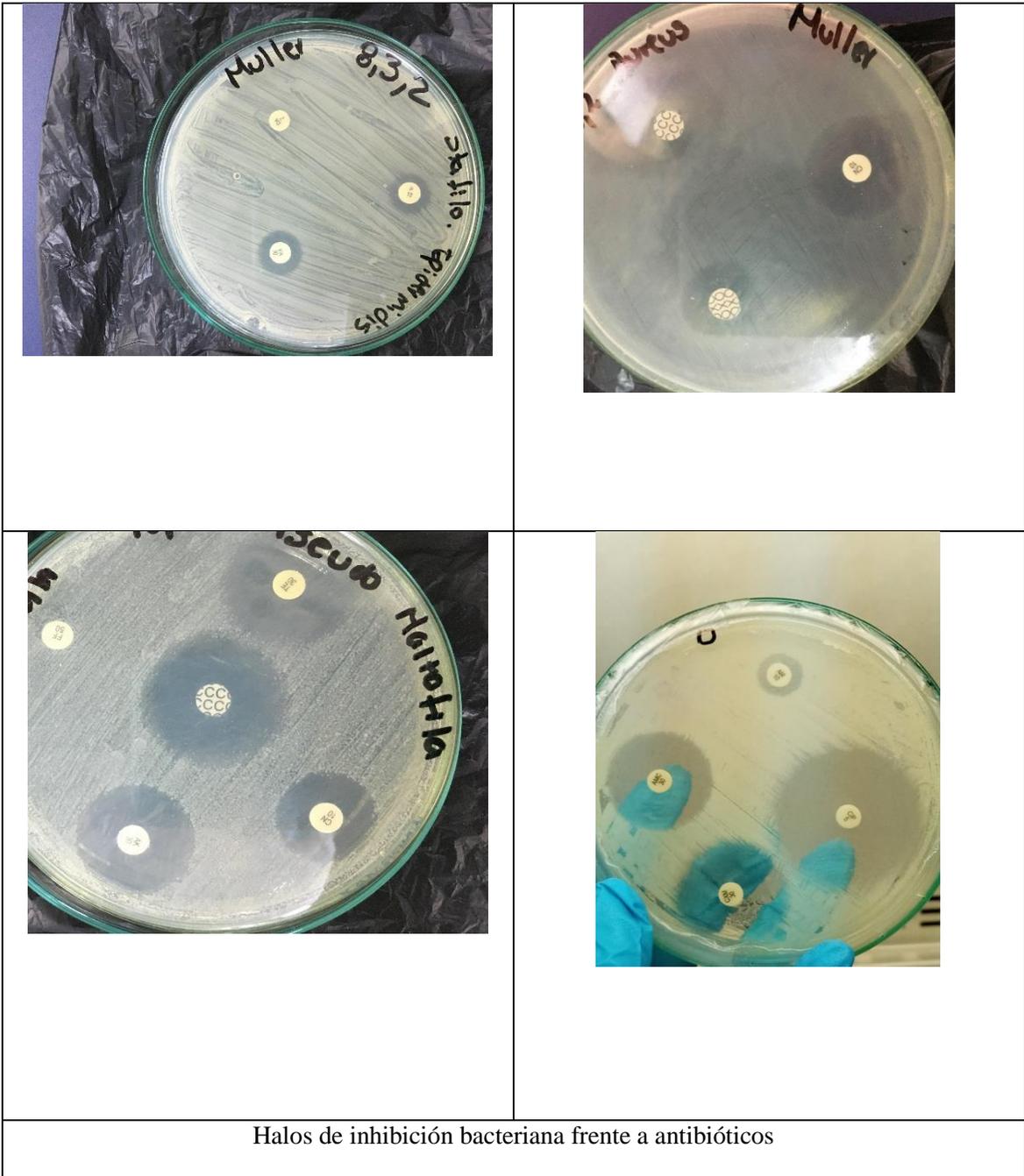
Identificación de Bacterias.	
	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> sensible a la novobiocina	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
	
<i>Salmonella spp.</i>	

	
<p><i>Pseudomona Maltofila</i></p>	<p><i>Pseudomona Aeruginosa</i></p>
	
<p><i>Pseudomona fluorecences</i></p>	<p><i>Chromobacterium spp.</i></p>

ANEXO E: PRUEBAS BIOQUÍMICAS.

	
<p>Pruebas bioquímicas</p>	<p>Kligler</p>

ANEXO F: ANTIBIOGRAMA.



ANEXO G: NORMA INEN 35. GRASA Y ACEITES COMESTIBLES. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

CDU 665.3



AL 02.07-301

Norma Ecuatoriana	GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA	INEN 35 1973-08
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método del picnómetro para determinar la densidad relativa a 25/25°C de las grasas y aceites vegetales o animales.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 <i>Densidad relativa a 25/25°C, (d_{25}^{25})</i>. Es la relación entre la masa de un volumen dado de una sustancia a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a 25°C.</p> <p style="text-align: center;">3. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>3.1 La temperatura ambiente del lugar donde se calibre el picnómetro o se realice la determinación, deberá ser menor de 25°C.</p> <p>3.2 Durante la calibración del picnómetro y durante la determinación de la densidad relativa, el picnómetro no deberá entrar en contacto directo con las manos del operador.</p> <p>3.3 Inmediatamente después de cada determinación, el picnómetro deberá vaciarse y sumergirse durante varias horas en una solución crómica preparada de la manera siguiente:</p> <p>3.3.1 Disolver 45 g de dicromato de sodio en 100 cm³ de agua destilada y agregar, con mucho cuidado, 1000 cm³ de ácido sulfúrico concentrado.</p> <p>3.3.2 La solución crómica no debe contener dicromato de sodio suspendido o sin disolver.</p> <p>3.4 Luego de la inmersión en la solución crómica, el picnómetro deberá enjuagarse cinco veces en corriente de agua y dos veces en agua destilada, para asegurar una total eliminación del cromato. A continuación, deberá lavarse varias veces con alcohol etílico, luego con éter etílico, y secarse completamente para eliminar los vapores de éter.</p> <p>3.5 El picnómetro deberá calibrarse, dependiendo del uso, con intervalos de tiempo suficientes para asegurar exactitud en la determinación. En casos de litigio o discrepancia, el picnómetro deberá calibrarse inmediatamente antes de la determinación.</p> <p>3.6 Cada determinación deberá efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.</p>		

4. INSTRUMENTAL

- 4.1 *Picnómetro tipo Gay-Lussac, de 50 cm³.* Para productos líquidos a 25°C puede usarse un picnómetro que tenga termómetro incorporado.
- 4.2 *Baño de agua,* con regulador de temperatura, ajustado a $25^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.
- 4.3 *Estufa,* con regulador de temperatura.
- 4.4 *Termómetro,* con divisiones de $0,1^{\circ}$ ó $0,2^{\circ}\text{C}$.
- 4.5 *Balanza analítica,* sensible a 0,1 mg.

5. PREPARACION DE LA MUESTRA

- 5.1 Sí la muestra es líquida y presenta aspecto claro y sin sedimento, homogeneizarla invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.
- 5.2 Si la muestra es líquida y presenta aspecto turbio o con sedimento, colocar el recipiente que la contiene en una estufa a 50°C; mantenerlo allí hasta que la muestra alcance tal temperatura, y proceder de acuerdo con lo indicado en 5.1. Si luego de calentar y agitar, la muestra no presenta un aspecto claro y sin sedimento, filtrarla dentro de la estufa a 50°C. El filtrado no debe presentar ningún sedimento.
- 5.3 Si la muestra es sólida o semisólida, proceder de acuerdo con lo indicado en 5.2, pero calentándola (y filtrándola si es necesario) a una temperatura comprendida entre 40° y 60°C (la suficiente para fundir la muestra completamente).

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Calibración del picnómetro

- 6.1.1 Lavar el picnómetro (ver 4.1) de acuerdo con lo indicado en 3.3 y 3.4; llenarlo completamente con agua destilada recién hervida y enfriada hasta 20°C, y tapanlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación, sumergirlo en el baño de agua a $25^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ y mantenerlo allí durante 30 min.
- 6.1.2 Remover cuidadosamente cualquier porción de agua que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con algún papel absorbente adecuado (si el capilar tiene cubierta, se la coloca después de esta operación). Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m_1 .

(Continúa)

6.1.3 Vaciar el picnómetro y enjuagarlo varias veces con alcohol etílico y luego con éter etílico; dejarlo secar completamente y, junto con todas sus partes, pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m .

6.2 Determinación para aceites o grasas líquidas a 25 °C.

6.2.1 Llenar completamente el picnómetro (limpio y seco) con la muestra preparada (ver 5.2) y llevada a 23°C y taponarlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación, sumergirlo en el baño de agua a 25°C ± 0,2°C y mantenerlo allí durante 30 min.

6.2.2 Remover cuidadosamente cualquier porción de muestra que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con algún papel absorbente adecuado (si el capilar tiene cubierta, se la coloca después de esta operación). Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m_2 .

6.3 Determinación para grasas sólidas o semisólidas a 25°C

6.3.1 Calentar el picnómetro de Gay-Lussac (limpio y seco) en estufa a 40° - 50°C durante 15 min y llenarlo (evitando humedecer el cuello del picnómetro) hasta aproximadamente la mitad con la muestra preparada y fundida de acuerdo con 5.3, (es conveniente realizar esta operación dentro de la estufa). Sacarlo de la estufa, dejarlo enfriar a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg junto con su tapa (y la cubierta del capilar si la hubiere); registrar el resultado como m_3 .

6.3.2 Llenar completamente el picnómetro (lleno de muestra hasta la mitad) con agua destilada recién hervida y enfriada hasta 20°C, y taponarlo cuidadosamente evitando la inclusión de burbujas de aire. A continuación, sumergirlo en el baño de agua a 25 ± 2°C y mantenerlo allí durante 30 min.

6.3.3 Remover cuidadosamente cualquier porción de agua que haya exudado el capilar; sacar el picnómetro del baño y secarlo con algún papel absorbente adecuado (si el capilar tiene cubierta, colocarla después de esta operación). Enfriarlo a temperatura ambiente durante 30 min y pesarlo con aproximación a 0,1 mg; registrar el resultado como m_4 .

7. CALCULOS

7.1 Para los aceites y grasas líquidas a 25 °C, la densidad relativa a 25/25°C se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{25} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

siendo:

d_{25} = densidad relativa a 25/25°C.

m = masa del picnómetro vacío, en g.

m_1 = masa del picnómetro con agua destilada, en g.

m_2 = masa del picnómetro con muestra, en g.

7.2 Para las grasas sólidas o semisólidas a 25°C, la densidad relativa a 25/25 °C se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{25} = \frac{m_3 - m}{(m_1 - m) - (m_4 - m_3)}$$

siendo:

d_{25} = densidad relativa a 25/25°C.

m = masa del picnómetro vacío, en g.

m_1 = masa del picnómetro con agua destilada, en g.

m_3 = masa del picnómetro con muestra (hasta la mitad), en g.

m_4 = masa del picnómetro con muestra y agua destilada, en g.

7.3 Cuando se conoce la densidad relativa a $t/25^\circ\text{C}$ de un aceite o grasa vegetal, la densidad relativa a 25/25°C se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{25} = d_t + 0,00064 (t - 25)$$

siendo:

d_{25} = densidad relativa a 25/25°C.

d_t = densidad relativa a $t/25^\circ\text{C}$.

t = temperatura de referencia de la sustancia, en °C.

0,00064 = corrección promedia para 1°C

8. ERRORES DE METODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,0005; en caso contrario debe repetirse la determinación.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a milésimas.

9.2 En el informe de resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

ANEXO H: NORMA INEN 38. GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ.



Norma Ecuatoriana	GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES DETERMINACION DE LA ACIDEZ	INEN 38 1973-08
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar la acidez o el índice de acidez en las grasas y aceites animales o vegetales.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 <i>Acidez.</i> Es, en una grasa o aceite, el contenido de ácidos grasos libres, expresado convencionalmente como gramos de ácido oleico, laúrico o erúxico por cada 100 g de sustancia.</p> <p>2.2 <i>Índice de acidez.</i> Es el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en 1 gramo de grasa o aceite.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Se disuelve una cantidad determinada de grasa o aceite en una mezcla de alcohol etílico y éter dietílico, y se titulan los ácidos grasos libres con una solución de hidróxido de sodio o de potasio.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Matraces Erlenmeyer</i> de 250 cm³ y 500 cm³.</p> <p>4.2 <i>Buretas</i>, graduadas con divisiones de 0,1 cm³.</p> <p>4.3 <i>Balanza analítica</i>, sensible a 0,1 mg.</p> <p style="text-align: center;">5. REACTIVOS</p> <p>5.1 <i>Mezcla (1:1) de alcohol - éter.</i> Mezclar un volumen de éter dietílico con un volumen igual de alcohol etílico al 95 % (V/V).</p> <p>5.2 <i>Solución 0,1 N de hidróxido de sodio o de potasio</i>, debidamente estandarizada.</p> <p>5.3 <i>Solución 0,5 N de hidróxido de sodio o de potasio</i>, debidamente estandarizada.</p>		

5.4 *Solución indicadora de fenolftaleína.* Disolver 1 g de fenolftaleína en 100 cm³ de alcohol etílico al 95 % (V/V).

5.5 *Solución indicadora de azul alcalino 6B.* Disolver 2 g de azul de alcalino 6B en 100 cm³ de alcohol etílico al 95 % (V/V).

6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Si la muestra es líquida y presenta aspecto claro y sin sedimento, homogeneizarla invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

6.2 Si la muestra es líquida y presenta aspecto turbio o con sedimento, colocar el recipiente que la contiene en una estufa a 50°C; mantenerlo allí hasta que la muestra alcance tal temperatura, y proceder de acuerdo con lo indicado en 6.1. Si luego de calentar y agitar, la muestra no presenta aspecto claro y sin sedimento, filtrarla dentro de la estufa a 50°C. El filtrado no debe presentar sedimento.

6.3 Si la muestra es sólida o semisólida, proceder de acuerdo con lo indicado en 6.2 pero calentándola (y filtrándola si es necesario) a una temperatura comprendida entre 40°C y 60°C (la suficiente para fundir la muestra completamente).

7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

7.2 Transferir 300 cm³ de la mezcla (1:1) de alcohol - éter a un matraz Erlenmeyer; añadir 1 cm³ de solución indicadora de fenolftaleína (o de azul alcalino 6B, si la muestra es de color oscuro) y agregar, agitando enérgicamente, solución 0,1 N de hidróxido de sodio o de potasio hasta que aparezca un color rosado que persista durante aproximadamente 30 segundos (o hasta que haya cambio del color rojo al azul, si el indicador es azul alcalino 6B). Esta cantidad de muestra neutralizada es suficiente para realizar los dos ensayos de la determinación.

7.3 Sobre un matraz Erlenmeyer de 250 cm³ pesar, con aproximación a 0,01 g, una cantidad de muestra preparada comprendida entre 5 g y 10 g si el producto es crudo, o entre 50 g y 60 g si el producto es refinado.

7.4 Agregar 100 cm³ (o más si la solución no queda perfectamente clara) de la mezcla (1:1) de alcohol - éter neutralizada de acuerdo con 7.2, y titular los ácidos grasos libres con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio o de potasio hasta alcanzar el punto final correspondiente al indicador (coloración rosada persistente durante aproximadamente 30 segundos si es fenolftaleína, o viraje del rojo al azul si es azul alcalino 6B). La solución debe agitarse enérgicamente durante la titulación. El volumen de solución 0,1 N empleado en la titulación debe ser menor de 20 cm³; en caso contrario debe usarse la solución 0,5 N de hidróxido de sodio o de potasio.

(Continúa)

8. CALCULOS

8.1 La acidez se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$A = \frac{M.V.N.}{10.m}$$

siendo:

- A = acidez del producto, en porcentaje de masa.
- M = masa molecular del ácido usado para expresar el resultado (ver 8.2).
- V = volumen de la solución de hidróxido de sodio o de potasio empleado en la titulación, en cm^3 .
- N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio o de potasio.
- m = masa de la muestra analizada, en g.

8.2 Las masas moleculares de los ácidos empleados para expresar los resultados (ver 10.1) son las siguientes:

Acido láurico	200
Acido palmítico	256
Acido oleico	282
Acido erúxico	338

8.3 De ser necesario, el índice de acidez puede calcularse mediante la ecuación siguiente:

$$i = \frac{56,1 V.N}{m}$$

siendo:

- i = índice de acidez del producto, en mg/g.
- V = volumen de la solución de hidróxido de sodio o de potasio empleado en la titulación, en cm^3 .
- N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio o de potasio.
- m = masa de la muestra analizada, en g.

9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2 % de la media aritmética de los dos resultados; en caso contrario debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 De acuerdo con la naturaleza de la grasa o aceite analizado, la acidez debe expresarse como porcentaje de:

- a) ácido láurico, en las grasas de coco, palma real, palmiste y similares;
- b) ácido palmítico, en la grasa de palma africana;
- c) ácido enúico, en los aceites de colza y ciertas crucíferas; o
- d) ácido oleico, en los demás casos.

10.2 Como resultado final debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación, aproximada a unidades enteras.

10.3 En el informe de resultados debe indicarse el método usado y el resultado obtenido, debe mencionarse además cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.4 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

ANEXO I: NORMA INEN 277. GRASAS Y ACEITES. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PERÓXIDO.

CDU: 665.3		AL 02.07-312
Norma Técnica Ecuatoriana	GRASAS Y ACEITES DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE PEROXIDO	INEN 277 1978-02
1. OBJ ETO		
<p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el índice de peróxido en las grasas y aceites vegetales o animales.</p>		
2. TERMINOLOGIA		
<p>2.1 <i>Índice de peróxido.</i> Es el número de miliequivalentes de oxígeno por kilogramo de muestra, determinado de acuerdo con esta norma.</p>		
3. RESUMEN		
<p>3.1 Consiste en valorar con solución de tiosulfato de sodio el yodo liberado por una cantidad determinada de muestra.</p>		
4. INSTRUMENTAL		
<p>4.1 <i>Pipeta de Mohr</i>, de 1 cm³ de capacidad.</p>		
<p>4.2 <i>Matraz Erlenmeyer</i>, de 250 cm³ con tapa esmerilada.</p>		
<p>4.3 <i>Balanza analítica</i>, sensible al 0,1 mg.</p>		
5. REACTIVOS		
<p>5.1 <i>Solución de ácido acético y cloroformo.</i> Mezclar tres volúmenes de ácido acético glacial con dos volúmenes de cloroformo.</p>		
<p>5.2 <i>Solución saturada de yoduro de potasio</i>, recientemente preparada. (Ver Anexo A).</p>		
<p>5.3 <i>Solución 0,1 N de tiosulfato de sodio</i>, debidamente estandarizada.</p>		
<p>5.4 <i>Solución de almidón.</i> Disolver 1 g de almidón soluble en agua destilada fría (formando una pasta), añadir 100 cm³ de agua hirviendo, agitar rápidamente la solución y enfriar.</p>		
6. PREPARACION DE LA MUESTRA		
<p>6.1 Si la muestra es líquida y presenta un aspecto claro y sin sedimento, se la homogeniza invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.</p>		

6.2 Si la muestra es líquida y presenta un aspecto turbio o con sedimento, se coloca el recipiente que la contiene en una estufa a 50°C; se lo mantiene allí hasta que la muestra alcance tal temperatura y se procede de acuerdo con lo indicado en el numeral **6.1**. Si, luego de calentar y agitar, la muestra no presenta un aspecto claro y sin sedimento, se la filtra dentro de la estufa a 50°C. El filtrado no debe presentar ningún sedimento.

6.3 Si la muestra es sólida o semisólida, se procede de acuerdo con lo indicado en el numeral **6.2**, pero calentándola (y filtrándola si es necesario) a una temperatura que se encuentra comprendida entre 40°C y 60°C (la suficiente para fundir la muestra completamente).

7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada (ver **7.9**).

7.2 Pesar, con aproximación a 0,1 mg, aproximadamente 5 g de muestra.

7.3 Transferir la muestra al matraz Erlenmeyer de tapa esmerilada de 250 cm³ y agregar 30 cm³ de la solución de ácido acético y cloroformo.

7.4 Agitar el matraz Erlenmeyer hasta completa disolución del contenido y luego añadir 0,5 cm³ de la solución saturada de yoduro de potasio, usando de preferencia la pipeta de Mohr.

7.5 Agitar el matraz Erlenmeyer con su contenido durante un minuto y añadir 30 cm³ de agua destilada.

7.6 Usando la solución 0,1 N de tiosulfato de sodio titular gradualmente y con agitación constante el contenido en el matraz Erlenmeyer, hasta que el color amarillo haya casi desaparecido.

7.7 Añadir 0,5 cm³ de la solución indicadora de almidón y continuar la titulación cerca del punto final, agitando constantemente para liberar todo el yodo de las capas de cloroformo. Añadir la solución de tiosulfato de sodio gota a gota, hasta que el color azul desaparezca completamente.

7.8 Si en la titulación se ha obtenido un valor menor de 0,5 cm³, repetir el ensayo usando solución 0,01 N de tiosulfato de sodio.

7.9 Realizar un solo ensayo en blanco con todos los reactivos sin la muestra y siguiendo el mismo procedimiento a partir de **7.3** para cada determinación o serie de determinaciones.

8. CALCULOS

8.1 El Índice de peróxido se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$I = \frac{vN}{m} 1000$$

Siendo:

I = Índice del peróxido en meq. de O₂ por kilogramo del producto.

v = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra, en cm³. corregido del blanco).

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

m = Masa de la muestra analizada, en g.

9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,1 meq. de O₂ por kilogramo; caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de una determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 29 / 09 / 2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Fátima de los Ángeles Pilco Morocho</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Bioquímica y Farmacia</i>
Título a optar: <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

**LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE**

Firmado digitalmente por
LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2021.09.29 11:36:46
-05'00'



1710-DBRA-UTP-2021