



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

**“RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE BOMBONES A BASE DE
GELATINA, GLUCOSA Y/O CASEÍNA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

CRISTINA ELIZABETH CARRERA CASTRO

RIOBAMBA – ECUADOR

2011

DEDICATORIA

*De todo corazón dedico el presente
trabajo a nuestro Padre Celestial por
acompañarme y bendecirme cada
día de mi vida.*

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradezco a Dios por darme la fortaleza necesaria para cumplir mis anhelos.

A mis padres quienes me han apoyado a lo largo de toda mi vida.

A mi esposo quien siempre me motivó y jamás dudó de mis destrezas.

A la Dra. Cumandá Játiva y al Dr. Carlos Pilamunga por su colaboración, asesoramiento, y apoyo incondicional.

A la Microempresa Mycucayo por su cooperación durante la realización del presente trabajo.

A mis amigos, y compañeros que estuvieron a mi lado a cada momento de mi vida estudiantil y finalmente un eterno agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que abrió sus puertas permitiendo formarme como profesional.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE BOMBONES A BASE DE GELATINA, GLUCOSA Y/O CASEÍNA**”, de responsabilidad de la señorita egresada Cristina Elizabeth Carrera Castro, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz DECANA FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Luis Guevara DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
Dra. Cumanda Játiva DIRECTORA DE TESIS	_____	_____
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Dr. Galo Insuasti MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, **Cristina Elizabeth Carrera Castro** soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

CRISTINA ELIZABETH CARRERA CASTRO

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AOAC	Association of Oficial Analytical Chemist
°C	Grados Centígrados
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
FIL	Federación Internacional de Lechería
g	Gramos
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
L	Litro
mL	Mililitro
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana
NMP	Número más probable
%	Porcentaje
%C	Porcentaje de ceniza
%ELnN	Porcentaje de extracto libre no nitrogenado
%F	Porcentaje de fibra
%G	Porcentaje de grasa
%H	Porcentaje de humedad
%R	Porcentaje de rendimiento
pH	Potencial de Hidrógeno
R.C.	Recubrimiento Comestible

REP	Recuento en placa
UFC	Unidades formadoras de colonias
UPC	Universal Product Code
UPC	Unidades propagadoras de colonias

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No 1.	Toxicidad de los Envases.....	24
Tabla No 2	Usos de Recubrimientos y Películas Comestibles.....	29
Tabla No 3	Usos tecnológicos de la caseína.....	39
Tabla No 4	Colorantes certificados para alimentos.....	49
Tabla No 5	Alimentos en los que se utiliza colorantes certificados.....	49
Tabla No 6	Proporción de ingredientes base previo a la obtención del recubrimiento comestible.....	66
Tabla No 7	Métodos utilizados en el análisis bromatológico.....	67
Tabla No 8	Métodos utilizados en el análisis microbiológico.....	68
Tabla No 9	Resultados del Análisis Proximal.....	84
Tabla No 10	Resultados de la Evaluación Sensorial Pruebas Piloto.....	86
Tabla No 11	Resultados del Análisis Organoléptico del Recubrimiento Comestible.....	88
Tabla No 12	Resultados del Análisis Microbiológico.....	89
Tabla No 13	Límite máximo de Aerobios Mesófilos en Ingredientes del R.C.....	89
Tabla No 14	Límite máximo de Coliformes fecales y <i>E. coli</i> en Ingredientes del R.C.....	90
Tabla No 15	Límite máximo de Mohos y Levaduras en Ingredientes del R.C.....	91
Tabla No 16	Tabulación Datos P.1.....	93
Tabla No 17	Tabulación Datos P.2.....	93
Tabla No 18	Tabulación Datos P.3.....	94
Tabla No 19	Tabulación Datos P.4.....	95
Tabla No 20	Tabulación Datos P.5.....	95

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No 1.	Clasificación de los colorantes.....	46
Cuadro No 2	Flujograma De Obtención de Formula Madre de R.C.....	70
Cuadro No 3	Flujograma De Proceso para la Formación de R.C. a Base de Glucosa, Gelatina y Caseína.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No 1.	Clases o niveles de envases.....	21
Figura No 2.	Funciones Selectivas y activas de películas y recubrimientos.....	29
Figura No 3.	Estructura química de la molécula de glucosa.....	34
Figura No 4.	Estructura propuesta para la organización de las micelas de caseína a partir de unas subunidades denominadas <i>submicelas</i>	36
Figura No 5.	Perfil de aminoácidos de la gelatina pura.....	40
Figura No 6.	Análisis comparativo de aerobios mesófilos de R.C.....	90
Figura No 7.	Análisis comparativo de coliformes fecales y <i>E. coli</i> del R.C.....	91
Figura No 8.	Análisis comparativo de Mohos y Levaduras del R.C.....	92
Figura No 9.	Análisis de datos P2.....	94
Figura No 10.	Análisis de datos P3.....	95
Figura No 11.	Análisis de datos P4.....	96
Figura No 12.	Análisis de datos P5.....	97

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo No. 1. Norma Técnica Equatoriana NTE: INEN 1529-5.....	109
Anexo No. 2. Procedimiento para Determinación de Coliformes Fecales y <i>E. coli</i> según NTE: INEN 1529-8.....	118
Anexo No. 3. Método de Determinación de Mohos y Levaduras, AOAC 997.02.....	122
Anexo No. 4. Encuesta.....	124
Anexo No. 5. Resultado del Examen Microbiológico del Recubrimiento Comestible.....	125
Anexo No. 6. Resultado del Análisis proximal del Recubrimiento Comestible.....	127
Anexo No. 7. Fotografías proceso y análisis del Recubrimiento Comestible.....	129

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los recubrimientos de bombones están constituidos de diversos materiales a base de plástico, aluminio, cartón y otros materiales, que incrementan el volumen de desechos contaminantes no degradables.

El costo de elaboración de bombones es alto debido a la materia prima y por el tratamiento que estos reciben con la finalidad de mejorar la presentación, en el caso de los chocolates el aroma propio del chocolate que se obtiene por mezcla de diferentes tipos de cacao y los saborizantes hacen que su aroma y sabor sean atractivo singular de este producto, la presentación visual y la envoltura en la que se han especializado cada una de las fabricas productoras han creado su sello de marca siendo este su propio material de envase, color y logotipo.

Hasta la presente fecha en el Ecuador se consumen más chocolates fabricados en otros países desmereciendo la industria nacional debido a la falta de creatividad en cuanto a envolturas que contengan materiales propios del país, siendo necesario la compra de estos materiales en el exterior produciendo egresos de rubros que disminuyen el ingreso de capital ecuatoriano. La creatividad de la microempresa Ibague de Colombia que producía a pequeña escala caramelos y dulces con envolturas comestibles pero que desconocían la composición del recubrimiento creo la necesidad de elaborar un recubrimiento comestible para bombones a base de gelatina, glucosa y/o caseína y para cumplir este cometido se planteo el determinar entre gelatina, caseína y glucosa los componentes para la elaboración de un recubrimiento comestible para bombones creando un método de obtención a través de la combinación de los ingredientes antes mencionados identificando sus propiedades bromatológicas, microbiológicas y el grado de aceptabilidad.

En este caso se elaboro recubrimientos a base de gelatina y glucosa, caseína y glucosa, obteniendo un productos que no satisfacían en cuanto a la textura y flexibilidad necesaria para recubrir un producto, por lo que se opto por una mezcla de los tres ingredientes mencionados anteriormente que tienen la textura deseada y cumplen con su función de forma manual y visual.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO	17
1.1.	ENVASE	17
1.2.	HISTORIA DEL ENVASE	18
1.3.	IMPORTANCIA DE LOS ENVASES EN LA ALIMENTACIÓN	19
1.4.	FUNCIONES DE LOS ENVASES	19
1.5.	CLASES DE ENVASES	21
1.5.1.	EMPAQUE O ENVASE PRIMARIO	21
1.5.2.	ENVASE SECUNDARIO	22
1.5.3.	ENVASE TERCIARIO DE EMBALAJE O TRANSPORTE	22
1.6.	TIPOS DE ENVASES SEGÚN EL MATERIAL	23
1.7.	TOXICIDAD EN LOS ENVASES	23
1.8.	LOS ENVASES COMO PROBLEMA ECOLÓGICO	24
1.9.	ENVASE ACTIVO	26
1.10.	RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	28
1.11.	HISTORIA DE LOS RECUBRIMIENTOS	28
1.12.	IMPORTANCIA Y FUNCIONES	28
1.13.	COMPONENTES DE RECUBRIMIENTOS	30
1.14.	FORMACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	31
1.15.	PROPIEDADES MECÁNICAS DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	32
1.16.	MATERIALES SELECCIONADOS EN LA PRESENTE INVESTIGACION	33
1.16.1.	GLUCOSA	33
1.16.2.	CASEÍNA	34
1.16.2.1.	ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DE CASEÍNA	34

1.16.2.2. ESTABILIDAD DE LAS MICELAS DE CASEÍNA	37
1.16.2.3. USOS Y APLICACIONES DE LA CASEÍNA	38
1.16.3. GELATINA	39
1.16.3.1. PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA GELATINA	41
1.16.3.2. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA GELATINA	41
1.16.3.3. GELIFICACIÓN DE UN SOL DE GELATINA	43
1.16.4. SABORISANTES	44
1.16.5. COLORANTES	44
1.16.5.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES	45
1.16.5.1.1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES POR SU ORIGEN	46
1.16.5.1.1.2. COLORANTES NATURALES	46
1.16.5.1.1.3. COLORANTES SINTÉTICOS	47
1.16.5.1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES SEGÚN SU CERTIFICACIÓN	48
1.16.6. CONSERVANTES	50
1.16.6.1. USO DE LOS CONSERVANTES	51
1.17. ANÁLISIS PROXIMAL Y/O BROMATOLÓGICO	51
1.17.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	52
1.17.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS	53
1.17.3. DETERMINACIÓN DE FIBRA	53
1.17.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA	54
1.17.5. EXTRACTO ETÉREO	54
1.17.6. EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO	54
1.18. EVALUACIÓN SENSORIAL	55
1.18.1. ATRIBUTOS SENSORIALES	55
1.18.1.1. Gusto y Sabor	55
1.18.1.2. Aroma y Olor	56
1.18.1.3. Color y Apariencia	56
1.18.1.4. Textura	57
1.19. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	57
1.19.1. MOHOS Y LEVADURAS	57
1.19.2. AEROBIOS MESÓFILOS	59
1.19.3. COLIFORMES TOTALES	59
2. PARTE EXPERIMENTAL	61

2.1.	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	61
2.2.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	62
2.2.1.	MATERIA PRIMA	62
2.2.2.	EQUIPOS	62
2.2.3.	MATERIALES	63
2.2.4.	REACTIVOS	64
2.2.5.	MEDIOS DE CULTIVO	65
2.3.	TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL	65
2.4.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	66
2.4.1.	ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	66
2.4.2.	ORGANOLÉPTICO	67
2.4.3.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	67
2.4.4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ACEPTABILIDAD DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	68
2.5.	PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	68
2.5.1.	FLUJOGRAMA DE PROCESO	70
2.5.1.1.	FLUJOGRAMA DE PROCESO PARA LA FORMACIÓN DE RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE GLUCOSA, GELATINA Y CASEÍNA.	71
2.6.	TÉCNICAS	72
2.6.1.	EXTRACCIÓN DE CASEÍNA	72
2.6.2.	ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	73
2.6.2.1.	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA (MÉTODO DE DESECACIÓN EN ESTUFA DE AIRE CALIENTE)	73
2.6.2.2.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS. MÉTODO DE INCINERACIÓN EN MUFLA	74
2.6.2.3.	DETERMINACIÓN DE FIBRA (TÉCNICA AOAC 7050)	75
2.6.2.4.	DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA (TÉCNICA AOAC 2049)	78
2.6.2.5.	DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉRTEO	81
2.6.2.6.	EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO (ELnN)	82
2.6.3.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	83

2.6.3.1. RECUENTOS DE AEROBIOS TOTALES	83
2.6.3.2. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y <i>E. coli</i>	83
2.6.3.3. DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS	83
3.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	86
3.3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	89
3.4. ACEPTABILIDAD	92
4. CONCLUSIONES.....	98
5. RECOMENDACIONES	100
6. RESUMEN	101
7. BIBLIOGRAFÍA	103
BIBLIOGRAFÍA DE LIBROS, TESIS	103
BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET	105
8. ANEXOS	109

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ENVASE

Según el CODEX ALIMENTARIUS un envase es cualquier recipiente que contiene alimentos para su entrega como un producto único, que los cubre total o parcialmente, e incluye los embalajes y envolturas. Un envase puede contener varias unidades o tipos de alimentos pre envasados cuando se ofrece al consumidor.(11)

El objetivo primordial de los envases es conservar los nutrientes y propiedades organolépticas proporcionando higiene y sanidad al producto envasado.(7)

Con la evolución de la sociedad los envases han cambiado también, reflejando nuevos requisitos y características sobre estos. Actualmente los productos que se consumen llevan envases que reflejan las necesidades presentes: facilidad de apertura, descripción del contenido y protección del mismo, buena calidad, precio razonable, etc. Incluso influye en los consumidores el aspecto, el colorido y el peso del producto. Las decisiones

de compra están influidas por las características externas de los envases. De lo anterior que la presentación, el tamaño, la facilidad de transporte, la variedad e intensidad de colores del envase influyen en el consumo de los productos respectivos. (12)

1.2. HISTORIA DEL ENVASE

Los primeros envases fueron tomados directamente de la naturaleza, como conchas de mar frutos como el coco. Posteriormente, se elaboraron artesanalmente en madera envases que imitaban la forma de esos contenedores naturales. Estos fueron reemplazados por fibras de plantas, las que tejidas constituyeron los canastos que fueron los primeros contenedores livianos a gran escala. Otro material que se usó para contenedores fue la piel de animales hace más de 10.000 años atrás y sirvieron simplemente para contener bienes necesarios para la supervivencia, especialmente alimentos y agua. Posteriormente, se fabricaron contenedores de arcilla en Siria, Mesopotamia y Egipto, donde además de su funcionalidad los contenedores fueron un medio de expresión artística que actualmente provee importante información de las culturas antiguas y sus valores. (12)

A mediados del siglo XX la gran transformación de la vida rural a la vida urbana exigió que los alimentos pudieran ser transportados desde el campo a la ciudad y pudieran mantenerse durante mayores períodos de tiempo en buen estado de conservación. Aparecen los supermercados y grandes almacenes de autoservicio donde los alimentos no podían ser manipulados individualmente desde los barriles y pesados en los mesones. Se necesitaron nuevos contenedores para adaptarse a esos cambios. Los envases de cartón y papel tuvieron una gran aceptación, ya que mantenían las cantidades pre-pesadas de café, cereales, sal y otros artículos básicos. Estos eran fáciles de almacenar, apilar y etiquetar. Mantenían los alimentos alejados de los insectos y el polvo, principales problemas que se enfrentaban con los alimentos. (12)

El siglo XX también vio nacer un nuevo material de envase, el plástico. Cuando los químicos encontraron el procedimiento para unir pequeñas moléculas orgánicas y formar

otras más grandes y pesadas, comparables a las de las resinas vegetales, se gestó el mundo de las resinas sintéticas que todos conocemos con el nombre genérico de plásticos.(12)

1.3. IMPORTANCIA DE LOS ENVASES EN LA ALIMENTACIÓN

Los envases son esenciales para promover y mantener la salud pública y el bienestar económico de toda sociedad. Colaboran de manera significativa conservando los productos que contiene, de esta manera reducen la cantidad de desechos sólidos, permitiendo el desarrollo socioeconómico y a la protección del medio ambiente.

Los envases conforman un componente esencial de los sistemas de distribución de los alimentos y contribuyen a poner una gran variedad de productos al alcance del consumidor.(7)

La existencia de producto y empaque coadyuva de manera importante a reducir el tiempo requeridos para la compra y preparación de los alimentos creando la competencia entre materiales de envase, proveedores y empacadores de alimentos, traduciéndose en la búsqueda continua de esquemas de disminución de envolturas y envases.(7)

Los envases de un solo uso proporcionan beneficios para la salud, al eliminar cualquier posibilidad de transmisión de enfermedades. A demás de contribuir con el medio ambiente al disminuir el consumo de materias primas naturales no renovables.(7)

1.4. FUNCIONES DE LOS ENVASES

La interacción del producto con el entorno podría tener como consecuencia la ruptura, contaminación, descomposición, oxidación, pérdida de humedad, y muchos otros daños ya sean de tipo mecánico, químico o biológico, por lo que las funciones de los envases son:

- **Protección física:** El contenido del envase necesita estar protegido de golpes, vibraciones, compresión, temperatura, etc.
- **Protección de barrera:** Se refiere a una barrera ante el oxígeno, vapor de agua, polvillo, etc.

La permeabilidad del envase es un factor crítico en el diseño por lo que algunos traen desecantes o absorbentes de oxígeno para ayudar a extender su vida en las estanterías. Algunos envases de alimentos mantienen una atmósfera controlada. Manteniendo el contenido, fresco, y seguro para prolongar la vida en las estanterías. (12)

Más allá de los usos básicos (contener, proteger y almacenar el producto), el envase debe cumplir con otras funciones igual de importantes como:

- Diferenciar en el anaquel: Si tenemos la oportunidad de elegir entre varias marcas, la que sea visualmente más atractiva o se distinga del resto.
- Posicionarse en la mente del consumidor: Un envase bien diseñado es aquel que por sus elementos gráficos nos dice qué tipo de producto es el que vamos a elegir.
- Medio publicitario: La competencia en el anaquel es muy cerrada y a través de la publicidad en el envase se puede influir en la preferencia del consumidor, de forma independiente a los esfuerzos publicitarios realizados en medios masivos.

Razones por las que la diversidad y competitividad de los mercados se ha convertido en un factor de gran importancia para las empresas buscan la oportunidad de que sus productos sean los elegidos. (12)

1.5. CLASES DE ENVASES

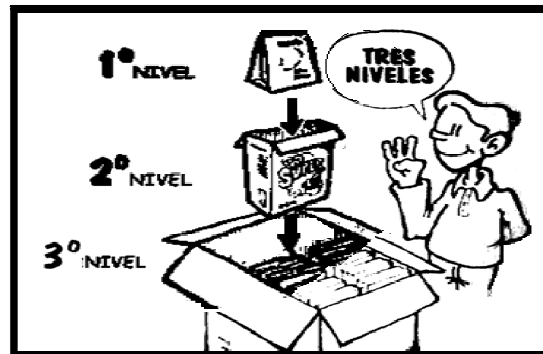


Figura No. 1. Clases o niveles de envases

Por razones económicas y de higiene la industria del envasado diseña y fabrica a partir de diversas materias primas envases o empaques necesarios para la protección, presentación y traslado de productos alimentarios, lo que ha llevado a categorizar a los envases en tres diferentes clases o niveles.(20)

1.5.1. EMPAQUE O ENVASE PRIMARIO

Es todo aquel que contiene al producto en su presentación individual o básica dispuesto para la venta de primera mano. A este grupo pertenecen las bolsas plásticas, botellas, sistema tetra-brick, enlatados, películas o recubrimientos comestibles entre otros. (6)

El empaque debe contener datos fundamentales en los que se incluyen el nombre del producto, marca, peso, variedad, productor y país de origen. Asimismo, los productos perecederos deben incluir la fecha de producción y la de vencimiento. Algunos productos advierten acerca de su grado de toxicidad, forma de manipulación y condiciones de almacenamiento. (24)

Los productos de calidad, elaborados bajo normas industriales aplicadas, poseen un UPC, sigla en inglés de Universal Product Code o Código Universal de Productos. En el medio es conocido como el Código de Barras, que se traduce en una serie de dígitos que presentan información acerca del productor y del producto como tal. El código facilita el control rápido de inventarios y costos. Un sistema de empaque de primer nivel bien

pensado cumple una función comercial definitiva, ya que gracias a él se puede motivar al comprador al indicarle las fortalezas y beneficios del producto. (6) (24)

1.5.2. ENVASE SECUNDARIO

Es un complemento externo que agrupa varias muestras de empaques primarios, su función es resguardarlo en cantidades que simplifiquen su distribución, almacenamiento e inventario. Dentro del segundo nivel se encuentran las cajas de cartón, guacales, canastas, bandejas y cajas agujereadas (lugs), entre otros. Éstas deben contener ordenadamente las unidades, el recipiente debe ajustarse al producto aprovechando sus dimensiones al máximo. (24)

Las cajas deben ir debidamente marcadas indicando la cantidad de unidades, su resistencia máxima al momento de apilarlas, la marca del producto y sus características básicas. En el caso de productos de difícil maniobrabilidad o grado significativo de fragilidad, la caja debe presentar la respectiva advertencia. En este punto del proceso, se debe tener en cuenta que de la calidad de los materiales empleados, dependerá la buena presentación del producto. (24)

1.5.3. ENVASE TERCIARIO DE EMBALAJE O TRANSPORTE

El embalaje se utiliza con el fin de integrar cantidades uniformes del producto, ya dispuesto bajo las normas del empaque secundario. Los materiales se seleccionan de acuerdo a las disposiciones del producto; sin omitir, costos, especificaciones del comprador, estándares internacionales, resistencia, fletes y entorno ambiental, entre los empaques más utilizados se encuentran las tolvas, guacales alambrados o clavados, tarimas, canastas y contenedores entre otros. (24)

Dentro de los grandes contenedores de embarque se agregan divisores o tabiques de cartón o plástico, con el fin de dividir y asegurar la mercancía. La carga es provista previamente de refuerzos a los costados y en los extremos para aumentar su resistencia a la compresión, aplicando los estándares en el manejo de carga internacional o norma ISO

3394, se recomienda el uso de estibas de madera con dimensiones de 120 x 100 centímetros y no más de 5 módulos, según el estándar norteamericano. Para el estándar europeo las estibas son de 80 x 120 centímetros y no más de 4 módulos. (24)

Para el transporte de carga marítima se recomienda el uso de estibas de 120 x 100. Por la especificidad en el manejo y tratamiento de las mercancías al momento de convertirlas en una sola unidad de carga o container, algunos expertos suelen darle la connotación de un cuarto nivel de empaque. (24)

1.6. TIPOS DE ENVASES SEGÚN EL MATERIAL

Según el material de fabricación de los envases se clasifican en:

- Envases de vidrio
- Envases de plástico
- Envases de cartón
- Envases de metal
- Envases comestibles.

De los antes mencionados los envases de menor impacto ambiental son los envases comestibles y de vidrio, este último es considerado de esta manera debido a que cumple con el proceso de reciclaje de forma continua, para lo cual el vidrio se lava y después se tritura para ser fundido nuevamente gracias a que no se degrada, por lo que se transforman envases en mal estado en otros nuevos con propiedades fisicoquímicas idénticas a los originales.

1.7. TOXICIDAD EN LOS ENVASES

La toxicidad de los envases más conocidos y usados se describe en la Tabla 1. En función a los materiales tóxicos usados en la fabricación.(40)

Tabla No 1. Toxicidad de los Envases

	MATERIALES TÓXICOS USADOS EN LA FABRICACIÓN DE ENVASES
Plástico	<p>Migración de los compuestos que intervienen en su elaboración como por ejemplo; plastificantes, lubricantes, pigmentos y monómeros por lo que deben mantenerse en los niveles más bajos</p> <p>BISFENOL A: químico que se emplea en la fabricación de biberones y otros , causando la pubertad temprana en niñas y cancer de prostata y mama</p> <p>ARCHILAMIDA: provoca cambios en el sistema nervioso central, cuando la exposición es en altas dosis mientras que la exposición prologada da como resultado neuropatía periférica.</p>
Vidrio	<p>Para facilitar el deslizamiento entre el contenido y el envase se usan lubricantes los cuales son: mezclas de alquilfenoxi, polietoxi-etanol, estearato de butilo, mono estearato de polietilenglicol, ácido esteárico, hidróxido de potasio, dietilenglicol</p> <p>La mala formación en la corona de los envases permite el intercambio de gases, ocasionando puntos negros en el alimento que afectan el sabor y aroma del producto</p>
Metal	<p>El lubricante que se usa debe ser de grado atóxico.</p> <p>ESTAÑO: confiere a la hojalata resistencia a la corrosión, pero puede contraer impurezas tóxicas como: Pb, Zn, Fe, etc.</p> <p>El barniz utilizado debe ser compatible con el alimento.</p> <p>Algunos envases de metal contienen una fina capa de estaño, la cual, si llega a quebrarse por algún golpe o caída, el producto contenido queda en contacto directo con el metal y de esta forma se desnaturaliza el producto.</p>

Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos66/envases-alimentos/envases-alimentos2.shtml>

1.8. LOS ENVASES COMO PROBLEMA ECOLÓGICO

Los envases son un invento que ha mejorado la calidad de vida de los seres humanos; sin embargo, lo negativo de ese desarrollo y transformación es el enorme problema ambiental producido por la acumulación de los materiales de desecho que generan. (13)

A pesar de que la mayoría de los productos plásticos y polímeros sintéticos derivados del petróleo garantizan la protección deseada en diversos tipos de aplicaciones en términos de costo, marketing, protección física, química y óptica, tienen la desventaja de que no son biodegradables, por lo que son responsables de gran parte de los residuos contaminantes que se acumulan en la naturaleza. (13)

La fabricación de la mayoría de envases requiere un alto costo energético, energía que se pierde en gran medida porque suelen tirarse tras el primer uso; su destrucción es igualmente muy costosa, energéticamente hablando, y muy contaminante en la mayoría de los casos. La incineración de determinados tipos de plástico es una de las causas de la lluvia ácida que destruye bosques y la salud de los seres humanos; cabe recordar que los envases plásticos abandonados a la intemperie por sus cadenas moleculares resisten a romperse por la acción de agentes naturales, razón por la cual generalmente necesitan un promedio de 150 años para degradarse, lo que está provocando una contaminación ambiental importante en todo el planeta.(13)

La fabricación de vidrio también exige un alto consumo de energía y, aunque este material está hecho a partir de materias primas abundantes, tampoco es biodegradable, por lo que tiene un fuerte impacto ambiental. En el caso de los envases metálicos, las populares latas de refrescos representan del 6 al 9 por ciento de la basura que se produce en todo el mundo; como es evidente, su recuperación es escasa para posteriores usos y casi no son biodegradables, por lo que la única salida ecológicamente razonable para las latas es el reciclaje. (13)

Varios países han tenido que reconocer la necesidad de proponer restricciones ambientales basadas en una verdadera política de control de residuos no degradables mediante el principio de las “tres R”: (13)

- Reducir la cantidad de residuos de envases contaminantes.
- Reutilizar el material lo más que sea posible.
- Reciclarlo para producir nuevos materiales.

Con el propósito de atenuar los problemas de la contaminación, se han realizado numerosos estudios para valorar algunos materiales alternativos. En ese sentido, surgió el concepto de plástico biodegradable asociado al uso de materias primas renovables que ofrecen un buen control en el medio ambiente después de diversos usos. Los biopolímeros, con macromoléculas sintetizadas por procesos biológicos o por vía química a partir de monómeros naturales o idénticos a los naturales. (13)

El proceso tecnológico más apropiado para la industrialización de los biopolímeros es por extrusión. Este proceso térmico se ha aplicado con éxito en la obtención de diversos materiales manufacturados a base de polímeros de almidón (provenientes de cereales, raíces, tubérculos, etc.) mezclados con otros materiales orgánicos vegetales y animales, lo que ha generado productos termoplásticos, expandidos, texturizados, espumados, acolchados y otros muchos.(13)

Los polímeros naturales también son biodegradables en estado nativo, aunque el ciclo de vida de algunos de ellos es relativamente corto, como en el caso de las ligninas. A manera de ejemplo, podemos citar a la celulosa, hemicelulosa, almidón, gomas, lignina, quitina, etc., las proteínas (colágeno, gelatina, y caseína) y el hule natural, todos los cuales se están probando hoy en día en la fabricación de diferentes embalajes y papel. Por fortuna, en estos momentos diversos investigadores de algunos países están preocupados por evitar la contaminación ambiental y tratan de desarrollar materiales plásticos biodegradables para reducir la basura provocada por los terribles plásticos sintéticos y eliminarlos en un tiempo no muy lejano. (13)

1.9. ENVASE ACTIVO

En términos generales envase activo se define un tipo de envase que “aporta sustancias que interactúan con el alimento y/o con el ambiente que le rodea para mejorar su conservación. En noviembre de 2004 se promulgó una nueva reglamentación europea sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos

(Reglamento N° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos, DOCE, 13 de noviembre de 2004) definiéndose por primera vez los materiales y objetos activos como los destinados a ampliar el tiempo de conservación, o a mantener o mejorar el estado de los alimentos envasados, y que están diseñados para incorporar deliberadamente componentes que transmitan sustancias a los alimentos envasados o al entorno de éstos o que absorban sustancias de los alimentos envasados o del entorno de éstos. (38)

En si el envasado activo consiste en la adición de una sustancia activa al material del envasado, mejorando de esta forma la funcionalidad del envase. En el caso del envasado antimicrobiano se consigue minimizar o evitar la contaminación superficial de los alimentos, de ahí el interés de su aplicación en los productos cárnicos listos para el consumo. (4)

Algunos de los sistemas que se pueden utilizar para que el envasado resulte activo son: agentes que captan oxígeno, compuestos que absorben la humedad, controladores de aroma y olor, agentes antimicrobianos, etc. En algunos casos, los reactivos o compuestos químicos implicados en la producción o eliminación de gases se incluyen en una etiqueta situada en la superficie interna del envase. En otros, se introducen dentro del envase en pequeñas bolsas fabricadas con materiales permeables. Otra posibilidad es incorporarlos en películas poliméricas o en adhesivos, tintas, etc., formando parte de los materiales de envasado multicapa. De esta manera se elimina la percepción negativa que tienen algunos consumidores sobre la presencia de “objetos extraños” en contacto con el alimento mientras se consigue un envase que interactúa con el alimento de forma positiva. Un aspecto interesante del nuevo reglamento que regula los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos es el que establece, por ejemplo, que los materiales y objetos activos en contacto con los alimentos no deben liberar o absorber sustancias como aldehídos o aminas. (4)(8)

1.10. RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

Un recubrimiento comestible, es una capa delgada y continua, hecha de materiales que puedan ser ingeridos por el consumidor y provee una barrera a la humedad, oxígeno y solutos. El material puede cubrir completamente el alimento o puede colocarse entre los componentes del producto. (35)

1.11. HISTORIA DE LOS RECUBRIMIENTOS

La historia de los recubrimientos comestibles inicia en los siglos XII y XIII en China donde se realizaba la inmersión en cera a naranjas y limas para retardar la pérdida de agua. Durante el siglo XVI se practicaba en Inglaterra el “enmantecado”, esto es, el recubrimiento con grasa de productos alimentarios para prevenir también la pérdida de humedad de éstos. En el S. XIX se emplearon películas de gelatina como único ingrediente para la preservación de carnes y otros alimentos. Alrededor de los 30's ya se encontraban comercialmente disponibles ceras parafínicas que se derretían con calor para el recubrimiento de cítricos, y en los comienzos de los años 50's se desarrollaron emulsiones aceite-agua con cera de carnauba para el recubrimiento de frutas frescas y hortalizas. Entre los años 50's y 80's se realizó trabajos orientados al uso de películas y recubrimientos para extender la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados, desafortunadamente, la mayor parte de este trabajo es de valor limitado debido a la carencia de datos cuantitativos de las características de barrera de los recubrimientos. A partir de los 90's, se ha reportado que es posible conseguir efectos similares de barrera al vapor de agua y gases en productos tropicales utilizando diferentes mezclas de aceites, ceras y celulosa.(16) (18) (35)

1.12. IMPORTANCIA Y FUNCIONES

Los recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la

sanidad, alta calidad, estabilidad y economía, al realizar una o más de las funciones indicadas en la Tabla 2.

Tabla No.2. Usos de Recubrimientos y Películas Comestibles

FUNCIÓN/ APLICACIÓN	TIPO ADECUADO DE ELÍCULA
Retardar migración de humedad	Lípido, compuesto
Retardar migración de gas	Hidrocoloide, lípido, o compuesto
Retardar migración de aceite y grasa	Hidrocoloide
Retardar migración de soluto	Hidrocoloide, lípido, o compuesto
Mejorar la integridad estructural o propiedades de manejo.	Hidrocoloide, lípido, o compuesto
Retener compuestos volátiles del sabor	Hidrocoloide, lípido, o compuesto
Vehículo de aditivos alimentarios	Hidrocoloide, lípido, o compuesto

Fuente: (Greener y Fennema, 1994).

Pueden emplearse como barrera a gases y vapor de agua, para este propósito se aplican sobre la superficie del alimento como es el caso en el recubrimiento de frutas y hortalizas frescas, en donde la función primordial es la de impedir la pérdida de humedad de la fruta hacia el ambiente y reducir la absorción de oxígeno por la fruta para disminuir la tasa de la actividad respiratoria (Fig. 4.). (16)



Figura No. 2. Funciones selectivas y activas de películas y recubrimientos.

Una de las ventajas de esta tecnología es el hecho de que estos materiales pueden servir como vehículos de otros ingredientes con un propósito específico diferente, así por ejemplo, se han incorporado en las formulaciones agentes antimicrobianos, saborizantes, antioxidantes y pigmentos. También pueden mejorar las propiedades de manejo-mecánico o integridad estructural de un producto alimentario, como sucede en productos compuestos de muchas partículas discretas. Adicionalmente, los recubrimientos representan una alternativa a los materiales comerciales de empaque que se emplean en los productos alimentarios, pues desde el punto de vista de protección del ambiente, se conciben como menos costosos que los plásticos por lo que su uso con este propósito reduciría significativamente la basura del envasado asociada con los alimentos frescos y procesados. (16)

1.13. COMPONENTES DE RECUBRIMIENTOS

Los componentes de las películas alimenticias pueden ser divididos en tres categorías: hidrocoloides, lípidos y componentes compuestos. Los hidrocoloides incluyen proteínas, derivados de celulosa, alginatos, pectinas, almidones y otros polisacáridos; los lípidos incluyen ceras, acilgliceroles y ácidos grasos; y los componentes compuestos contienen componentes lípidos e hidrocoloides. Del tipo de componente dependerán las propiedades de cada película. (35)(37)

Sustancias hidrofóbicas como las ceras y resinas y algunas proteínas no solubles en agua resultan ser los componentes más eficientes para retardar la transferencia de humedad; sin embargo si se emplean como componente único o principal, se obtienen películas gruesas y quebradizas.(29)

Los ácidos grasos y alcoholes como formadores de recubrimientos carecen de integridad estructural y durabilidad en su forma libre, por lo tanto requieren de una matriz estructural. Los cristales lipídicos en cubiertas de ceras son excelentes barreras contra la humedad y los gases pero sus propiedades de permeabilidad dependen del

empaquetamiento de los cristales lipídicos y su orientación en la dirección del permeado; en lo que respecta a los aceites, éstos no son tan resistentes a los gases y vapor de agua como las ceras en estado sólido. (29)

Por otro lado, la permeabilidad a gases de los biopolímeros como las proteínas y polisacáridos es mucho más baja que la que proporcionan las películas plásticas sintéticas y, además, imparten mejores propiedades mecánicas dado que las propiedades de las diferentes sustancias pueden aprovecharse.(29)

1.14. FORMACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Cuando un polímero está siendo aplicado a una superficie o matriz, existen dos fuerzas que operan, una es entre las moléculas del polímero formadoras de la película (cohesión) y la otra, la de la película y el sustrato (adhesión). Las fuerzas de cohesión afectan la densidad, compactación, porosidad, permeabilidad, flexibilidad y fragilidad de la película. La exposición al calor excesivo de las películas, afecta la cohesión, porque inmoviliza prematuramente las moléculas de polímero provocando defectos como perforaciones y fractura prematura de la película. Las soluciones de concentración intermedia generalmente resultaran en el incremento de la fuerza cohesiva debido a la viscosidad óptima y solvatación del polímero. Un indicador de que se llevó a cabo una adecuada solvatación es la alta viscosidad (36)

La mayor parte de los recubrimientos comestibles que se formulan contienen al menos un componente capaz de formar una matriz estructural con suficiente cohesividad (proteína, o polisacárido). (36)

La fuerza cohesiva del recubrimiento está asociado a la química y estructura del biopolímero, así como al tipo de solvente, presencia de agentes plastificantes y condiciones ambientales durante la formación. Una mayor cohesión estructural genera una menor flexibilidad, menor porosidad y menor permeabilidad a gases, vapores y solutos sólidos. Conforme aumenta la longitud y polaridad de la cadena del polímero, se

incrementa la cohesividad; si además existe una distribución uniforme de los grupos polares a lo largo de la cadena del polímero, la probabilidad de formación de enlaces por puente de hidrógeno intercatenarias es mayor y por consiguiente también la cohesión. (36)

Un factor importante es el solvente que se emplea para la formación de la matriz ya que influye en las características del recubrimiento o película terminada, pues con una máxima solvatación y extensión de las moléculas del polímero se producirán películas con estructuras más cohesivas. Los solventes empleados para los recubrimientos comestibles están limitados al agua, etanol o una combinación de éstos. Generalmente, la transferencia de agua ocurrirá a través de la porción hidrofílica de la película, por lo tanto, la permeabilidad del vapor de agua también dependerá de la relación contenida de los materiales hidrofílicos/ hidrofóbicos en la formulación.(29)

1.15. PROPIEDADES MECÁNICAS DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

Las propiedades mecánicas de los recubrimientos comestibles tienen un impacto en la flexibilidad y estabilidad a cambios de temperatura, físicos y ambientales. La fuerza y el porcentaje de elongación al quiebre, son las dos propiedades mecánicas más comúnmente medidas o determinadas. La fuerza tensil expresa el estrés máximo desarrollado en una película al someterse a una prueba de tensión, mientras que el valor de elongación representa la habilidad de estirarse.(36)

La permeabilidad de los recubrimientos abarca la transmisión de vapor de agua, gas, sorción de agua y vapor de agua. La permeabilidad al vapor de agua es dependiente de la polaridad relativa del polímero, mientras la permeación de gas tiende a ser proporcional a la fracción de volumen de la fase amorfa de la estructura del recubrimiento.(36)

Las películas comestibles basadas en un polímero polar son muy sensibles a los cambios de humedad, por lo que es recomendable utilizar películas basadas en materiales no polares o combinar materiales polares con no polares. (36)

1.16. MATERIALES SELECCIONADOS EN LA PRESENTE INVESTIGACION

Considerando las oportunidades que ofrecen diversos productos naturales como materia prima para el desarrollo de recubrimientos comestibles en la presente investigación se exploraron las posibilidades de obtener un recubrimiento comestible mediante formulación combinada considerando como ingredientes principales a la glucosa, caseína y gelatina.

1.16.1. GLUCOSA

La glucosa es uno de los elementos más importantes y utilizados en la industria alimenticia, es un elemento natural que se obtiene normalmente de frutas o del procesamiento de cereales, sirve tanto para endulzar como también para otorgar otras propiedades a la comida, especialmente de flexibilidad y durabilidad. La glucosa, independientemente de su uso en la cocina, es principalmente un elemento químico extremadamente importante como alimento ya que es de allí de donde gran parte de los seres vivos (incluidos los vegetales y plantas) obtienen la energía para sobrevivir. Se considera que la glucosa es el elemento orgánico más abundante en toda la naturaleza debido a su presencia en un sinnúmero de elementos naturales: todos los vegetales y plantas la obtienen a partir de la fotosíntesis en la cual elementos inorgánicos como el agua o la luz solar son convertidos en alimento.

En términos científicos, podemos decir que la glucosa es un monosacárido, lo cual significa que tiene una estructura simple que no se puede descomponer más a partir de la cual se arman estructuras más complejas como otros tipos de azúcares. La fórmula molecular o la estructura de las moléculas de la glucosa es $C_6H_{12}O_6$, lo cual significa que esta estructura está formada por seis moléculas de carbono, doce moléculas de hidrógeno y seis moléculas de oxígeno.(1)

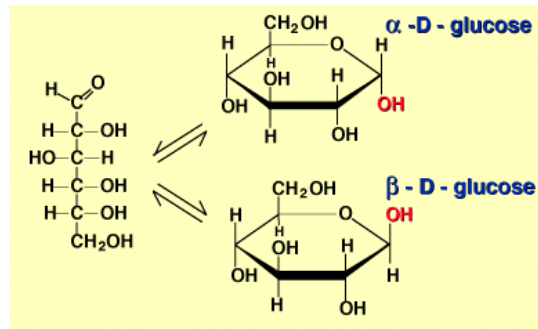


Figura No. 3. Estructura química de la molécula de glucosa

La glucosa es un azúcar que está presente de manera natural en elementos tales como las frutas o la miel. Las frutas también poseen otro tipo de azúcar natural que se conoce como fructosa. Esto se prueba fácilmente al saborear diferentes frutas o miel y uno inmediatamente distingue su sabor dulce. Sin embargo, el azúcar o glucosa también puede ser obtenido de otros elementos pero a nivel industrial: cuando se procesan diferentes cereales como el maíz y el trigo, se separa el almidón y a partir de un proceso conocido como hidrólisis enzimática se puede obtener también la glucosa.(1)

1.16.2. CASEÍNA

La palabra caseína se deriva del latín *caseus*, que significa "queso". Es una fosfoproteína (un tipo de heteroproteína) presente en la leche. Las caseínas son las principales proteínas de la leche. Se sintetizan exclusivamente en la glándula mamaria, y en la leche se encuentran en su mayor parte formando agregados multi moleculares conocidos como “micelas de caseína”. En la leche de vaca, las caseínas representan alrededor del 80% del total de proteínas, es decir, de 25 a 28 gramos por litro de leche. En la leche humana la presencia de proteínas del lacto suero es mucho mayor, de tal forma que las caseínas son solamente del orden de la mitad de las proteínas totales, entre 5 y 8 gramos por litro. (22)

1.16.2.1. ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DE CASEÍNA

Las moléculas individuales de caseína se caracterizan en general por tener un tamaño mediano (unos 200 aminoácidos, siendo algo menor la caseína κ) contar con pocos

tramos con estructura secundaria organizada, debido a la presencia de abundantes restos de prolina, y tener unidos covalentemente grupos fosfato a algunos de los restos de serina, y muy ocasionalmente a restos de treonina. La falta de organización de las moléculas de caseína ha hecho que hasta el momento ninguna haya podido cristalizarse para llevar a cabo estudios detallados de su estructura secundaria y terciaria. Una propiedad clásica, que ha servido durante un siglo para su definición operacional, es que las caseínas precipitan a pH 4,6, que es su punto isoeléctrico (a temperatura ambiente). (23)

Desde el punto de vista de la estructura, en la leche bovina (y en la mayoría de las leches de otras especies) existen cuatro caseínas, conocidas como α_{s1} , α_{s2} , β y κ . Las llamadas “caseínas γ ” son simplemente fragmentos de la caseína β producidos por proteólisis por la plasmina. Todas las caseínas tienen variantes genéticas, producidas por sustitución de aminoácidos.(23)

Existen diferencias en la proporción que representa cada tipo en el total de las caseínas. De entre las especies más comunes, las mayores diferencias se encuentran en el contenido de caseína κ que representa el 3% de las caseínas de leche de búfalo, el 13% de las de la leche de vaca y el 26% de las de la leche humana. (23)

Las micelas de caseína son partículas de un tamaño entre 50 y 500 nanómetros, formadas por la asociación de moléculas de caseína junto con fosfato cálcico en forma coloidal. El componente “mineral” representa alrededor del 7% del peso de la caseína. La estructura interna de las micelas de caseína, si es que realmente puede hablarse de una estructura organizada, está en discusión. Por una parte, según el modelo más aceptado, las micelas estarían formadas por la agregación de otras partículas menores, las llamadas “submicelas”, unidas entre sí a través de puentes de fosfato y por interacciones hidrofóbicas. Las moléculas individuales de de caseína se unirían dentro de las submicelas fundamentalmente a través de enlaces hidrofóbicos. (23)

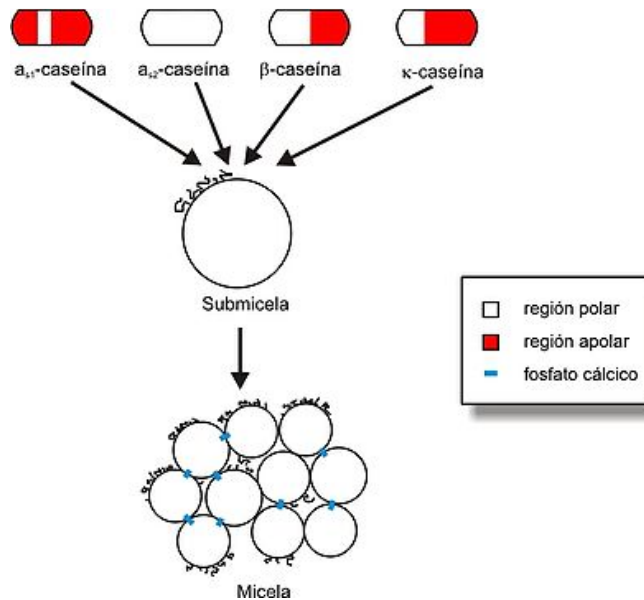


Figura No. 4. Estructura propuesta para la organización de las micelas de caseína a partir de unas subunidades denominadas *submicelas*.

Se han propuesto diversos modelos fisicoquímicos de organización de las micelas, en los que estas se encuentran a su vez constituidas por subunidades (*submicelas*), con un diámetro de entre 10 y 20nm (véase la Figura 4). En tales modelos se considera que las subunidades se enlazan entre sí gracias a los iones de calcio. Se sugiere que el fosfato de calcio se une a los grupos NH_2^- de la lisina; el calcio interacciona con el grupo carboxilo ionizado (COO^-). Las submicelas se constituyen a partir de la interacción constante entre las caseínas α , β y κ . Hay que resaltar la función de la κ -caseína para estabilizar las micelas, especialmente contra la precipitación de las otras fracciones proteínicas por la acción del calcio o de los enzimas. En todos estos se establece que las unidades hidrófobas entre las moléculas de proteínas aseguran la estabilidad de la micela.(26)

La fosfoserina, que es una pieza esencial en el mantenimiento de la estructura de cualquier modelo de micela de caseína, puede formar puentes con iones de calcio. El fosfato de calcio se encuentra en las caseínas como “fosfato coloidal”, en forma no cristalina. Las partículas de fosfato amorfo o coloidal dentro de las caseínas tienen un

tamaño del orden de 2,5 nanómetros, y están formadas por un núcleo de fosfato cálcico recubierto de una capa de proteína de un espesor de alrededor de 1,5 nanómetros, unida al fosfato cálcico mediante puentes a través de las fosfoserinas. (26)

1.16.2.2. ESTABILIDAD DE LAS MICELAS DE CASEÍNA

En condiciones normales de pH y concentración de sales, las micelas de caseínas se encuentra muy hidratadas, teniendo ligados alrededor de 3,7 gramos de agua por gramo de proteína. Las micelas de caseína se desestabilizan fundamentalmente por dos procesos: Por la acidez, y por la proteólisis de la caseína κ . (23)

La acidez tiene dos efectos: En primer lugar, según va bajando el pH se van rompiendo los enlaces entre los grupos fosfato y el ion calcio, al reducirse la ionización de los fosfatos. En segundo lugar, las repulsiones entre las micelas se reducen, al acercarse el pH al punto isoeléctrico de las caseínas. A un pH de alrededor de 4,5 (y a una temperatura superior a 20°C) las caseínas se agregan, formando una cuajada poco mineralizada. (23)

En el tratamiento con quimosina, la caseína κ pierde por proteólisis sus región hidrófila, dirigida hacia el exterior de las micelas. La reducción de la hidrofiliidad facilita la agregación. (23)

A temperaturas bajas, de refrigeración, las fuerzas hidrofóbicas que mantienen unidas a las moléculas de caseína se debilitan, e incluso una parte de la caseína sale de la micela. La gran mayoría permanece, pero unida menos fuertemente. En particular, las fuerzas que actúan sobre la región hidrofóbica de la caseína β se debilitan, haciendo que esta esponja más hacia el exterior su región hidrófila. Esto aumenta la hidratación y voluminosidad de la micela. Como consecuencia, a temperaturas de refrigeración no se produce la agregación de la caseína ni por la acción de la acidez ni por la de la quimosina. (23)

1.16.2.3. USOS Y APLICACIONES DE LA CASEÍNA

Además de usarse directamente en la elaboración de productos alimentarios (derivados lácteos y cárnicos, panes y productos de repostería, etc.), la caseína se utiliza en la elaboración de productos no alimentarios: pegamentos y pinturas, cubiertas protectoras, plásticos (véase la Tabla 3). Otros usos tecnológicos son la clarificación de vinos o como ingrediente en preparados de biología molecular y microbiología (medios enriquecidos para el cultivo microbiano). (2)

En la alimentación especial, la caseína sirve para la elaboración de preparados médicos y concentrados proteicos destinados a la alimentación de los deportistas, especialmente después de su entrenamiento. Así, se ha observado que la digestión de las caseínas es más lenta que la de las lactoproteínas solubles (también denominadas *seroproteínas*) y, por ello, más apropiada para reparar el anabolismo de los aminoácidos durante el período que sigue a una comida. (2)

Además de usarse directamente en la elaboración de productos alimentarios (derivados lácteos y cárnicos, panes y productos de repostería, etc.), la caseína se utiliza en la elaboración de productos no alimentarios: pegamentos y pinturas, cubiertas protectoras, plásticos (véase la Tabla 3). Otros usos tecnológicos son la clarificación de vinos o como ingrediente en preparados de biología molecular y microbiología (medios enriquecidos para el cultivo microbiano). (2)

Tabla No.3. Usos tecnológicos de la caseína

Producto	Propiedad	Aplicación
Envoltura	Capacidad de formar películas Adherencia	Pintura Tinta Papel Embalaje Acabado del cuero Envoltura textil
Adhesivo	Manejabilidad Fuerza de adhesión Resistencia al agua	Cola con base acuosa
Plástico	Buen procesado Resistencia mecánica Resistencia al agua	Plástico rígido Plástico desechable Fibra Película/ lámina de envoltura en embalajes
Surfactante	Tensión superficial Estabilidad de interface	Emulgente, detergente

Fuente: AUDIC J, Chaufer B, DAUFIN G. Non-food applications of milk components and dairy co-products

En la alimentación especial, la caseína sirve para la elaboración de preparados médicos y concentrados proteicos destinados a la alimentación de los deportistas, especialmente después de su entrenamiento. Así, se ha observado que la digestión de las caseínas es más lenta que la de las lacto proteínas solubles (también denominadas *seroproteínas*) y, por ello, más apropiada para reparar el anabolismo de los aminoácidos durante el período que sigue a una comida. (2)

1.16.3. GELATINA

La gelatina es un producto que se obtiene del colágeno de los residuos de mataderos, principalmente de pieles, huesos y cartílagos de bovino y porcino.(32)

El colágeno nativo pertenece a las escleroproteínas, cuyo componente básico es una cadena de polipéptidos de cerca de 1050 aminoácidos (Fig. 5). Tres de estas cadenas se conservan juntas en una línea helicoidal triple en forma de red. Condicionado a esta conectada estructura tridimensional, el colágeno no es soluble y a través de hidrólisis parciales más o menos fuertes es conducido a una forma soluble como la gelatina o la gelatina hidrolizada.(32)

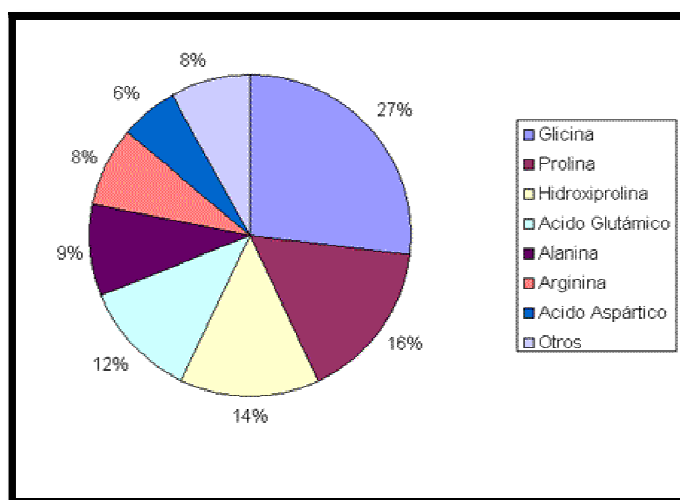


Figura No 5. Perfil de aminoácidos de la gelatina pura

La gelatina posee diferentes propiedades dadas en función de estado en que se encuentre, así si está seca al ponerla en contacto con un líquido lo absorbe y se hincha. Al calentar el líquido se forma un sol (un sistema coloidal fluido) con el líquido como dispersante. A medida que se enfría el sistema, la viscosidad del fluido aumenta y acaba solidificando formando un gel (sistema coloidal de aspecto sólido). (33)

El estado de gel es reversible al estado de sol si se aumenta la temperatura. Con la gelatina se puede formar una espuma que actúa de emulsionante y estabilizante, es en esta forma que se usa en alimentos preparados como sopas, caramelos, mermeladas, algunos postres. También se usa como estabilizante de emulsiones en helados y en mezclas en que intervienen aceites y agua, en la industria farmacéutica y la cosmética emplean gelatina como excipiente para fármacos. Cabe destacar que una porción de gelatina puede fijar o inmovilizar noventa y nueve porciones de agua con un peso equivalente. (32) (33)

1.16.3.1. PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA GELATINA

La efectividad de la gelatina como agente galante se deriva de su estructura de aminoácidos única. Las moléculas de gelatina contienen grandes proporciones de tres grupos de aminoácidos. Aproximadamente la tercera parte de los residuos de aminoácidos glicina o alanina, casi la cuarta parte corresponde a prolina o hidroxiprolina. La alta proporción de residuos polares confiere a las moléculas de gelatina una gran afinidad por el agua, debido a la alta proporción de residuos de prolina e hidroxiprolina, las moléculas de gelatina no pueden enrollarse en forma helicoidal característica de muchas proteínas. En vez de ello son largas y delgadas, una característica ventajosa para la formación del gel.(10)

A manera porcentual se puede decir que la gelatina contiene:

- 84-90% de proteína
- 1-2% Sales minerales
- El resto es agua. (29)

1.16.3.2. PROPIEDADES FUNCIONALES DE LA GELATINA

Debido al comportamiento físico-químico de la gelatina determinado por su secuencia aminoácida de la molécula y de la estructura, y por las condiciones del entorno como valor pH, fuerza iónica y la interacción con otras moléculas se observa que con la gelatina se pueden resolver varias áreas problemáticas como:

- Formación de geles termorreversibles de naturaleza elástica
- Ajuste de fluidez en las emulsiones
- Evita coalescencia y la flotación de aceites dispersados y partículas de grasa en diferentes sistemas de emulsiones

- Evita separación de fases en emulsiones conservadas congeladas o esterilizadas
- Evita la recristalización
- Encapsulación del aire en emulsiones y cremas
- Formación de películas y coberturas
- Evita la sinéresis
- Proporciona consistencia y textura a los productos reducidos en calorías
- Eleva la ligación de la grasa en emulsiones de carne y en volován
- Disminuye los daños por cocción del picadillo de las salchichas
- Aumenta la recepción de agua en las emulsiones de carne
- Mejora el aereamiento y el comportamiento de los helados
- Liga los comprimidos y tabletas. (10)

Aquí se puede observar que en el centro de estos efectos están la texturización, la formación de geles, la ligación del agua y los efectos superficiales como emulsiones y formación de espuma. De esto se pueden derivar propiedades funcionales típicas de la gelatina:

- Formación de geles
- Ligación del agua
- Formación de textura
- Espesamiento
- Formación de emulsiones y estabilización
- Formación de espuma y estabilización
- Formación de películas
- Adhesión / Cohesión
- Coloide protector

Sin embargo cabe agregar, que la utilización tecnológica de estas propiedades es solamente óptimamente posible cuando las condiciones necesarias, como la temperatura, contenido de sal y el valor pH son tomados en cuenta.(10)

1.16.3.3. GELIFICACIÓN DE UN SOL DE GELATINA

A medida que un sol de gelatina se enfría, se hace más viscoso. Sin embargo, en la conversión de sol a gel no solamente se lleva a cabo una reacción de espesamiento. La rigidez aparece más rápidamente después de un enfriamiento preliminar y un período de mantenimiento. Cuando ocurre la Gelificación la dispersión de gelatina coloidal se transforma en un sólido elástico. Se desconoce el mecanismo para la formación de un gel a partir de un sol de gelatina. Sin embargo se han propuesto una serie de sugerencias como la de unión de las moléculas de gelatina por acción de las fuerzas de Vander Walls debido a la naturaleza de las moléculas de gelatina y a la facilidad con que el gel se licua y vuelve a su forma sol con el cambio de temperatura. Se atribuye también a la formación de enlace peptídico en algún momento del proceso de Gelificación. (10)

1.16.4. SABORIZANTES

Los saborizantes son agentes utilizados para mejorar el olor y sabor de los alimentos, facilitando así el consumo de los mismos. (15)

Los Saborizantes son preparados de sustancias que contienen los principios sápidos-aromáticos, extraídos de la naturaleza (vegetal) o sustancias artificiales, de uso permitido en términos legales, capaces de actuar sobre los sentidos del gusto y del olfato. Suelen ser productos en estado líquido, en polvo o pasta, que pueden definirse, en otros términos a los ya mencionados, como concentrados de sustancias.(39)

Los saborizantes son de tres tipos naturales, sintéticos y artificiales.

- **Naturales:** son obtenidos de fuentes naturales y por lo general son de uso exclusivamente alimenticio por métodos físicos tales como extracción, destilación y concentración.
- **Sintéticos:** elaborados químicamente que reproducen las características de los encontrados en la naturaleza.
- **Artificiales:** obtenidos mediante procesos químicos, que aun no se han identificado productos similares en la naturaleza. Son productos clasificados como inocuos para la salud.(15)(39)

1.16.5. COLORANTES

El color es el atributo de primer impacto de los alimentos. La industria alimentaria dependió en el pasado de productos de síntesis química que poco a poco están siendo desplazados por productos naturales.(17)

Los colorantes en el área de alimentos se utilizan para:

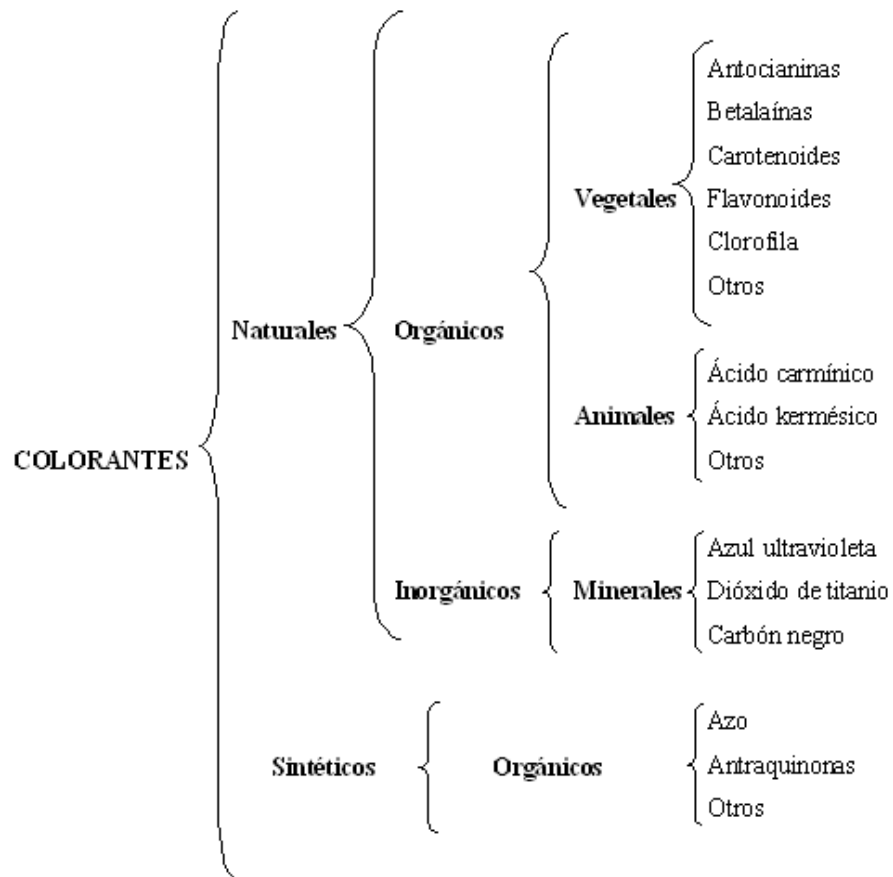
- Restablecer la apariencia original de los alimentos donde los colores originales han sido destruidos por el proceso de mano factura, almacenamiento y control de los alimentos.
- Asegurar la uniformidad de color debido a las variaciones naturales en la intensidad del color, por ejemplo, las frutas obtenidas a diferentes tiempos durante la estación para asegurar su apariencia y aceptabilidad.
- Ayuda a proteger el sabor y las vitaminas sensibles al calor durante su empaque, por efecto de exposición al sol.
- Ayuda a preservar la identidad o carácter por el cual los alimentos son reconocidos.
- Como indicativo visual de calidad del producto.(17)

1.16.5.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES

Existen varias formas de clasificar a los colorantes, estas se basan en su procedencia o fuente de origen, en su certificación, o por su grupo cromóforo; esto es, el radical que confiere un color determinado. De acuerdo con su origen o procedencia, los colorantes son obtenidos por fuentes naturales, ya sean microorganismos, vegetales, animales o minerales y aquellos producidos por síntesis química. (15)

La clasificación de los colorantes según su fuente de origen se puede ver claramente en el Cuadro 1. (15)

Cuadro No. 1. Clasificación de los colorantes



Fuente: García G. Quintero R. López M, Biotecnología Alimentaria

1.16.5.1.1.1. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES POR SU ORIGEN

1.16.5.1.1.2. COLORANTES NATURALES

Son los que se obtienen de fuentes animales o vegetales. Los colorantes naturales se consideran en general como inocuos y consecuentemente las limitaciones específicas en su utilización son menores que las que afectan a los colorantes artificiales; tienen como desventaja notoria la complejidad con la que se encuentran en la naturaleza, generalmente no están solos y son necesarios procesos de purificación que los hacen mucho más costosos.(25)

Sólo sería natural el color que un alimento tiene por sí mismo. Esto puede generalizarse a los colorantes presentes de forma espontánea en otros alimentos y extraíbles de ellos, pero puede hacer confusa la situación de aquellas sustancias totalmente idénticas pero obtenidas por síntesis química. También la de colorantes obtenidos de materiales naturales no usados en alimentos, insectos, por ejemplo, y la de aquellos que pueden bien añadirse o bien formarse espontáneamente al calentar un alimento.(25)

1.16.5.1.1.3. COLORANTES SINTÉTICOS

Son los obtenidos por síntesis química. Anteriormente se empleaban solo productos de origen vegetal pero con el avance de la química orgánica muchos de estos productos naturales fueron desplazados por los sintéticos.(27)

La F.D.A. prohibió el uso de una extensa lista de los colorantes sintéticos, por ser potencialmente dañinos, en especial si se derivan de óxidos o sales de metales pesados; otros, están bajo estudio y son permitidos sólo temporalmente. Día a día se acentúa la tendencia de regresar a productos naturales basados sobre materiales de origen natural.
(27)

Los colorantes sintéticos deben reunir una serie de características, para asegurar su buen uso. Los requisitos exigidos son:

- Inocuo.
- Constituir una especie química definida y pura.
- Tener gran poder tintóreo, con objeto de utilizar la mínima cantidad posible y ser fácilmente incorporables al producto.
- Estable a la luz y al calor.
- Poseer compatibilidad con los productos que deben teñir.

- No poseer olor ni sabor desagradables.
- pH neutro.
- Económico.

Factores que contribuyen a la inestabilidad

- Trazas de metales
- Altas temperaturas
- Agentes óxido-reductores
- Luz
- pH

1.16.5.1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES SEGÚN SU CERTIFICACIÓN

La clasificación con base a la certificación, se divide en aquellos que no requieren certificación, y los que requieren certificación. Los primeros incluyen a los colorantes obtenidos de fuentes naturales, así como a los idénticos a los naturales. En la Tabla 4 y Tabla 5. se muestran algunos ejemplos de colorantes sujetos a certificación de alimentos.(15)

Tabla No. 4. Colorantes certificados para alimentos

Nombre oficial	Clasificación	Color	Alimentos
Rojo N°3 (eritrosina)	Xanteno	Rosa- Azulado	C,E,H,J,L
Rojo N°40	Monoazo	Rojo- Amarillento	A,C,E,F,G,H,J
Amarillo N°5 (tartrazina)	Pirazolona	Verde- Amarillo	A,E,F,G,H,J,K,L
Azul N°1	Trifenilmetano	Verde –Azul	A,E,F,G,H,J,L
Azul N°2	Indigoide	Azul Intenso	G,H,J,L
Verde N°3	Trifenilmetano	Verde –Azulado	A,E,F,G,H,J,L,C
Naranja B	Pirazolona	Rojo- amarillo	D

Fuente: García G. Quintero R. López M, Biotecnología Alimentaria

Tabla No.5. Alimentos en los que se utiliza colorantes certificados

ALIMENTOS	
A: Gelatinas	G: Bebidas secas
B: Cascara de Naranja	H: Confitería
C: Cerezas confitadas	I: Confitería
D: Salsas	J: Pan y cereales
E: Helados	K: Pudines
F: Bebidas carbonatadas	L: Emulsiones (aceite- agua)

Fuente: García G. Quintero R. López M, Biotecnología Alimentaria

La tercera forma de clasificar a los colorantes se basa en el grupo cromóforo debido a que todos los colorantes esta clasificación se dio debido a que todos los colorantes poseen dobles enlaces conjugados. Las partículas cromóforas pueden ser coloreadas si un grupo llamado auxocrómico es introducido, por lo que actualmente se han identificado estas entidades de la siguiente manera:

- Auxóchromos: donadores de electrones.
- Antiauxóchromos: aceptores de electrones.
- Cromóforos: sistemas lineales o cíclicos de dobles enlaces conjugados.

Así de acuerdo con la estructura química se presentará el color. (15)

1.16.6. CONSERVANTES

Según la agencia española de seguridad alimentaria los conservantes son un tipo de aditivo alimentario utilizado para mantener la estabilidad y seguridad microbiológica de los alimentos, ya que retardan o inhiben los procesos de alteración de estos.(28)

En muchos alimentos existen de forma natural sustancias con actividad antimicrobiana. Muchas frutas contienen diferentes ácidos orgánicos, como el ácido benzoico o el ácido cítrico. La larga estabilidad de los yogures comparados con la leche se debe al ácido láctico producido durante su fermentación. Los ajos, cebollas y muchas especias contienen agentes antimicrobianos, o precursores que se transforman en ellos al triturarlos. (31)

Los organismos oficiales correspondientes, a la hora de autorizar el uso de un conservante alimentario, tienen en cuenta que éste sea un auxiliar del procesado correcto de los alimentos y no un agente para enmascarar unas condiciones de manipulación

sanitaria o tecnológicamente deficientes, ni un sistema para defraudar al consumidor engañándole respecto a la frescura real de un alimento. (31)

Las condiciones de uso de los conservantes están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante y a la de conservantes totales. Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solamente son útiles con materias primas de buena calidad. Entre los conservantes más utilizados se encuentran algunos sorbatos, nitritos, nitratos, sulfitos, formiatos y otros. (31)

1.16.6.1. USO DE LOS CONSERVANTES

Los conservantes se usan principalmente para producir alimentos más seguros para el consumidor, previniendo la acción de agentes biológicos.(34)

Para el consumidor, la mayor amenaza procede del deterioro o incluso toxicidad de los alimentos, debido a la acción nociva de microorganismos en su interior (por ejemplo, bacterias, levaduras o moho). Algunos de estos organismos segregan sustancias tóxicas (“toxinas”), peligrosas para la salud humana y que pueden llegar a ser mortales.(34)

1.17. ANÁLISIS PROXIMAL Y/O BROMATOLÓGICO

Se entiende por Análisis Básico (proximal), la determinación conjunta de un grupo de sustancias estrechamente emparentadas. Comprende la determinación del contenido de agua, proteína, cenizas., grasa o extracto etéreo y fibra. Las sustancias extraíbles no nitrogenadas (ELnN) se determina por cálculo restando la suma de estos cinco componentes del 100%, para subrayar que se trata de un grupo de sustancias más o menos próximas y no de compuestos individuales, cabe resaltar que los analistas suelen utilizar el término bruta o cruda detrás de proteína, grasa o fibra.(9)

Como todas las determinaciones son empíricas es preciso indicar y seguir con precisión las condiciones del analista. Los resultados obtenidos en las determinaciones de humedad y ceniza son influidos por la temperatura y tiempo de calentamiento. Cualquier error cometido en las cinco determinaciones aumentara la cifra de las sustancias extraíbles no nitrogenadas.(3)

1.17.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El contenido de humedad de los alimentos es de gran importancia por razones técnicas, científicas y económicas (Comité de normas alimentarias, 1979), pero su determinación precisa es muy difícil. El agua se encuentra en los alimentos esencialmente en dos formas, como agua enlazada y como agua disponible o libre; el agua enlazada incluye moléculas de agua que incluye moléculas unidas en forma química o través de puentes de hidrógeno a grupos iónicos o polares, mientras que el agua libre es la que no está físicamente unida a la matriz del alimento y se puede congelar o perder con facilidad por evaporación o secado. Puesto que la mayoría de los alimentos son mezclas heterogéneas de sustancias que contienen porciones variadas de ambas formas.(9)

En la mayor parte de industrias alimentarias la humedad se suele determinar a diario. Los niveles máximos son señalados en las especificaciones comerciales. Para ello existen varias razones, principalmente las siguientes:

- El agua presente por encima de ciertos valores facilita el desarrollo de ciertos microorganismos.
- El agua suele ser usada como adulterante de ciertos alimentos.
- Los materiales pulverulentos se aglomeran en presencia de agua.
- La cantidad de agua puede afectar la textura.

- La determinación de contenido de agua representa una vía sencilla para el control de la concentración de las distintas etapas de fabricación de alimentos.(9)

1.17.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

El residuo de incineración o cenizas refiere al residuo que queda tras la combustión (incineración) completa de los componentes orgánicos de un alimento en condiciones determinadas, una vez que se eliminan otras impurezas posibles y partículas de carbono procedentes de una combustión incompleta, este residuo corresponde al contenido de mineral en el alimento. La determinación de cenizas es importante porque:

- Indica el porcentaje de minerales presentes en el alimento.
- Permite establecer la calidad comercial de determinados productos.
- Da a conocer adulteraciones en productos que han sido adicionados sal, talco, cal, yeso, carbonatos alcalinos, etc.
- Establece el grado de limpieza de materias primas vegetales (exceso de arena).
- Caracteriza y evalúa la calidad de los alimentos.(9)

1.17.3. DETERMINACIÓN DE FIBRA

La fibra cruda o bruta representa la parte fibrosa e indigerible de los alimentos vegetales, químicamente está compuesta por polímeros fibrosos carbohidratados (celulosa, hemicelulosa, pectina, gomas, mucílagos). El organismo humano carece de sistemas enzimáticos que degraden estos polímeros y por ello aparecen inalterados en el intestino grueso ejerciendo acción reguladora del peristaltismo, facilitando la eliminación de heces fecales. (9)

La AOAC define a la fibra cruda como “la porción que se pierde tras la incineración del residuo seco obtenido después de digestión ácida- alcalina de la muestra seca y desengrasada en condiciones específicas”. La fibra contribuye a la textura rígida, dura ya a la sensación de fibrosidad de los vegetales.(9)

1.17.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

El contenido de proteína en los alimentos hasta hace poco se determinaba a partir del nitrógeno orgánico determinado por el método Kjeldahl, en la actualidad existen varios métodos alternativos físicos y químicos, algunos de los cuales han sido automatizados o semi automatizados, sin embargo el método Kjeldahl sigue siendo la técnica más confiable para la determinación de nitrógeno orgánico.(9)

1.17.5. EXTRACTO ETÉREO

El método Soxhlet se utiliza como sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentran en el alimento. (9)

Insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos. Proporcionan energía y son la principal reserva energética del organismo. Fuente de ácidos grasos esenciales, transporte de combustible metabólico y disolvente de algunas vitaminas. Influyen en la absorción de las proteína y en la calidad de la grasa que se deposita en el cuerpo y de los productos grasos que se obtiene. (9)

1.17.6. EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO

El extracto libre no nitrogenado refiere a sustancias que producen calor y energía de movimiento. Lo componen azúcares y en particular la fibra, el almidón o fécula. (9)

1.18. EVALUACIÓN SENSORIAL

El análisis sensorial o evaluación sensorial es el análisis de los alimentos u otros materiales a través de los sentidos. Es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos que se perciben a través de los sentidos de la vista, gusto, olfato, tacto y oído, por lo que la evaluación sensorial no se puede realizar mediante aparatos de medida. (21)

El análisis sensorial es un auxiliar de suma importancia para el control y mejora de la calidad de los alimentos ya que a diferencia del análisis físico- químico o microbiológico, solo dan información parcial acerca de alguna de sus propiedades, permite hacerse de una idea global del producto en forma rápida, informando de un aspecto de suma importancia como es la aceptación o rechazo del producto. (21)

1.18.1. ATRIBUTOS SENSORIALES

- Gusto y sabor

- Aroma y Olor

- Color y apariencia

- Textura

1.18.1.1. Gusto y Sabor

Se entiende por gusto a la sensación percibida a través del sentido del gusto, localizado principalmente en la lengua y cavidad bucal. Se definen cuatro sensaciones básicas: ácido, salado, dulce y amargo. El resto de sensaciones gustativas proviene de la mezcla de estas cuatro causando variadas interacciones.(21)

Se define como sabor a la percepción transmitida por terminaciones nerviosas de los sentidos del gusto y el olfato principalmente, pero no debe desconocerse la estimulación simultánea de los receptores sensoriales de presión, y los cutáneo de calor, frío y dolor.(21)

1.18.1.2. Aroma y Olor

El olor es la sensación producida al estimular el sentido del olfato. Aroma es la fragancia del alimento que permite la estimulación del sentido del olfato.(21)

1.18.1.3. Color y Apariencia

El color que percibe el ojo depende de la composición espectral de la fuente luminosa de las características físicas y químicas del objeto, la naturaleza de la iluminación base y la sensibilidad espectral del ojo. Todos estos factores determinan el color que se aprecia: longitud de onda, intensidad de luz y grado de pureza. El sentido de la visión es estimulado por impresiones luminosas o radiantes que pueden provenir de grandes distancias, éstas pasan por las lentes de los ojos y son enfocados como imágenes en la retina.(21)

La vista es fundamental para la evaluación del aspecto y color de un alimento. El color adquiere importancia como índice de madurez y/o deterioro por lo que constituye un parámetro de calidad. Así el consumidor espera un color determinado para cada alimento, cualquier desviación de este color puede producir disminución en la demanda, además es importante para la sensación gustativa y olfativa. Se afirma que la visión es el primer sentido que interviene en la evaluación de un alimento, captando todos los atributos que se relacionan con la apariencia: aspecto, tamaño, color, forma, etc.(21)

1.18.1.4. Textura

Es la apreciación sensorial subjetiva para definir estados de la materia, en el caso de los alimentos de propiedades dadas definiéndolo como: duro, blando, uniforme, liso, áspero, etc.(21)

1.19. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El conocimiento de la microbiología es la base para el manejo adecuado de los productos alimenticios. Así pues, el estudio del número y tipo de microorganismos presentes en un alimento permite:

- Conocer la fuente de contaminación del producto.
- Evaluar las condiciones higiénicas en las que se prepara o procesa un alimento dado.
- Detectar la posible presencia de microorganismos patógenos que podrían causar daño en la salud del consumidor.
- Establecer en qué momento se produce fenómenos de alteración en los distintos alimentos, con el propósito de delimitar su período de conservación.

Si bien el desarrollo microbiano desenfrenado y sus productos metabólicos indeseables ocasionan problemas al dañar nuestros alimentos, los microorganismos también se usan benéficamente para producir alimentos y bebidas de alto valor gastronómico.(9)(21)

1.19.1. MOHOS Y LEVADURAS

Existen varios cientos de especies de mohos y levaduras (hongos) que contaminan los alimentos. Su capacidad para atacar varios alimentos se explica por sus versátiles

requerimientos ambientales. Aunque algunos mohos y levaduras son aerobios obligados su rango de pH es muy amplio de 2 a 9, al igual que su rango de temperatura 10- 35 °C. Pocas especies pueden crecer fuera de estos rangos. Los requerimientos de humedad son relativamente bajos, la mayoría de especies crecen a actividades de agua de 0,85 o menos, cabe destacar que las levaduras requieren altas actividades de agua.(14)

Los hongos causan varios grados de deterioro de los alimentos, pueden invadir y crecer sobre cualquier tipo de alimento en cualquier tiempo, invaden cultivos de granos, nueces, alverjas, tomates, manzanas en el campo antes de la cosecha y durante el almacenamiento. Cabe destacar que también crecen en mezclas de alimentos y en alimentos procesados. (14)

Los mohos y levaduras crecen más lentamente que las bacterias en los alimentos no ácidos y húmedos, pocas veces ocasionan problemas en este tipo de alimentos. Pero en alimentos ácidos y de baja actividad de agua crecen más rápido que las bacterias, son importantes organismos alteradores de frutas frescas, jugos de fruta, vegetales, quesos, cereales y derivados, alimentos salazonados, encurtidos, alimentos congelados, alimentos deshidratados y alimentos almacenados en condiciones inadecuadas.(14)

Un alimento puede verse aparentemente libre de mohos pero el exámen microbiológico consigue revelar que este se encuentra contaminado. En los alimentos frescos y en los congelados pueden encontrarse en un número bajo de esporas y células vegetativas de levaduras, su presencia no es muy significativa, La alteración es manifestada únicamente cuando el alimento contenga cifras elevadas de levaduras o mohos visibles. La alteración por levaduras no constituye un peligro para la salud. Su defectibilidad depende del tipo de alimento, de los organismos involucrados y del grado de invasión. El alimento contaminado puede ser ligeramente dañado, severamente dañado o completamente descompuesto. El crecimiento se manifiesta por manchas de diversos colores, costras, limo, micelio lanco algodonoso o muy coloreado; se producen olores y sabores anormales .(14)

1.19.2. AEROBIOS MESÓFILOS

La enumeración de gérmenes aerobios mesófilos es el indicador microbiano más común de la calidad de los alimentos. Esta determinación sirve para:

- Conocer el nivel de microorganismos presentes en un producto, se a este preparado, precocido, refrigerado o congelado.
- Conocer las fuentes de contaminación (aire, agua, materia prima, etc.) durante la elaboración de los alimentos.
- Verificar la eficacia de los sistemas de limpieza y desinfección.
- Conocer si se inicia la alteración de los alimentos y su probable vida útil.
- Conocer si han ocurrido fallos en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración en cuanto a alimentos refrigerados.

Existen algunos métodos para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos tales como: de placa pobre, de siembra por extensión en superficie, siembra por gotas en superficie, filtración a través de membrana, a demás de métodos automatizados. Cada método debe especificar la temperatura de incubación. (14)

1.19.3. COLIFORMES TOTALES

La presencia de niveles considerables en los alimentos que han recibido algún tratamiento para garantizar su sanidad indica: tratamiento inadecuado, fallos en el tratamiento industrial, contaminación posterior al proceso, mala calidad higiénica en el proceso, falta de higiene en el manejo y no necesariamente una contaminación de origen intestinal, las bacterias coliformes tradicionalmente han sido consideradas como indicadores de contaminación fecal de aguas y alimentos antes que patógenos que contaminan los alimentos.(14)

Algunos miembros de las especies *E. coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* y el género *Citrobacter* han sido asociados con procesos de gastroenteritis o poseen atributos de enteropatogenicidad frecuentemente asociados con plásmidos.(14)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.

La presente investigación se llevó a cabo en los siguientes lugares:

- Laboratorio de Farmacología, Química Farmacéutica y Farmacognosia de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio De microbiología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Análisis Ambiental e Inspección del Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Ambiental.
- Instalaciones de la microempresa MYCUCAYO (en la ciudad de Ambato)

El ensayo tuvo una duración de 120 días, cuatro meses, distribuidos en el desarrollo teórico y la parte experimental la cual constituyó en la elaboración de caseína como materia prima, elaboración del recubrimiento comestible, y

realización de exámenes bromatológicos y microbiológicos del recubrimiento comestible.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIA PRIMA

- Leche
- Caseína
- Glucosa
- Gelatina pura
- Mora
- Maracuyá

2.2.2. EQUIPOS

- Reverbero
- Estufa de aire caliente
- Mufla
- Equipo de succión al vacío
- Cocina
- Balanza de precisión

- Autoclave

2.2.3. MATERIALES

- Cacerola
- Papel aluminio
- Cucharas
- Cernidor
- Moldes descartables
- Embudo
- Matraz Erlenmeyer
- Vasos de precipitación
- Varilla de agitación
- Probeta de 100mL
- Probeta de 30mL
- Probeta de 100mL
- Bureta
- Capsula

- Crisol
- Valor aforado
- Balón esmerilado
- Codos
- Refrigerante
- Gradilla
- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Tubos durjal
- Asa microbiológica

2.2.4. REACTIVOS

- Ácido Cítrico
- Agua Destilada
- Hidróxido de Sódio
- Ácido Sulfúrico
- Ácido Bórico

- Sulfato de Sodio
- Acetona
- Tolueno
- Ácido tricloro acético
- Ácido fosfórico
- Acetanitrilo
- Metanol

2.2.5. MEDIOS DE CULTIVO

- Placas petrifilm para mohos y levaduras
- Agar para recuento en placa (Palate Count Agar)
- Caldo Triptona
- Caldo verde brillante bilis- lactosa

2.3. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Previo a la experimentación para la obtención del recubrimiento comestible se obtuvo caseína en polvo a partir de leche entera, donde luego se procedió a calcular el rendimiento de caseína en polvo por cada litro de leche utilizado.

Para la obtención del recubrimiento comestible para bombones de chocolate de características admisibles en cuanto a textura se realizaron pruebas donde se combinó los diferentes componentes de la siguiente manera: caseína- glucosa, gelatina - glucosa, por último una combinación de glucosa, caseína y gelatina, en distintas proporciones como se describe a continuación:

Tabla No. 6. Proporción de ingredientes base previo a la obtención de recubrimiento comestible.

Formulación	Caseína- Glucosa	Gelatina - Glucosa	Caseína-Glucosa- Gelatina
1	1:1	1:2	1:3:2
2	2:1	1:3	2:1:1
3	1:3	2:1	1:4:2

Fuente: Cristina Carrera Castro

La combinación de apariencia admisible fue elegida para luego añadir color, sabor, conservantes, realizar las mediciones experimentales y a través de encuestas determinar la aceptabilidad del recubrimiento comestible.

2.4. MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables experimentales que se midieron en el producto terminado y en el presente trabajo fueron:

2.4.1. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Los ensayos métodos utilizados para la realización del análisis bromatológico se detallan en la Tabla 7.

Tabla No. 7. Métodos utilizados en el análisis bromatológico

ENSAYO	MÉTODO
– Determinación de Humedad (%H)	AOAC / Gravimétrico
– Determinación de Cenizas (%C)	AOAC / Gravimétrico
– Determinación de Fibra (%F)	AOAC / Gravimétrico
– Determinación de Proteína (%P)	AOAC / Volumétrico
– Determinación de Extracto Etéreo (% ExEt)	AOAC / Gravimétrico

Fuente: Cristina Carrera Castro

2.4.2. ORGANOLÉPTICO

En el análisis organoléptico se determinaron los siguientes parámetros:

- Color
- Olor
- Sabor
- Textura

2.4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Las determinaciones y métodos utilizados para la realización del análisis microbiológico se detallan en la Tabla 8.

Tabla No. 8. Métodos utilizados para el análisis microbiológico

ENSAYO	NORMA
– Determinación del número se microorganismos Aerobios Mesófilos REP EL ALIMENTOS UFC/g	INEN 1529-5
– Determinación de Microorganismos Coliformes fecales y <i>E. coli</i> por la técnica del número más probable NMP/g	INEN 1529-8
– Mohos y levaduras UPC/g	OAC (997.2)

Fuente: Cristina Carrera Castro

2.4.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y ACEPTABILIDAD DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

Para la determinación de la aceptabilidad del recubrimiento se realizo una encuesta cuyo modelo se muestra en el Anexo 4. La misma que representa estadísticamente en graficas estilo pastel con la respectiva determinación de la frecuencia la misma que nos indico el grado de aceptabilidad.

2.5. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

Para la obtención del recubrimiento comestible se experimenta combinando proporciones al azar de glucosa, caseína y gelatina, para lo cual con ayuda de una balanza analítica se pesa por separado estos ingredientes mencionados. En agua caliente y a fuego lento se prueba la formulación de Glucosa y gelatina disolviendo en primer lugar la glucosa para luego cuando la solución creada alcanza su punto de ebullición añadir la gelatina. Ubicar en moldes y enfriar por 48 horas previo al desmoldado.

Para la formulación de Glucosa y caseína se inicia diluyendo la glucosa en agua caliente para posteriormente añadir proporción de caseína, poner en moldes la solución formada y dejar a temperatura ambiente por 48 horas para luego proceder a desmoldar.

En la formación del recubrimiento comestible a base de glucosa, caseína y gelatina, se disuelve en agua caliente la caseína, para luego incorporar la glucosa teniendo en cuenta que no se forme una solución sobresaturada. Por último se incorpora la proporción correspondiente a la gelatina. Se coloca en moldes y enfriar por 48 horas antes de proceder al desmoldado.

El procedimiento de las formulaciones se repite para las proporciones descritas en la tabla N. 6. A continuación se procede a reconocer el recubrimiento con mejor aspecto en cuanto a textura para posteriormente elegir la formulación base para la creación del recubrimiento.

Una vez que se realizó las pruebas piloto y elegida la formulación base se sustenta el proceso considerando la formulación definitiva de la siguiente manera:

Pesar en papel aluminio y con ayuda de una balanza analítica las proporciones a utilizar de glucosa, caseína y gelatina. En agua caliente disolver la caseína, incorporar la proporción de glucosa agitando continuamente la solución hasta que esta llegue a su punto de ebullición, Aumentar y disolver la proporción gelatina.

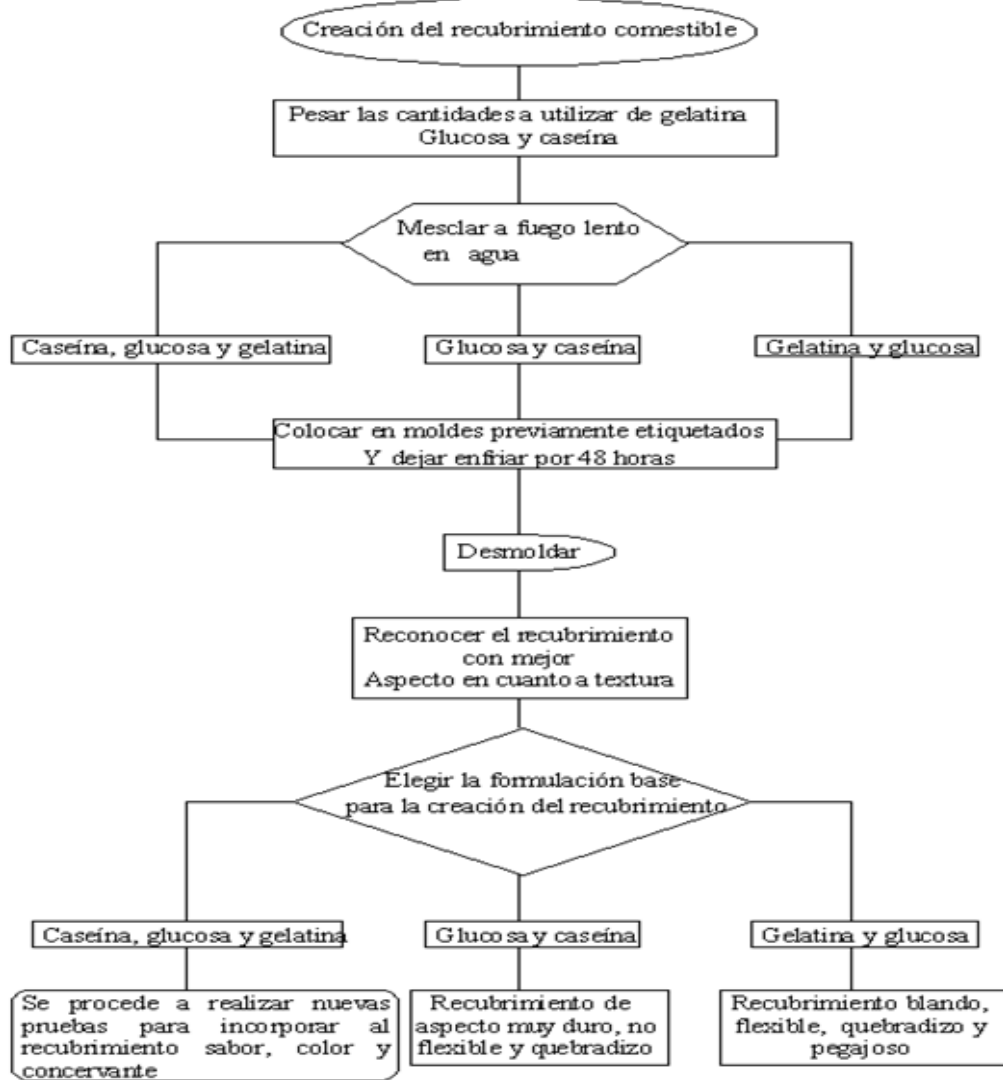
Agregar a la solución preparada zumo de fruta a elección y añadir por cada 250ml de solución 10 mL de sorbato de potasio como conservante, mezclar y dispensar en moldes.

Dejar enfriar por 48 horas antes de proceder al desmoldado. Recortar el recubrimiento previo a su utilización

2.5.1. FLUJOGRAMA DE PROCESO

El procedimiento para la formación del recubrimiento comestible previo a la elección de su formulación se describe en el Cuadro 2.

Cuadro No. 2. Flujoograma De Obtención de Formula Madre de R.C.

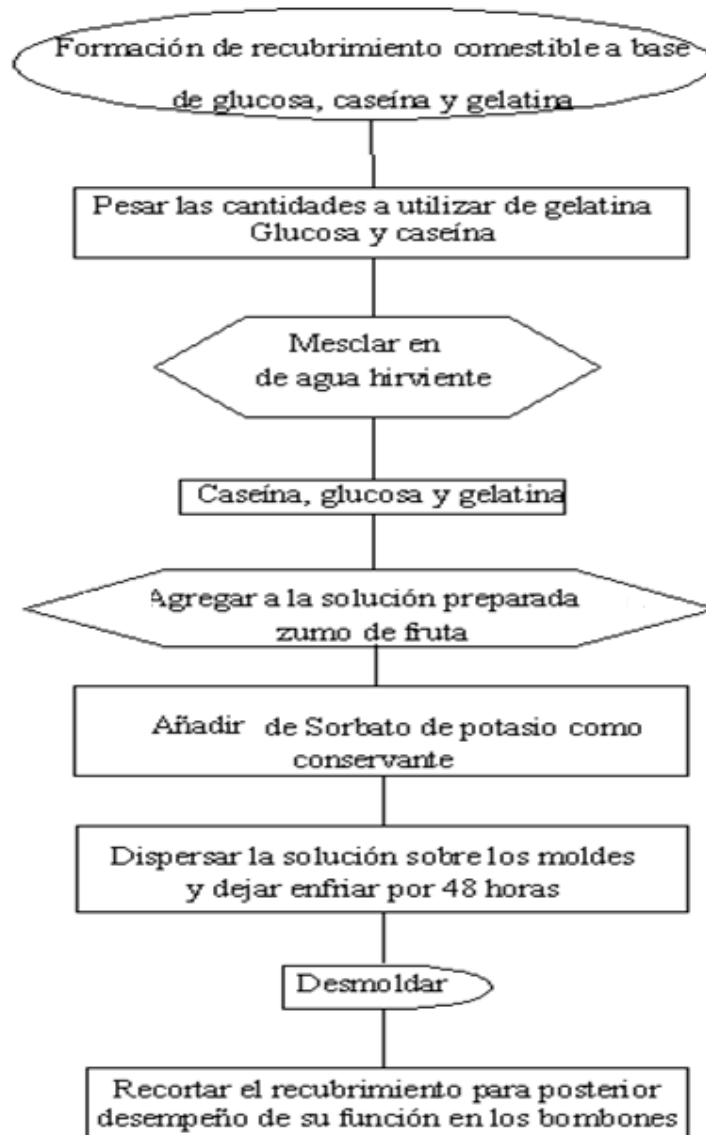


Fuente: Cristina Carrera Castro

2.5.1.1. FLUJOGRAMA DE PROCESO PARA LA FORMACIÓN DE RECUBRIMIENTO

COMESTIBLE A BASE DE GLUCOSA, GELATINA Y CASEÍNA.

Cuadro No.3. Flujograma De Proceso para la Formación de R.C. a Base de Glucosa, Gelatina y Caseína



Fuente: Cristina Carrera Castro

2.6. TÉCNICAS

2.6.1. EXTRACCIÓN DE CASEÍNA

Procedimiento:

- Verter 1L de leche descremada en una cacerola.
- Calentar hasta 40 °C, adicionando por goteo, ácido acético 6 mL, agitando en forma continua y hasta que no se observe más precipitación.
- Decantar y pasar el sólido obtenido a un vaso de precipitación
- Disgregar el sólido con ayuda de una varilla.
- Lavar con 20 mL de etanol y dejar decantar.
- Desechar el líquido y secar el sólido con ayuda de una estufa de aire caliente.
- Pulverizar en un mortero, pesar y guardar en frasco de vidrio.(38)

Cálculos

$$R_b (\%) = \frac{m_1}{m} \cdot 100$$

Donde:

R= Rendimiento

m_1 = masa en gramos de caseína seca

m = masa en gramos de leche, (densidad leche 1,03 g/l)

2.6.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

2.6.2.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y MATERIA SECA (MÉTODO DE DESECACIÓN EN ESTUFA DE AIRE CALIENTE TÉCNICA AOAC 14.003)

Principio

El presente método determina la humedad contenida como pérdida en el peso de la muestra, Cuando esta se calienta a temperatura de $103 \pm 3^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante, el secado tiene una duración de 2 a 3 horas.

Procedimiento:

- Encender la estufa, regularla a 130°C . Controlar que llegue a la temperatura requerida.
- Pesar la cápsula de vidrio, limpia y rotulada, previamente secada a $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y enfriada. Registrar este dato.
- Homogenizar la muestra.
- Pesar la cantidad de muestra previamente homogenizada, en la cápsula. Registrar este dato.
- Colocar la cápsula con la muestra en la estufa a $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$
- Una vez transcurrido el tiempo de secado, tapar la cápsula mientras está en la estufa antes de retirarla.
- Retirarla y colocarla en desecador con silica gel anhidra.

- Dejar enfriar hasta que alcance temperatura ambiente.
- Pesar. Registrar este dato.

Cálculos

Calcular el porcentaje de humedad de la muestra según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \left[\frac{A \times 100}{B} \right]$$

Siendo:

A: peso de la muestra desecada

B: peso de la muestra

2.6.2.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS. MÉTODO DE INCINERACIÓN EN MUFLA (TÉCNICA AOAC 14.006)

Principio:

Se lleva a cabo por medio de incineración seca y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$, con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el CO_2 , agua y la sustancia inorgánica (sales minerales) se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris o gris claro.

Procedimiento:

- Colocar la cápsula con la muestra seca resultado de la determinación del contenido de humedad en un reverbero y en Sorbona, y calcinar hasta ausencia de humo.

- Transferir la cápsula a la mufla e incinerar a 500- 550°C, hasta obtener cenizas libres de residuo carbonoso.
- Sacar la cápsula y colocar en el desecador, enfriar y pesar.
- Realizar la determinación por duplicado.

Cálculos

$$C\% = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

C% = Porcentaje de ceniza.

m= masa de la cápsula vacía en gramos.

m₁= masa de la cápsula con muestra antes de la incineración en gramos.

m₂= masa de la cápsula con las cenizas después de la incineración en gramos.

2.6.2.3. DETERMINACIÓN DE FIBRA (TÉCNICA AOAC 7050)

Principio:

Se basa en la sucesiva separación de la ceniza, proteína, grasa y sustancia extraída libre de nitrógeno; la separación de estas se logre mediante el tratamiento con una solución débil de ácido sulfúrico y álcalis, agua caliente y acetona. El ácido sulfúrico hidroliza a los carbohidratos insolubles, los álcalis transforman en estado soluble a las sustancias albuminosas y separan la grasa, el éter o acetona extraen las resinas, colorantes, residuos de grasa y eliminan el agua. Luego de este tratamiento, el residuo es fibra bruta.

Procedimiento:

- Se pesa 1 gramo de la muestra problema por adición en un papel aluminio y se registra el peso (W1).
- Colocar la muestra en el vaso y se pesa el papel con el sobrante, se apunta este peso (W2).
- A cada vaso con la muestra se coloca 200mL de H₂SO₄ al 7% más 2mL de alcohol n-amílico; estos vasos colocamos en las hornillas del digestor levantado lentamente haciendo coincidir los vasos con los bulbos refrigerantes.
- Se deja por 25 minutos regulando la temperatura de la perilla en 7, también controlando que el reflujo de agua este funcionando adecuadamente.
- A los 25 minutos se baja la temperatura de la posición 7 a 2.5 y se añade 20 mL de NaOH al 22% manejando los vasos con sumo cuidado y se deja por unos 30 minutos exactos. Los tiempos se toman desde que comienza la evolución.
- Una vez culminada la digestión alcalina se arma el equipo de bomba de vacío , preparando además los crisoles de Gooch con lana de vidrio para proceder a la filtración.
- Colocar los crisoles en la bomba, filtrando de esta manera el contenido de los vasos realizando un lavado agua destilada caliente.
- Raspar el residuo que se encuentra adherido a las paredes del vaso y enjuagar posteriormente.
- El lavado se realiza con 200mL de agua, se debe tratar con precaución la filtración para evitar que se derrame el contenido por las paredes del crisol.

- Colocar los crisoles en una caja petri y sobre la sustancia retenida en la lana de vidrio añadir acetona hasta cubrir el contenido del crisol.
- Posteriormente pasar los crisoles con la caja petri a la estufa de aire caliente por un lapso de 8 horas a 105 °C.
- Sacar al desecador, pesar y registrar el peso obtenido.(W3)
- Una vez pesado se lleva a la mufla a una temperatura de 600 °C por 4 horas como mínimo una vez que la mufla haya alcanzado la temperatura indicada.
- Sacar los crisoles de mufla al desecador por 30 minutos.
- Pesar el crisol más las cenizas y registrar el peso. (W4)
- Calcular por diferencia de peso la fibra bruta.

Cálculos:

Porcentaje de fibra:

$$\%F = \frac{W_3 - W_4}{W_2 - W_1} \times 100$$

Donde:

F= fibra

W1= peso del papel solo

W2= peso del papel más muestra húmeda

W3= peso del crisol más muestra seca

W4= peso del crisol más cenizas

Fibra bruta en base seca:

$$\%F.B.S = \frac{100 \times \%FB}{\%M.S}$$

Donde:

%F.B.S= % Fibra en Base Seca

%FB= % Fibra Bruta

%M.S= %Materia Seca

2.6.2.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA (TÉCNICA AOAC 2049)

Principio:

Al someter a calentamiento y digestión una muestra problema con ácido sulfúrico concentrado los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar CO₂ y agua, la proteína se descompone con la formación de amoníaco, el cual interviene en la reacción con el ácido sulfúrico y forma el sulfato de amonio, este sulfato en medio ácido es resistente y su destrucción con desprendimiento de amoníaco sucede solamente en medio básico; luego de la formación de sal de amonio actúa una base fuerte al 50% y se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 2,5% y titulado con HCl al 0,1N.

Procedimiento:

- Pesar el papel bond (W1) y por adición pesar un gramo de muestra. Registrar el peso del papel solo y del papel más muestra (W2).
- En el pape con muestra añadir 8 gramos de sulfato de sodio más 0,1 gramos de sulfato cúprico y colocar en un balón.
- Añadir 25 mL de H₂SO₄ concentrado (grado técnico).
- Cada balón con este contenido es llevado a las bombillas de macro Kjelndahl para su digestión, a una temperatura graduada de 2,9 por 45 minutos a partir del momento que se clarifica la digestión.
- Enfriar hasta que se clarifique el contenido de los balones.
- Una vez terminada la fase de digestión se procede a preparar la etapa de destilación, para lo cual se coloca en los matraces erlenmeyer 50 mL de ácido bórico al 2.5% y colocar en cada una de las terminales del equipo de destilación.
- Colocar 250 mL de agua destilada más 80 mL de hidróxido de sodio al 50% y añadir 3 lentejas de Zn en cada balón con muestra cristalizada.
- Someter a calor para dar inicio a la fase de destilación.
- El amoníaco como producto de la destilación es receptado hasta un volumen de 200 mL en cada matraz.
- Retirar los matraces con su contenido, y recuperar las lentejas de zinc.
- Para la titulación armar el soporte universal con la bureta y el agitador magnético.

- Añadir en cada matraz 3 gotas de indicador macro Kjeldahl y colocar las barras de agitación magnética en el interior de cada matraz y llevar al agitador magnético.
- Cargar la bureta con HCl al 0.1N.
- Prender el agitador y dejar caer gota a gota el ácido clorhídrico hasta obtener un color grisáceo que es el punto final de la titulación.
- Apuntar el número de mL de HCl 0.1 N utilizados en la titulación para el cálculo respectivo.

Cálculos:

Porcentaje de Proteína:

$$\%P = \frac{NHCl \times 0.014 \times 100 \times 6.25 \times mL\ HCl}{W_2 - W_1}$$

Donde:

%PB= % Proteína Bruta

W1= Peso del papel solo

W2= Peso del papel más muestra

mL HCl= mL de Ácido Clorhídrico utilizado al titular.

Proteína en Base Seca:

$$\%P.B.S. = \frac{100 \times \%PB}{\%M.S}$$

Donde:

%P.B.S= % Proteína en Base Seca.

%PB= % Proteína Bruta

%M.S= % Materia Seca

2.6.2.5. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉRTEO (TÉCNICA AOAC 7.062)

Procedimiento:

- Pesar 2 gramos de muestra seca y colocar en el dedal, para luego introducirlo en la cámara de sifonación.
- Adicionar 50 mL de éter etílico o éter de petróleo en un balón tarado.
- Embonar la cámara de sifonación al balón.
- Colocar el condensador con las mangueras sobre la cámara de sifonación.
- Encender la parrilla controlando la entrada y salida del agua. Realizar la extracción de 8 a 12 horas.
- Retirar el balón con el solvente más el extracto graso y destilar el solvente.
- Colocar en la estufa por media hora al balón con la grasa bruta o cruda.
- Enfriar en el desecador y pesar.

Cálculos:

$$\%Ex.E = \frac{P_1 - P}{m} \times 100$$

Donde:

% Ex. E= Grasa cruda o bruta en muestra seca expresado en porcentaje en masa.

P1= masa del balón más la grasa cruda o bruta extraída en gramos.

P= masa del balón de extracción vacío en gramos.

m= masa de la muestra seca tomada para la determinación en gramos.

2.6.2.6. EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO (ELnN)

Cálculos:

$$\%ELnN = 100 - \sum (\%H + \%C + \%F + \%Ex.E + \%P)$$

Donde:

%ELnN= Porcentaje de carbohidratos digeribles

%H= porcentaje de humedad

%C= Porcentaje de cenizas

%F= Porcentaje de fibra

%P= Porcentaje de proteína

2.6.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

2.6.3.1. RECUENTOS DE AEROBIOS TOTALES

Se realizó el recuento del número de microorganismos Aerobios Mesófilos mediante la técnica de recuento en placa regido por el método INEN 1529-5 que se observa en el Anexo No. 1.

2.6.3.2. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y *E. coli*

La determinación de Coliformes fecales y *E. coli* se realizó por la técnica del número más probable NMP/g, regulada por la NTE: INEN 1529-8 (Anexo No.2.)

2.6.3.3. DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS

La determinación de mohos y levaduras del recubrimiento comestible se realizo utilizando la técnica regida por el método de la AOAC ubicado en Anexo No.3.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Los resultados analíticos bromatológicos (proximal) del recubrimiento comestible se pueden visualizar en la Tabla 9.

Tabla No.9. Resultados del Análisis Proximal

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	
		R.C. Mora	R.C. Maracuyá
Humedad	%	13.22	12.35
Cenizas	%	1.66	1.51
Fibra	%	0.36	0.28
Proteína	%	17.86	23.05
Grasa	%	0.21	0.42
Extracto libre no nitrogenado	%	66.69	62.39

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Los resultados obtenidos del análisis bromatológico (proximal) para el recubrimiento comestible difirieron en función al sabor, pese a que se utilizó la misma formulación base para su obtención, así, la humedad para el R.C. de mora fue de 13.22% y para el R.C. de maracuyá de 12,35% teniendo mayor contenido el R.C. de Mora.

El porcentaje de ceniza del recubrimiento fue de 1,66% para el R.C de mora y 1,51% para el R.C. de maracuyá, esto muestra que es mayor el contenido mineral del R.C. de mora.

El porcentaje de fibra es mínimo en el recubrimiento, sin embargo se detecto un contenido de 0.36% para el R.C de mora y 0.28% para el R.C. de maracuyá, presentando mayor porcentaje el R.C. de mora.

El resultado de porcentaje de proteína fue de 17.86% para el R.C. de mora y de 23.05% en el R.C. de maracuyá, presentando una notable diferencia porcentual, presentando un porcentaje superior el R.C. de maracuyá.

El porcentaje de grasa del R.C. de maracuyá es superior al porcentaje del R.C. de mora, siendo de 0.42% y 0.21% respectivamente, al ser estos porcentajes inferiores al 1%, son datos inferiores referente al aporte lipídico.

3.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN SENSORIAL DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

La evaluación sensorial de las pruebas piloto previo a la elección de la formulación base arrojó los siguientes resultados:

Tabla No.10. Resultados de la Evaluación Sensorial Pruebas Piloto

FORMULACIÓN	PARÁMETROS			
	COLOR	OLOR	SABOR	TEXTURA
Glucosa – Gelatina				
1:2	Blanco	Inoloro	Ligeramente dulce	blando-débil-pegajoso
1:3	Blanco	Inoloro	Ligeramente dulce	blando-débil-viscoso
2:1	Blanco	Ligeramente dulce	Dulce	blando-débil- adherente
Caseína – Glucosa				
1:1	Blanco	Ligeramente dulce	Dulce- ligeramente amargo	débil-quebradizo
2:1	Blanco	Ligeramente dulce	Dulce- amargo al final	duro- ríjido
3: 1	Blanco	Ligeramente dulce	Amargo	duro- ríjido- tieso
Caseína- Glucosa-Gelatina				
1:3:2	Blanco	Dulce	Dulce- agradable	blando-flexible-similar al papel
2:1:1	Blanco	Ligeramente dulce	Dulce- ligeramente amargo	blando-flexible-quebradizo
1:4:2	Blanco	Dulce	Dulce- agradable	blando-flexible-ligeramente pegajoso-similar al plástico

Fuente: Cristina Carrera Castro.

El color presentado por las distintas formulaciones previo a la obtención de la fórmula madre del recubrimiento comestible fue blanco para todos los casos presentando como única diferencia la intensidad del color.

Se debe tener en cuenta que la caseína sufre gelificación al entrar en contacto con el catión calcio, y junto al poder gelificante de la gelatina contribuyen a la formación del recubrimiento.

La formulación glucosa- gelatina presentó olor, sabor y textura similar en las proporciones 1:2 y 1:3 como se puede observar en la Tabla 10. En cambio la formulación de proporción 2:1 difiere su olor y sabor en función al dulzor puesto que este se intensifica. En lo que respecta a la textura, esta es similar a las anteriores mostrando un mayor grado de adherencia.

La formulación caseína glucosa presentó un aroma ligeramente dulce para todas las proporciones, el sabor para las proporciones 1:1 y 2:1 fue dulce al inicio y ligeramente amargo al final, la formulación 1:3 predominó el sabor amargo ante el dulzor de formulaciones anteriores. En cuanto a la textura estos recubrimientos fueron diferentes, así la proporción 1:1 presentó un recubrimiento débil y quebradizo, la proporción 2:1 fue duro, y rígido, por último para la formulación 1:3 el recubrimiento se presentó duro, rígido y tieso.

En la formulación de glucosa, caseína y gelatina 1:3:2 y 1:4:2 el aroma y sabor del recubrimiento fue dulce, agradable, en tanto que el recubrimiento de proporción 2:1:1 presentó un aroma ligeramente dulce y sabor dulce, ligeramente amargo; en lo concerniente a textura fue blando y flexible para las tres proporciones, diferenciándose de la siguiente manera: el R.C. de proporción 1:3:2 se asemejó a la textura del papel, el de proporción 2:1:1 era quebradizo, y por último el R.C. de proporción 1:4:2 imitó a la textura del plástico, con la diferencia de que este R.C. era ligeramente pegajoso.

La formulación de glucosa, caseína y gelatina en sus diferentes proporciones presenta mejores características sensoriales con relación a la formulación de glucosa- gelatina y

caseína- glucosa, siendo esta ultima la menos aceptable. Razón por la que se seleccionó como formulación base aquella compuesta por glucosa, caseína y gelatina en proporción 1:3:2.

Una vez realizadas las pruebas piloto y determinada la formulación base y mediante la utilización de los sentidos se obtuvo los resultados del análisis organoléptico del recubrimiento comestible en su presentación final:

Tabla No. 11. Resultados del Análisis Organoléptico del Recubrimiento Comestible

PARÁMETRO	SENTIDO	RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	
		Mora	Maracuyá
Color	Vista	Rosado	Amarillo
Olor	Olfato	Dulce/ frutal	Dulce/ frutal
Sabor	Gusto	Dulce	Dulce/ cítrico
Textura	Tacto	Flexible	Flexible

Fuente: Cristina Carrera Castro.

El recubrimiento comestible para bombones de chocolate obtenido fue de sabor a mora y de sabor a maracuyá.

El recubrimiento de sabor a mora fue de color rosado, de aroma dulce y frutal, de textura flexible y sabor dulce.

El recubrimiento de sabor a maracuyá se caracterizó por poseer un color amarillo, de aroma dulce y frutal, de textura flexible y sabor dulce cítrico.

3.3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los resultados obtenidos del análisis microbiológico de los recubrimientos comestibles están abalados por el laboratorio de análisis técnicos del área de microbiología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y están dados para microorganismos aerobios mesófilos, Coliformes fecales - *E. coli*, y Mohos y levaduras. (Anexo 5.)

Tabla No.12. Resultados del Análisis Microbiológico

MICROORGANISMO ANALIZADO	UNIDAD	RESULTADO	
		R.C. Mora	R.C. Maracuyá
Aerobios Mesófilos	UFC/g	7×10^3	7×10^4
Coliformes fecales y <i>E. coli</i>	NMP/g	0	2400
Mohos y levaduras	UPC/g	0	10

Fuente: Cristina Carrera Castro.

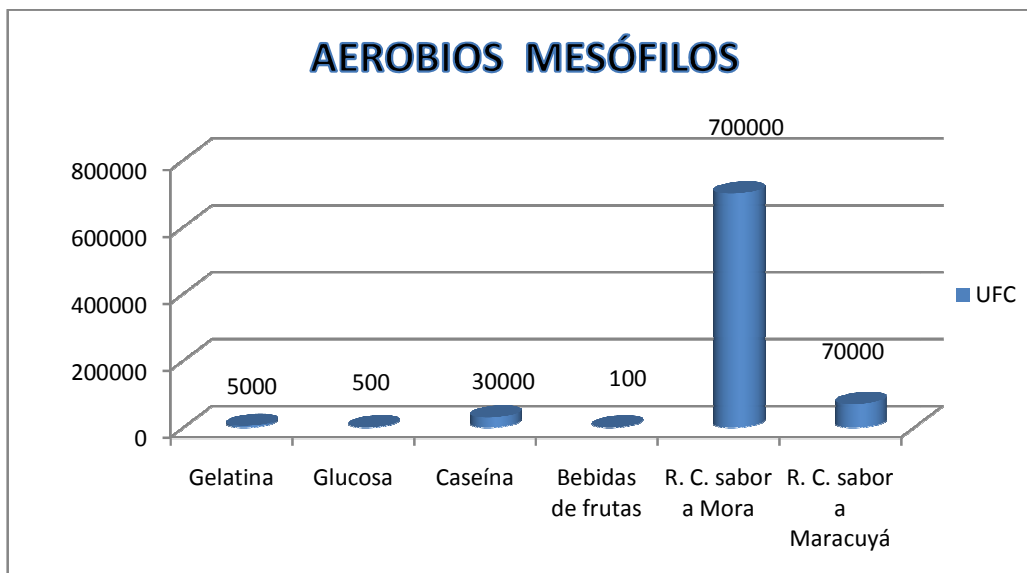
Al no existir una legislación que rija a los recubrimientos comestibles para bombones de chocolate los valores encontrados de microorganismos fueron analizados y comparados con límites máximos presentados por normativas de algunos de sus ingredientes.

Tabla No.13. Límite máximo de Aerobios Mesófilos en Ingredientes del R.C.

ALIMENTO	NORMATIVA	UNIDAD	MÁXIMO
Gelatina	NTE: INEN 1961: 1993	ufc/g	5×10^3
Caseína	FIL 100B: 1991	ufc/g	3×10^4
Glucosa	NTE: INEN 0259:2000	ufc/g	5×10^2
Bebidas de frutas	NTE: INEN 2337:2008	ufc/cm ³	1×10^2

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 6. Análisis Comparativo de Aerobios Mesófilos de R.C.



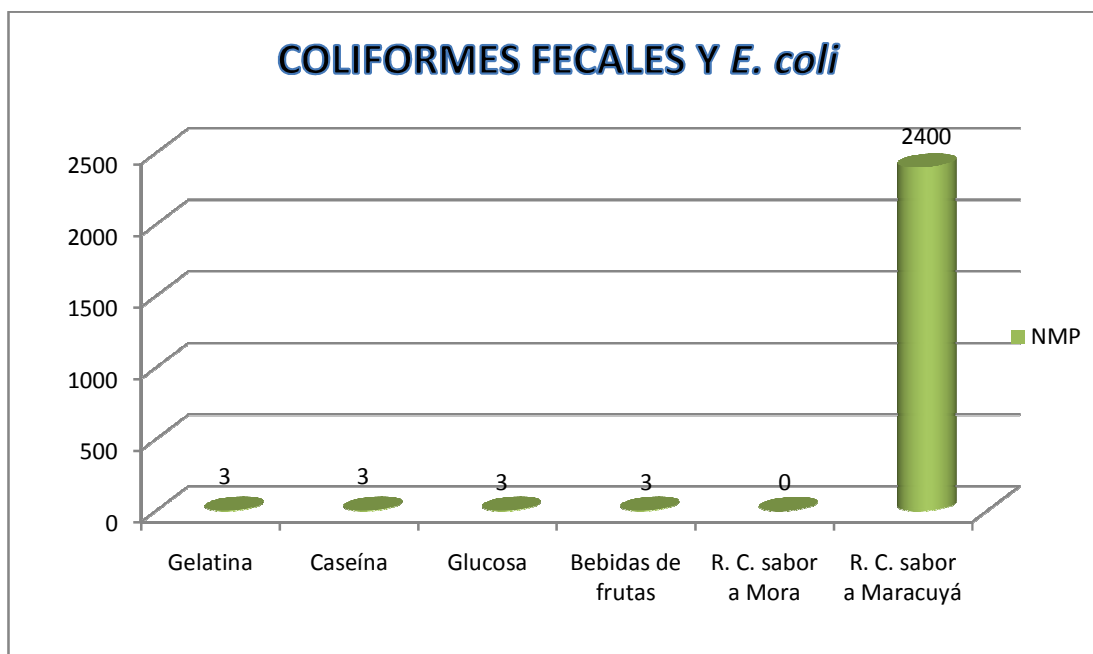
La figura 6. Muestra claramente un alto grado de contaminación bacteriana por microorganismos aerobios mesófilos en el R.C. de sabor a mora con 7×10^5 UFC/g, seguido por el R.C. de sabor a maracuyá que posee 7×10^4 UFC/g que supera el límite máximo de los ingredientes que conforman el R.C. incluyendo la caseína que presenta 3×10^4 UFC/g como máximo de aerobios mesófilos, a la gelatina con 5×10^3 UFC/g, a la glucosa con 5×10^2 UFC/g y al zumo de fruta con 1×10^2 UFC/cm³.

Tabla No.14. Límite máximo de Coliformes fecales y *E. coli* en Ingredientes del R.C

ALIMENTO	NORMATIVA	UNIDAD	MÁXIMO
Gelatina	NTE: INEN 1961: 1993	NMP/g	<3
Bebidas de frutas	NTE: INEN 2337:2008	NMP/cm ³	<3
Caseína	FIL 138: 1986	NMP/g	<3
Glucosa	NTE: INEN 0259:2000	NMP/g	<3

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 7. Análisis Comparativo de Coliformes Fecales y *E. coli* del R.C.



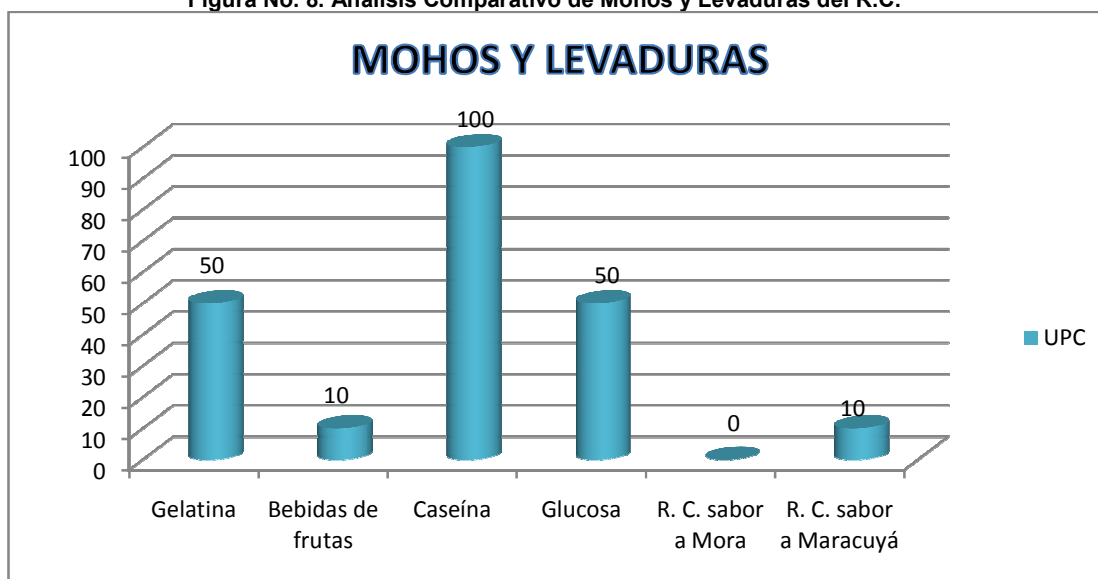
El R.C. sabor a maracuyá muestra contaminación por coliformes fecales de un NMP/g de 2400 superiora a 3 que es el límite máximo presentado por los ingredientes del R.C. lo que se contrapone por completo a la ausencia de coliformes fecales presentada por el R.C. de sabor a mora.

Tabla No.15. Límite máximo de Mohos y Levaduras en Ingredientes del R.C

ALIMENTO	NORMATIVA	UNIDAD	MÁXIMO
Gelatina	NTE: INEN 1961: 1993	UPC /g	50
Bebidas de frutas	NTE: INEN 2337:2008	UPC/cm ³	<10
Caseína	FIL 94B: 1990	UPC/g	100
Glucosa	NTE: INEN 0259:2000	UPC/g	50

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 8. Análisis Comparativo de Mohos y Levaduras del R.C.



Los R.C. de mora y maracuyá presentó 0 UPC /g y 10 UPC /g respectivamente, encontrándose dentro de los límites de mohos y levaduras en función a la comparación con los requerimientos máximos de los ingredientes del R.C, puesto que el máximo de mohos y levaduras para la caseína se tiene 100 UPC /g, para la glucosa y la gelatina es de 50 UPC /g, para la bebidas de frutas <10 UPC /g.

3.4. ACEPTABILIDAD

La aceptabilidad del recubrimiento comestible y parámetros como el sabor y color se determinaron a través del análisis de los resultados de la encuesta realizada a la comunidad asistente a la feria de emprendimiento ESPOCH 2011 obteniendo los siguientes resultados:

1. CONSIDERA USTED AL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE UN PRODUCTO INOVADOR Y BENÉFICO EN CUANTO A LA CONSERVACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE?

Tabla No. 16. Tabulación Datos P.1

ESCALA	N ⁰ ENCUESTAS
SI	80
NO	0

Fuente: Cristina Carrera Castro.

De las 80 personas encuestadas el 100% de ellas manifiesta que el recubrimiento comestible para bombones de chocolate es un producto innovador y benéfico en cuanto a la conservación del medio ambiente por lo que esta primera pregunta merece una atención especial puesto que estas características mencionadas hacen del recubrimiento un producto atractivo para el consumidor.

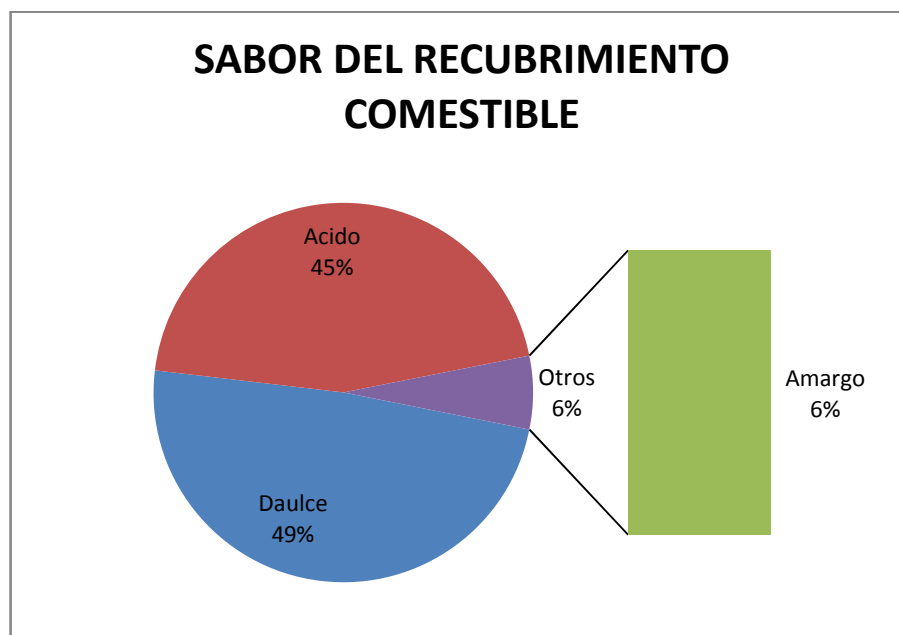
2. ¿CÓMO CALIFICA EL SABOR DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE?

Tabla No. 17. Tabulación Datos P.2

ESCALA	N ⁰ ENCUESTAS
Dulce	39
Acido	36
Amargo	5

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 9. Análisis de datos P2



De las 80 personas encuestadas (100%), 39 personas con el 49% manifiestan que el sabor del recubrimiento es dulce, y muy seguido a ello 36 con el 45% manifestó que el sabor del recubrimiento comestible es ácido, por último un 5 encuestados con el 6% dijo que el sabor del recubrimiento era amargo. Lo que lleva a reconocer que el sabor que predomina en el recubrimiento comestible es dulce con un matiz ácido.

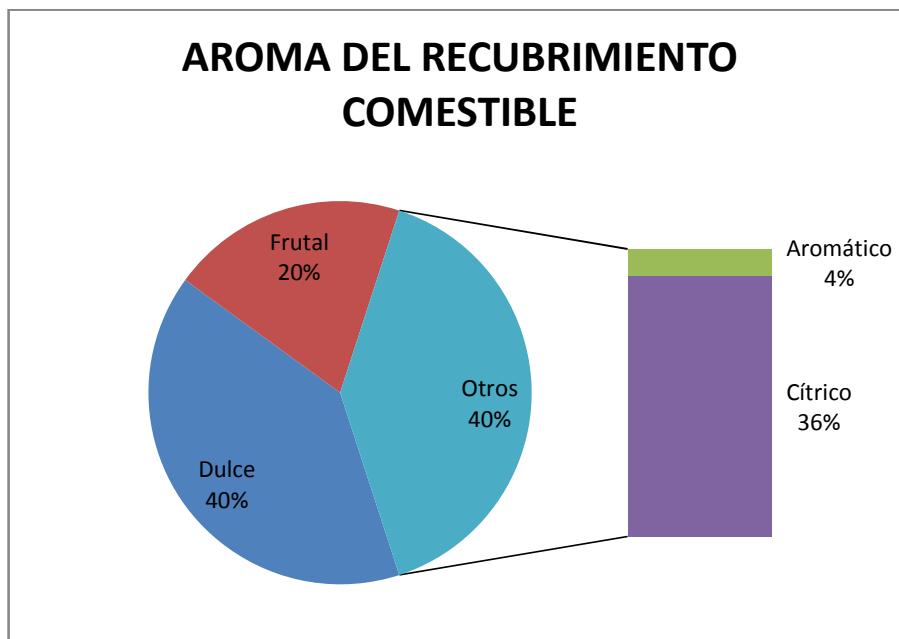
3. SEGÚN SU CRITERIO EL AROMA QUE DERIVA DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE ES:

Tabla No.18. Tabulación Datos P.3

ESCALA	Nº ENCUESTAS
Dulce	32
Frutal	16
Aromático	3
Cítrico	29

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 10. Análisis de datos P3



El aroma del recubrimiento comestible descrito por los 80 encuestados fue 40% dulce, 36% cítrico, 20% frutal y 4% aromático. Resultados que permiten considerar al recubrimiento comestible un producto de aroma dulce con una modalidad cítrica.

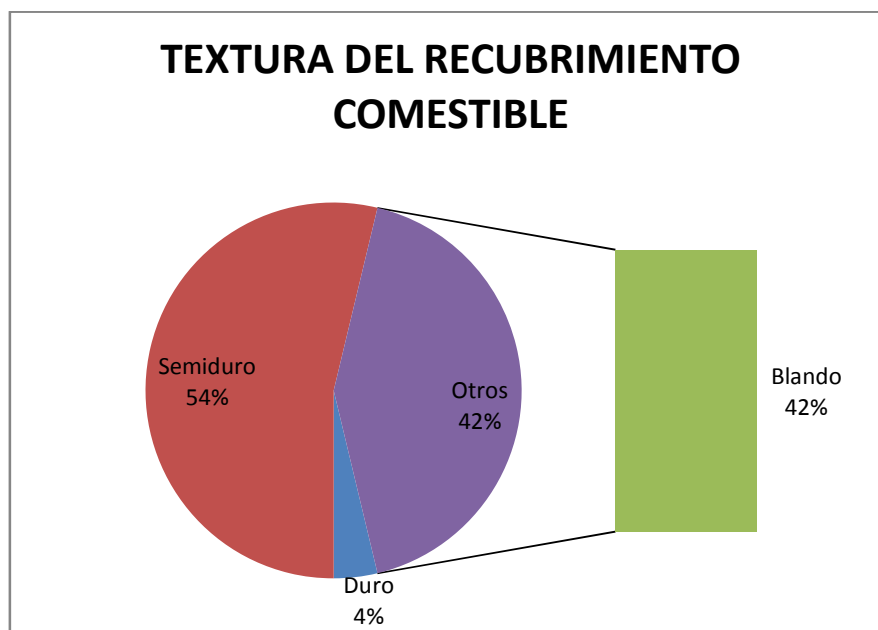
4. ¿CÓMO CONSIDERA LA TEXTURA DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE?

Tabla No. 19. Tabulación Datos P.4

ESCALA	N ⁰ ENCUESTAS
Duro	3
Semiduro	43
Blando	34

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura No. 11. Análisis de datos P.4



De los 80 participantes de la encuesta correspondiente al 100%, 43 concerniente al 54% opinan que el recubrimiento es semiduro, 34 encuestados con el 42% opinan que el recubrimiento es blando, y solo 3 personas con el 4% manifestaron que el recubrimiento era duro. Esto denota que el recubrimiento comestible es semiduro lo que refleja que este es resistente a colisiones, y con el alto porcentaje de encuestados que opinan que el recubrimiento es blando se asume que con ello se refieren a que el recubrimiento es flexible a manera que este cumple las exigencias en cuanto a forma para lo que fue fabricado.

5. ¿CUÁL DE ESTOS DOS SABORES PROPUESTOS PARA EL RECUBRIMIENTO SON DE MAYOR AGRADO PARA USTED?

Tabla No. 20. Tabulación Datos P.3

Esca	Nº ENCUESTAS
Mora	42
Maracuyá	38

Fuente: Cristina Carrera Castro.

Figura12. Análisis de datos P3



La respuesta obtenida de los 80 encuestados concernientes al 100%, 42 esto es el 52% prefieren el sabor a mora, mientras que 38 que es el 48% prefieren el sabor a maracuyá, lo que indica que ambos sabores son de alta aceptabilidad, sin embargo existe una mayor preferencia por el recubrimiento comestible sabor a mora.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se preparó recubrimientos comestibles de sabor a mora y de sabor a maracuyá para bombones de chocolate logrando que posea características de textura flexible, similar al papel, olor y sabor agradable dulce y frutal y color característico al sabor de cada recubrimiento.
2. La formula base para la obtención del recubrimiento comestible fue de caseína, glucosa y gelatina en proporción 1:3:2 respectivamente.
3. La encuesta de degustación determina que tiene mayor aceptabilidad el recubrimiento comestible de sabor a mora con un 52% a diferencia del recubrimiento comestible sabor a maracuyá que presento el 48%.
4. El control de calidad del recubrimiento comestible demuestran que este contiene proteína en un 17.86% en el R.C. de mora y de 23.05% en el R.C.de maracuyá. El contenido en grasa es bajo ya que tiene 0.42% y 0.21% el R.C. de maracuyá y el R.C. de mora respectivamente, el porcentaje de fibra del recubrimiento es de 0.36% para el R.C de mora y 0.28% para el R.C. de maracuyá, la humedad para el R.C. de mora fue de 13.22% y para el R.C. de maracuyá de 12,35% , el porcentaje de ceniza del recubrimiento fue de 1,66% para el R.C de mora y 1,51% para el R.C. de maracuyá.

5. El análisis microbiológico reveló una elevada carga microbiana en cuanto a aerobios mesófilos presentando el R.C. de sabor a mora 7×10^5 UFC/g, y el R.C. de sabor a maracuyá 7×10^4 UFC/g superior al límite máximo de los ingredientes que lo conforman lo que demuestra contaminación bacteriana.
6. El recubrimiento comestible de sabor a maracuyá posee mayor carga microbiana que el recubrimiento comestible de sabor a mora debido a que el maracuyá en su mayor parte suele ser una fruta que está en contacto con suelos contaminados al momento de su recolección.
7. El recubrimiento comestible sabor a mora posee propiedades admisibles con relación al recubrimiento comestible sabor a maracuyá fundamentándose en sus parámetros microbiológicos y en la aceptabilidad.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

- 1.** Someter a un proceso de pasteurización a los zumos de fruta previo a su utilización como ingrediente en la fabricación del recubrimiento comestible.
- 2.** En la preparación del recubrimiento comestible utilizar agua purificada con la finalidad de disminuir la carga microbiana.
- 3.** Investigar nuevos medios que permitan acelerar la fase de secado y desmoldado de los recubrimientos.
- 4.** Aplicar las BPM en la elaboración del recubrimiento comestible.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

El objetivo de esta tesis es preparar recubrimientos comestibles para bombones a base de gelatina, glucosa, y/o caseína con la finalidad de proporcionar mayor valor nutritivo y contribuir al cuidado del medio ambiente disminuyendo la producción de basura.

Para la obtención de la fórmula base del recubrimiento se usó como materia prima glucosa, caseína y gelatina. Como saborizante y colorante zumo de mora y de maracuyá obteniéndose recubrimientos de los sabores mencionados.

Se utilizó el método experimental permitiendo determinar su formulación mediante mezclas cuantitativas valoradas cualitativamente obteniendo buenos resultados con la proporción 1:3:2 de caseína, glucosa y gelatina respectivamente.

Los recubrimientos con sabor se sometieron a análisis bromatológicos y microbiológicos observándose que el recubrimiento comestible sabor a mora posee 17.86% de proteína, 0.21% de grasa, 0.36% de fibra, 13.22% de humedad y 1.66% de ceniza. Para el recubrimiento comestible sabor a maracuyá se tuvo 23.05% de proteína, 0.42% de grasa, 0.28% de fibra, 12.35% de humedad y 1.51% de cenizas. El análisis microbiológico reveló una carga de aerobios mesófilos de 7×10^4 UFC/g en el recubrimiento sabor a maracuyá y 7×10^5 UFC/g en el recubrimiento sabor a mora; los mohos y levaduras del

recubrimiento comestible de maracuyá fueron de 10 UPC/g y 2400 NMP/g coliformes fecales y *E. coli*, por lo que éste fue rechazado.

Se logró obtener recubrimientos comestibles para bombones con cualidades organolépticas, bromatológicas y microbiológicas admisibles presentando mayor aceptabilidad el recubrimiento comestible con sabor a mora.

ABSTRACT

Eating covering for chocolates, using gelatin, glucose and casein.

The objective of this investigation is to prepare eating covering for chocolates using gelatin, glucose or casein with the aim to give more nutritive value and contribute to the care of the environment and minimize the rubbish production.

To get the formula, we used: gelatin, glucose and casein. The flavoring and coloring are mora and maracuyá juiced; getting the mentioned coverings.

The method used was experimental; it helped use to determine

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA DE LIBROS, TESIS

- 1. ASTIASARÁN, I. y MARTINEZ, A.** Alimentos Composición y Propiedades. Mc Graw Hill, Mexico, 2005. pp. 213-214.
- 2. AUDIC, J. CHAUFER, B. and DAUFIN, G.** Non-food Applications of Milk Components and Dairy Co-Products. Le Lait, New York, 2003. pp. 417-438.

3. **BADUID, S. y WESLEY, A.** Química de los Alimentos. Pearson, México, 1999. pp. 84-96.
4. **BLANCO, B. MORILLO, M. y ANTOLÍN, G.** El Envasado Activo e Inteligente, una Prometedora Visión de Futuro. Revista Digital Eurocarne, España. Vol 137, pp.137, 45-54. Febrero 2005.
5. **BOLAÑOS, P. HERNANDEZ, C. y ROJAS, J.** Aspectos Tecnológicos de la Agroindustria. UNED, Costa Rica, 2002. pp. 157-158.
6. **BUSTAMANTE, W.** Apuntes de Mercadotecnia para la Microempresa Rural. COPYRIGHT, Santiago de Chile, 2001, pp. 51.
7. **CAREAGA, J.** Manejo y Reciclaje de los Residuos de Embases y Embalajes. SEDESOL, México 1993, pp. 22-25.
8. **CATALÁ, R. y GAVARA, R.** La Innovación Tecnológica en los Envases para Alimentos. Revista Digital Eurocarne, España. Vol 145. pp. 49-58. Abril 2006.
9. **CAZAR, V.** Obtención del concentrado Proteico del Lactosuero para Enriquecer Galletas, Tesis Bioquímico- Farmacéutico, Riobamba. Escuela Superior politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de bioquímica y farmacia, 2008.
10. **CHARLEY, H.** Tecnología De Alimentos. LIMUSA, México, 1991. pp 615-619
11. **CODEX ALIMENTARIUS,** Etiquetado de los Alimentos, Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Quinta Edición, Roma 2007 pp.1 -2
12. **DEMUNER, D. y VERDALET, I.** La Ciencia y el Hombre, Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana, Vol 16, Número 2, Mayo-Agosto 2004.

13. **DEMUNER, D. VERDALET, I.** La ciencia y el Hombre, Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana, Vol 17, Número 3, Septiembre - Octubre 2004.
14. **GALLEGOS, J.** Manual de Prácticas de Microbiología de Alimentos, Xerox, 2007, pp. 35-50.
15. **GARCÍA G. QUINTERO R. LÓPEZ M,** Biotecnología Alimentaria, Editorial LIMUSA, México, 2004. pp. 470-482.
16. **GREENER, D. FENNEMA, O.** Edible Films and Coatings, Lancaster, Pensilvania, pp.1-21.
17. **HART L,** Analisis Moderno de los Alimentos, ACRIBIA, España, 1971. pp. 59-62.
18. **KROCHTA, J. BALDWIN, E. and NISPEROS, M..** Edible Coatings and Films Based on Polysaccharides. Technomic Publishing Inc, Lancaster, Pensilvania, 1994. pp. 305-336.
19. **PEGGY, O. BARRIE, A.** Técnicas de Envasado y Empaque, UNIFEM, Perú, 1998. pp. 21-22.
20. **SANCHÉZ, M.** Procesos de Elaboración de Alimentos y Bebidas. MUNDI - PRENSA, 1era edición, Madrid España, 2003. pp. 87.
21. **WITTIG, E.** Evaluación Sensorial. USACA, Chile, 1998. pp. 125.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

22. **CASEÍNA**
<http://es.wikipedia.org/wiki/Caseina>

2011/04/05

23. CASEINAS

<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/proteins/caseina.html>

2011/04/05

24. CLASES DE EMPAQUES

<http://junioralex.blogcindario.com/2009/08/00007-clases-de-empaques.html>

2011/04/04

25. CLASIFICACIÓN DE LOS COLORANTES

<http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/PROYECTO/P664.022CDE184/capitulo1.pdf>

2011/05/25

26. COMPOSITION, STRUCTURE, AND INTEGRITY OF CASEIN MICELLES" A REVIEW

<http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030284813326.pdf>

2011/04/06

27. CONSERVANTES

<http://www.aesan.mspsi.es/AESAN/web/faqs/conservantes.shtml>

2011/05/25

28. CONSERVANTES

<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/conservantes.html>

2011/05/26

29. ELABORACION DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES FORMULADOS CON GOMA DE MEZQUITE Y CERA DE CANDELILLA PARA REDUCIR LA CINETICA DE DETERIORO EN FRESCO DEL LIMON PERSA (*Citrus latifolia* Tanaka)

<http://148.206.53.231/UAMI10845.PDF>
2011/05/05

30. ENVASES Y ENVALAJES

<http://industrias-alimentarias.blogspot.com>
2011/04/04

31. EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEÍNA

http://www.google.com/url?sa=t&source=web&cd=3&ved=0CCgQFjAC&url=http%3A%2F%2Fwww.escuelaintegral.edu.uy%2FProteinas%2520%25206.doc&ei=zxHfTfDIEMrEgQe_su3RCg&usg=AFQjCNFk2vEToulwDRPDpLF9pAYVTWekvA
2011/05/15

32. GELATINA

<http://www.gelatine.org/es/gelatine/overview/129.htm>
2010/11/25

33. LA GELATINA

<http://www.gelatine.org/es/gelatine/legislation/140.htm>
2010/06/17

34. LOS CONSERVANTES EN LOS ALIMENTOS

<http://www.alimentacion-sana.com.ar/Portal%20nuevo/actualizaciones/conservantes.htm>
2011/05/25

35. PELÍCULAS COMESTIBLES

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/ya_h_pa/capitulo4.pdf

2011/04/05

36. PROPIEDADES FÍSICAS Y MECANICAS DE PELICULAS BIODEGRADABLES Y SU EMPLEO EN EL RECUBRIMIENTO DE FRUTOS DE AGUACATE

http://www.cicata.ipn.mx/FILES/PDF/PTA_M_20050624_001.PDF

2011/05/05

37. RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES Y SUSTANCIAS DE ORIGEN NATURAL EN MANZANA FRESCA CORTADA: UNA NUEVA ESTRATEGIA DE CONSERVACIÓN.

<http://tdx.cat/bitstream/handle/10803/8377/Trgmj1de4.pdf?sequence=1>

2011/04/05

38. Reglamento (CE) N° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. (DOCE, 13 de noviembre de 2004).

[http://eur-](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2004/l_338/l_33820041113es00040017.pdf)

[lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2004/l_338/l_33820041113es00040017.pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/site/es/oj/2004/l_338/l_33820041113es00040017.pdf)

2011/04/05

39. SABORIZANTES

<http://www.buenastareas.com/ensayos/Saborizantes/850777.html>

2011/05/15

40. TIPO DE ENVASES PARA

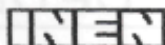
ALIMENTOS<http://www.monografias.com/trabajos66/envases-alimentos/envases-alimentos2.shtml>

2011/04/04

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

Anexo 1. Método de determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1 529-5:2006

Primera revisión

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP.

Primera Edición

MICROBIOLOGICAL CONTROL IN FOODS. DETERMINATION OF THE QUANTITY OF AEROBIC MESOPHILIC MICROORGANISMS. PCA.

First Edition

DESCRIPTORES: Microbiología de los alimentos, ensayo, REP.
AL 01.05-303
GDU: 579.67
CIU: 8320
ICS: 07.100.30:67.050

**Norma Técnica
Ecuatoriana
Voluntaria**

**CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS.
DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS
AEROBIOS MESÓFILOS. REP.**

**NTE INEN
1 529-5:2006
Primera revisión
2006-01**

1. OBJETIVO

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

2. ALCANCE

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

3. DEFINICIONES

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

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

4. RESUMEN

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

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

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

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

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

5. DISPOSICIONES GENERALES

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

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

(Continúa)

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

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

6. MATERIALES Y MEDIOS DE CULTIVO

6.1 Materiales

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

6.1.2 Cajas Petri de 90 mm x 15 mm,.

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

6.1.4 Tubos de 150 mm x 16 mm

6.1.5 Gradillas

6.1.6 Contador de colonias

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

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

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

6.1.10 Autoclave.

6.1.11 Refrigeradora para mantener las muestras y medios de cultivo

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

6.2 Medios de cultivo

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

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

7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

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

8. PROCEDIMIENTO

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

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

(Continúa)

- 8.3** Cuidadosamente, mezclar el inoculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén: 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y 5 veces en el contrario.
- 8.4** Como prueba de esterilidad verter agar en una caja que contenga el diluyente sin inocular. No debe haber desarrollo de colonias.
- 8.5** Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.
- 8.6** Invertir las cajas e incubarlas a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas.
- 8.7** No apilar más de 6 placas. Las pilas de placas deben estar separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.
- 8.8** Pasado el tiempo de incubación seleccionar las placas de dos diluciones consecutivas que presenten entre 15 y 300 colonias y utilizando un contador de colonias, contar todas las colonias que hayan crecido en el medio, incluso las pequeñitas, pero, se debe tener cuidado para no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados, para esto, utilizar lupas de mayor aumento.
- 8.9** Las colonias de crecimiento difuso deben considerarse como una sola colonia si el crecimiento de este tipo de colonias cubre menos de un cuarto de la placa; si cubre más la caja no será tomada en cuenta en el ensayo.
- 8.10** Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

9. CALCULOS

- 9.1** Caso general (placas que contienen entre 15 y 300 colonias).
- 9.1.1** Calcular el número N de microorganismo por gramo o cm^3 de producto como la media ponderada de dos diluciones sucesivas utilizando la siguiente fórmula:

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

En donde:

- $\sum c$ = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas;
- V = Volumen inoculado en cada caja Petri;
- n_1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada;
- n_2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada;
- d = Factor de dilución de la primera dilución seleccionada (d = 1 cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

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

Ejemplo:

Se obtiene los siguientes resultados (dos placas por dilución):
 primera dilución seleccionada (10- 2): 225 y 178 colonias,
 segunda dilución seleccionada (10- 3): 25 y 15 colonias,

(Continúa)

En los productos líquidos:

$$N = \frac{225 + 178 + 25 + 15}{1(2 + 0,1 \times 2)10^{-2}}$$

donde $n = 2$ y $d = 1$

con la siguiente ecuación:

$$N = \frac{443}{0,022}$$

$$N = 20136$$

Redondeando:

$$20\ 000 = 2,0 \times 10^4$$

9.2 Recuentos estimados

9.2.1 Si dos placas inoculadas con muestra no diluida (productos líquidos), o con la suspensión inicial (otros productos) o con la primera dilución inoculada o retenida contienen menos de 15 colonias, calcular el número estimado N_E de microorganismos presentes por gramo o cm^3 de producto como una media aritmética m de las colonias contadas en las dos placas utilizando la siguiente ecuación:

$$N_E = \frac{\sum c}{V \times n \times d}$$

$\sum c$ = suma de las colonias contadas en las dos placas;

V = volumen inoculado en cada placa;

n = número de placas seleccionadas (en este caso, $n = 2$).

d = factor de dilución de la suspensión inicial o de la primera dilución inoculada o seleccionada ($d = 1$ cuando se inoculara un producto líquido sin diluir).

Ejemplo:

Se obtiene los siguientes resultados:

Primera dilución retenida (10-2): 12 y 13 colonias.

$$N_E = \frac{12 + 13}{1 \times 2 \times 10^{-2}}$$

$$N_E = \frac{25}{0,02}$$

$$N_E = 1250$$

Redondeando

$$N_E = 1300$$

$$N_E = 1,3 \times 10^3$$

(Continúa)

En los productos líquidos, $N_E = m$

9.2.2 Si las dos placas inoculadas con la muestra sin diluir (productos líquidos), o con la primera dilución o con la suspensión inicial (otros productos) no presentan colonias, expresar los resultados de la siguiente manera:

$$N_E \leq 1/d$$

En donde:

N_E = cantidad de microorganismos por gramo o por centímetro cúbico
 d = factor de dilución (ver numeral 9.2.1)

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Informar como número N de microorganismos por gramo o cm^3 de muestra utilizando solo dos cifras significativas, según lo indicado en el numeral 9.1.

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

- N de microorganismos/g o $\text{cm}^3 = 2,0 \times 10^4$

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

- N_E de microorganismos/g ó $\text{cm}^3 = 1,3 \times 10^3$

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

- N_E de microorganismos/g ó $\text{cm}^3 \leq 1,0/d$

APENDICE Z**Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR**

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-1:1999	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de medios de cultivo.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de muestras.</i>

Z.2 BASES DE ESTUDIO

International Standard ISO 7218:1996 and Amendment 1:2001 *Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations*. International Organization for Standardization. Geneva, 1996.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 1 529-5
TÍTULO: CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP.
Código: AL 01.05-303

Primera revisión

<p>ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:</p>	<p>REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo Oficialización con el Carácter de por Acuerdo No. de publicado en el Registro Oficial No. de Fecha de iniciación del estudio:</p>
---	---

Fechas de consulta pública: de a

Comité Interno del INEN
 Fecha de iniciación: 2005-01-12 Fecha de aprobación: 2005-01-12
 Integrantes del Comité Interno:

NOMBRES:	INSTITUCIÓN REPRESENTADA:
Dr. Ramiro Gallegos (Presidente)	DIRECTOR DEL ÁREA TÉCNICA DE SERVICIOS TECNOLÓGICOS
Dra. Hipatia Navas	ÁREA TÉCNICA DE SERVICIOS TECNOLÓGICOS
Dr. Hugo Ayala	ÁREA TÉCNICA DE CERTIFICACIÓN
Ing. Gonzalo Arteaga (Secretario Técnico)	ÁREA TÉCNICA DE NORMALIZACIÓN

Otros trámites:

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2005-10-26

Oficializada como: Voluntaria Por Acuerdo Ministerial No. 06-004 de 2006-01-02
 Registro Oficial No. 188 de 2006-01-16

Anexo No. 2. Procedimiento para Determinación de Coliformes Fecales y *E. coli* según NTE: INEN 1529-8

NTE INEN 1 529-8

1993-02

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Coliformes fecales

6.1.1 Simultáneamente con el ensayo confirmatorio de la Norma INEN 1 529-6 inocular dos o tres asas de cada uno de los tubos presuntamente positivos en un tubo conteniendo 10 cm³ de caldo BGBL (5.1) y en otro que contenga aproximadamente 3 cm³ de caldo triptona (5.2) (ver esquema 1).

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

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

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

6.2 Confirmación de *E. coli* y diferenciación de las especies del grupo mediante las pruebas IMVIC. En situaciones que justifiquen el esfuerzo y sean necesarias la conformación de *E. coli* y la diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal, realizar los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges Praskauer y citrato sódico (Pruebas IMVIC), de la siguiente forma:

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

6.2.2 Incubar las placas invertidas a 35 - 37^oC por 24 horas.

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

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

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

6.2.6 Prueba del rojo de metilo (RM). Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro (6.2.4) incubar 24 horas a 35 - 37^oC, añadir a cada tubo aproximadamente 3 gotas de la solución de rojo de metilo, agitar, si el cultivo se torna rojo la prueba es positiva y negativa si hay viraje a amarillo.

(Continúa)

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

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

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

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

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

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

7. CALCULOS

7.1 Coliformes fecales

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

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

8. INFORME DE RESULTADOS

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

8.2 E. coli.

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

(Continua)
119

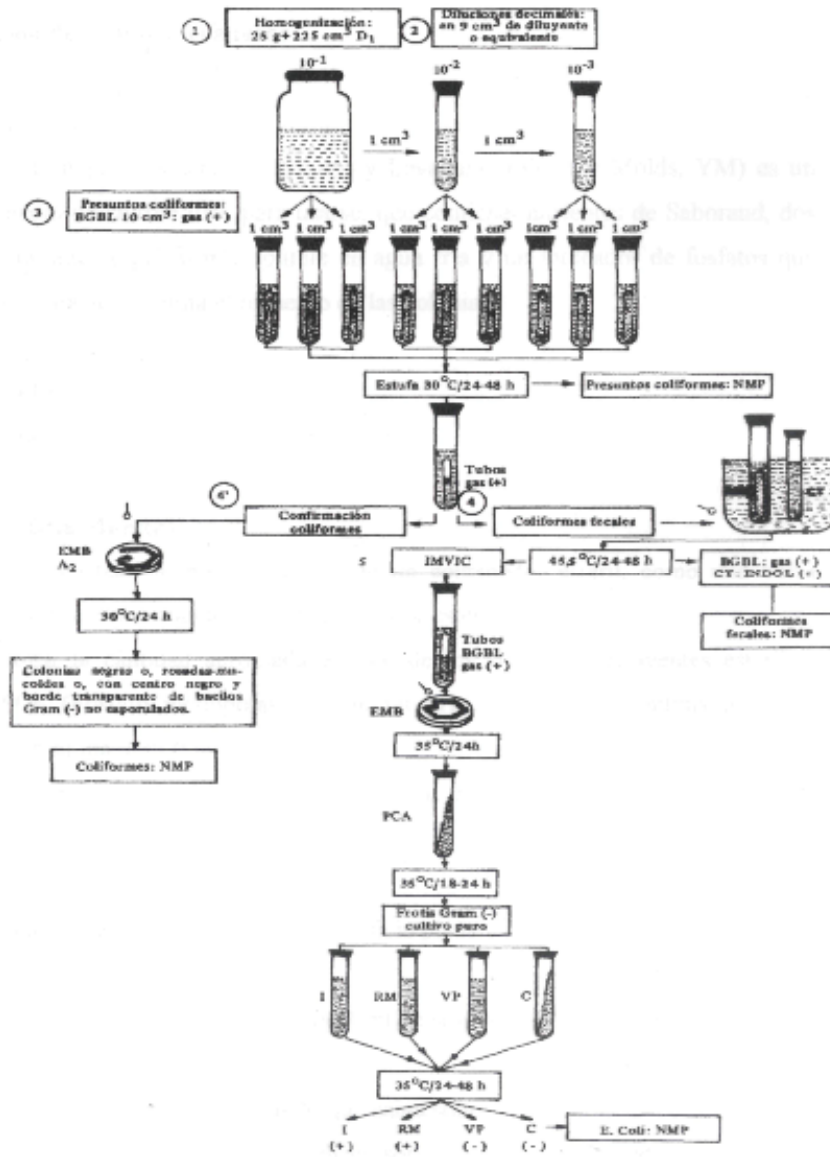
TABLA 1

CLASIFICACION DE LOS COLIFORMES POR LAS PRUEBAS "IMVIC"					
	Gas en caldo B.G.B.L., 44 - 45,5 C	Prueba del indol 44 - 45,5 C	MR	VP	Crecimiento en Citrato
E. coli					
- Tipico (tipo I)	+	+	+	-	-
-Atipico (tipo II)	-	-	+	-	-
Intermedios					
Tipicos (tipo II)	-	+	+	-	+
Atipicos (tipo I)	-	-	+	-	+
Enterobacter-ae rógenes:					
Tipico (tipo I)	-	-	-	+	+
Atipico (tipo II)	-	+	-	+	+
Enterobacter-cloacae	-	-	-	+	+
Irregulares:					
- Tipo I	-	-	-	-	-
- Tipo II	+	-	+	+	+
- Tipo VI	+	-	+	+	+
Irregulares, otros tipos	V*	V*	V*	V*	V*

(Continua)

120

ESQUEMA
COLIORMES TOTALES, FECALES, E. COLI



(Continua)

Anexo No. 3. Método de Determinación de Mohos y Levaduras, AOAC 997.02

Determinación de mohos y levaduras

Fundamento

La placa Petrifilm para recuento de Mohos y Levaduras (Yeast y Molds, YM) es un sistema de medio de cultivo listo para usarse, que contiene nutrientes de Saboraud, dos antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de fosfatos que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias.

Medios de Cultivo

Agua de peptona o KH_2PO_4 (medio de dilución).

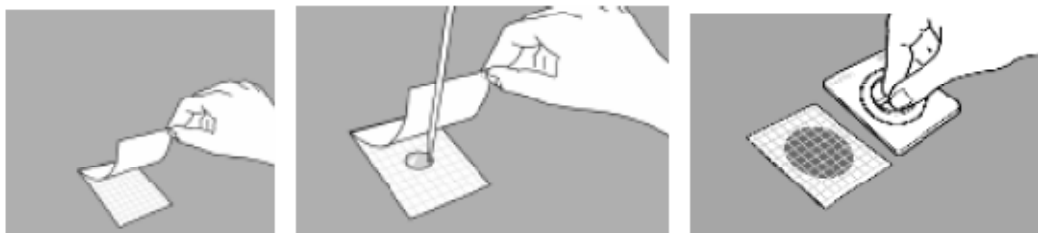
Preparación de la Muestra

- Pesar o pipetear la muestra dentro de un contenedor estéril, como una bolsa homogenizadora o cualquier otro contenedor estéril apropiado.
- Adicionar la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: KH_2PO_4 (Fosfato monopotásico) con un pH 7.2, agua de peptona al 0.1%, solución salina 0.85-0.90%.
- Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Inoculación

- Coloque la placa petrifilm en una superficie plana y nivelada.
- Levante la película superior.
- Con la ayuda de una pipeta, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la muestra.
- Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para Mohos y Levaduras, colóquelo sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.

- Levante el dispersor. Espere por lo menos 1 minuto para permitir que se solidifique el gel y proceda a la incubación.



Procedimiento para Inocular Muestras

Incubación

Incuba las placas cara abajo en grupos de hasta 20 unidades a 20-25° C por 3-5 días.

Algunos mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los Mohos ya crecidos a los 5 días. Si las placas presentan demasiado crecimiento al 5 día, registre el último resultado obtenido al día 3 como estimado.

Puede ser necesario humectar al ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

Interpretación

Las placas petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificadora.

Anexo No. 4. Encuesta

TEMA: “RECUBRIMIENTO COMESTIBLE DE BOMBONES”

OBJETIVO: Conocer la aceptación y características organolépticas del recubrimiento comestible de bombones sabor a mora y a maracuyá, descrita por parte de los asistentes a la Feria de Emprendimiento ESPOCH 2011.

ENCUESTA

INSTRUCCIONES: Marcar con una X la respuesta elegida, según lo que usted considere. Por favor conteste con sinceridad ya que las respuestas de esta encuesta serán utilizadas con fines de investigación.

6. CONSIDERA USTED AL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE UN PRODUCTO INOVADOR Y BENÉFICO EN CUANTO A LA CONSERVACIÓN DEL MEDIO AMBIENTE?

SI **NO**

7. ¿CÓMO CALIFICA EL SABOR DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE?

a) Dulce c) Amargo
b) Ácido

8. SEGÚN SU CRITERIO EL AROMA QUE DERIVA DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE ES:

a) Dulce c) Aromático
b) Frutal d) Cítrico

9. ¿CÓMO CONSIDERA LA TEXTURA DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE?


a) Duro c) Blando
b) Semiduro

10. CUAL DE ESTOS DOS SABORES PROPUESTOS PARA EL RECUBRIMIENTO SON DE MAYOR AGRADO PARA USTED

a) MORA b) MARACUYA.....

GRACIAS POR SU GENTIL COLABORACIÓN!!!

Anexo No. 5. Resultado del Examen Microbiológico del Recubrimiento Comestible

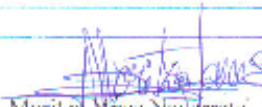

	<p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS LABORATORIO DE ANALISIS TECNICOS AREA DE MICROBIOLOGIA Casilla 06 014703 Teléfono 2605-920 Riobamba- Ecuador</p>
---	---

EXAMEN MICROBIOLOGICO DE ALIMENTO 012-11	
Solicitado por: Cristina Carrera	
Dirección: Cda. España Calle Murcia Ambato	Teléfono: 2844805
Tipo de muestra: Recubrimiento comestible sabor a maracuya	
Marca: No aplica	
Registro Sanitario: No aplica	
Fecha de Recepción: 08 de Febrero de 2011	Código: 012-11

01 EXAMEN FISICO
Color: Amarillo pálido
Olor: Frutal, dulce, agradable.
Aspecto: Normal, fresco.

02 DETERMINACIONES	METODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACION	VALORES ENCONTRADOS
Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos REP en Alimentos UFC/g	Método INEN 1529-5 Determinación del número de microorganismos Aerobios Mesófilos REP 38°C / 48 - 72h	7x10 ⁵
Determinación de Microorganismos Coliformes fecales y <i>E. coli</i> por la técnica del Número Mas Probable NMP/g	Método INEN 1529-8 45.5 - 02°C / 48h	2400
Mohos y levaduras UPC/g	Método AOAC (997.02) Recuento de Levaduras y Mohos en alimentos, film seco rehidratable) (38°C / 48h	10

03 OBSERVACIONES:

FECHA DE ANÁLISIS		 Maritza Muez Navarrete Técnica de Laboratorio	
Inicio	Final		
2011-02-09	2011-02-14		

NOTA: El informe solo afecta a la muestra solicitada a ensayo. El informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización del laboratorio.



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE ANÁLISIS TÉCNICOS
ÁREA DE MICROBIOLOGÍA
 Casilla 06 014703 Teléfono 2605-920 Riobamba- Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTO 011-11

Solicitado por: Cristina Carrera	
Dirección: Cdla. España Calle Murcia Ambato	Teléfono: 2844805
Tipo de muestra: Recubrimiento comestible sabor a mora	
Marca: No aplica	
Registro Sanitario: No aplica	
Fecha de Recepción: 08 de Febrero de 2011	Código: 011-11

01 EXAMEN FÍSICO

Color: Rosado
Olor: Frutal, dulce, agradable.
Aspecto: Normal, fresco.


02 DETERMINACIONES	METODO USADO Y CONDICIONES DE INCUBACION	VALORES ENCONTRADOS
Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos REP en Alimentos UFC/g	Método INEN 1529-5 Determinación del número de Microorganismos Aerobios Mesófilos REP 30±1°C / 48 -72±3h	7x10 ⁵
Determinación de Microorganismos Coliformes fecales y <i>E. coli</i> por la Técnica del Número Mas Probable NMP/g	Método INEN 1529-8 45.5 ±0.2°C / 48±2h	0
Mohos y levaduras UPC/g	Método AOAC (997.02) Recuento de Levaduras y Mohos en alimentos, film seco rehidratable) /35±1°C / 48±2h	0

03 OBSERVACIONES:

FECHA DE ANÁLISIS		 Maritza Yáñez Navarrete Técnica de Laboratorio	
Inicio	Final		
2011-02-09	2011-02-14		

NOTA: El informe solo afecta a la muestra solicitada a ensayo. El informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización del laboratorio.

Anexo No. 6. Resultado del Análisis proximal del Recubrimiento Comestible

 <p>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN LAB-CESTTA</p>	<p>CENTRO DE SERVICIOS TÉCNICOS Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA AMBIENTAL</p> <p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</p> <p>FACULTAD DE CIENCIAS Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998-232 Riobamba - Ecuador</p>
	<p>INFORME DE ENSAYO No: 1508 ST: 11 - 079 ANÁLISIS DE ALIMENTOS</p> <p>Nombre Peticionario: Srta. Cristina Carrera Atn: - Dirección: Avenida El Inca, Quito, Pichincha</p> <p>FECHA: 08 de Julio del 2011 NUMERO DE MUESTRAS: 1 FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2011 / 07/ 01 - 10:24 FECHA DE MUESTREO: 2011/ 06/ 24 - 22:00 FECHA DE ANÁLISIS: 2011/ 07/ 01 - 2011 / 07/ 08 TIPO DE MUESTRA: Recubrimiento comestible sabor a maracuyá CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-Alm 250-11 CÓDIGO DE LA EMPRESA: 002 PUNTO DE MUESTREO: Ambato ANÁLISIS SOLICITADO: Proximal PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Srta. Cristina Carrera CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: T máx.:25.0 °C. T mín.: 15.0 °C</p>

INFORME DE ENSAYO No: 1508
ST: 11 - 079 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre Peticionario: Srta. Cristina Carrera
Atn: -
Dirección: Avenida El Inca, Quito, Pichincha

FECHA: 08 de Julio del 2011
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2011 / 07/ 01 - 10:24
FECHA DE MUESTREO: 2011/ 06/ 24 - 22:00
FECHA DE ANÁLISIS: 2011/ 07/ 01 - 2011 / 07/ 08
TIPO DE MUESTRA: Recubrimiento comestible sabor a maracuyá
CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-Alm 250-11
CÓDIGO DE LA EMPRESA: 002
PUNTO DE MUESTREO: Ambato
ANÁLISIS SOLICITADO: Proximal
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Srta. Cristina Carrera
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: T máx.:25.0 °C. T mín.: 15.0 °C

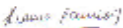
RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	23,05	--
Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	0,42	--
Humedad	PEE/LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	12,35	--
Fibra	PEE /LAB-CESTTA/103 AOAC/ Gravimétrico	%	0,28	--
Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	1,51	--

OBSERVACIONES:

- Parámetros expresados en base fresca.
- Muestra receptada en laboratorio

RESPONSABLES DEL INFORME:


BQF, Ximena Carrión
RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL
E INSPECCIÓN
LAB - CESTTA
ESPOCH


Dra. Nancy Veloz M
JEFE DE LABORATORIO



LABORATORIO DE ANÁLISIS
AMBIENTAL E INSPECCIÓN
LAB-CESTTA

**CENTRO DE SERVICIOS TÉCNICOS Y
TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA AMBIENTAL**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO**

FACULTAD DE CIENCIAS
Panamericana Sur Km. 1 ½
Teléfono: (03) 2998-232
Riobamba - Ecuador

INFORME DE ENSAYO No: 1508
SI: 11 - 079 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre Peticionario: Sra. Cristina Carrera
Atn.: -
Dirección: Avenida El Inca, Quito, Pichincha

FECHA: 08 de Julio del 2011
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2011 / 07 / 01 - 10:24
FECHA DE MUESTREO: 2011 / 06 / 24 - 22:00
FECHA DE ANÁLISIS: 2011 / 07 / 01 - 2011 / 07 / 08
TIPO DE MUESTRA: Recubrimiento comestible sabor a mora
CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-Alm 251-11
CÓDIGO DE LA EMPRESA: 001
PUNTO DE MUESTREO: Ambato
ANÁLISIS SOLICITADO: Proximal
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Sra. Cristina Carrera
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: T máx.: 25.0 °C. T mín.: 15.0 °C


RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE
Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	17,86	--
Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	0,21	--
Humedad	PEE /LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	13,22	--
Fibra	PEE /LAB-CESTTA/103 AOAC/ Gravimétrico	%	0,36	--
Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	1,66	--

OBSERVACIONES:

- Parámetros expresados en base fresca
- Muestra receptada en laboratorio

RESPONSABLES DEL INFORME:


BOE. Ximena Carrión
RESPONSABLE TÉCNICO

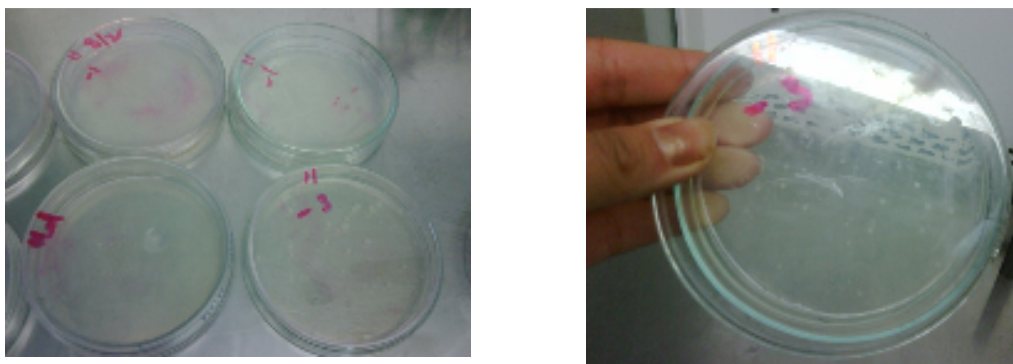
LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL
INSPECCIÓN
LAB - CESTTA
ESPOCH


Dra. Nancy Veloz M
JEFE DE LABORATORIO

Anexo No. 7. Fotografías Proceso y Análisis del Recubrimiento Comestible



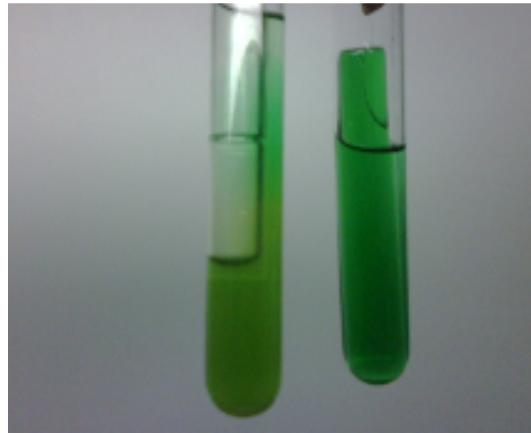
Elaboración del Recubrimiento Comestible



Aerobios Mesófilos del Recubrimiento Comestible



Análisis de Mohos y Levaduras del Recubrimiento Comestible



Coliformes Fecales y *E. coli* en Recubrimientos Comestibles Sabor a Maracuyá



Degustación de Recubrimientos Comestibles