



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS EN LOS NEGOCIOS DE COMIDA RÁPIDA EN LAS PARROQUIAS VELASCO Y MALDONADO DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA Y SU INCIDENCIA EN LA SALUD”

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar el grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: INGRID KARINA CHIMBORAZO AZAS

DIRECTORA: Dra. NELLY IVONNE GUANANGA DIAZ MSc.

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, **Ingrid Karina Chimborazo Azas**

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

Yo, Ingrid Karina Chimborazo Azas, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 09 de septiembre de 2021.



Ingrid Karina Chimborazo Azas

180457330-9

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

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

	FIRMA	FECHA
Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: VIOLETA MARICELA DALGO FLORES	2021-09-09
Dra. Nelly Ivonne Guananga Diaz MSc. DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN	NELLY IVONNE GUANANGA DIAZ  Firmado digitalmente por NELLY IVONNE GUANANGA DIAZ Fecha: 2021.10.15 18:16:45 -05'00'	2021-09-09
Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL	 Firmado electrónicamente por: SANDRA NOEMI ESCOBAR ARRIETA	2021-09-09

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se lo dedico principalmente a Dios, por haberme guiado por el camino correcto, por llenarme el corazón con la luz que necesitaba para cumplir esta meta.

A mi madre y familia por el apoyo constante moral, económico, por sus consejos y la confianza que pusieron en mi para lograr este objetivo.

Ingrid

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi madre y familia por el gran amor, trabajo, sacrificio e incondicional apoyo que supieron brindarme en este duro y largo camino.

A mi compañero de vida, por ser mi soporte, apoyarme y ayudarme a crecer.

A mis amigos, compañeros y futuros colegas con quienes compartimos buenos y malos momentos.

A mis docentes, por todos sus conocimientos brindados en estos años de estudio y en especial la Dra. Nelly Guananga por su aporte y ayuda en este trabajo de titulación, gracias a su guía y conocimientos.

A la Dra. Sandra Escobar por su valiosa colaboración en el trabajo de titulación.

A la prestigiosa Escuela Superior Politécnica de Chimborazo donde tuve la oportunidad de formarme como profesional.

Ingrid

TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xiii
SUMMARY	xiv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Aceites vegetales	5
1.2.1. Definición	5
1.2.2. Composición	5
1.2.3. Estabilidad	6
1.2.4. Tipos de aceites producidos en Ecuador	6
1.2.5. Normas de calidad de los aceites vegetales	7
1.3. Aceites vegetales usados	8
1.3.1. Reacciones químicas de los aceites	8
1.3.1.1. Hidrólisis	9
1.3.1.2. Oxidación	9
1.3.1.3. Polimerización	10
1.3.2. Manejo de los aceites	11
1.3.2.1. Punto de humeo	11
1.3.2.2. Tipos de fritura	11
1.3.2.3. Materiales de cocina	13
1.3.2.4. Reutilización del aceite	13
1.3.2.5. Reutilización de los aceites de frituras en productos comerciales.	14
1.3.3. Análisis físico-químico	14
1.3.3.1. Normas técnicas nacionales e internacionales de aceites vegetales usados	16
1.3.4. Análisis microbiológico	16
1.3.4.1. Tinción Gram	16
1.3.4.2. Microorganismos patógenos	18
1.3.4.3. Microorganismos indicadores de la calidad	20

1.3.4.4.	<i>Medios de cultivo para identificación y aislamiento de microorganismos</i>	21
1.3.4.5.	<i>Antibiograma</i>	25
1.4.	Riesgos para la salud	25
1.4.1.	Trastornos del metabolismo lipídico	25
1.4.1.1.	<i>Obesidad</i>	25

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	27
2.1.	Lugar de la investigación	27
2.2.	Tipo y diseño de la investigación	27
2.3.	Instrumentos de recolección de datos	28
2.4.	Población de estudio	28
2.5.	Tamaño de la muestra y muestreo	28
2.6.	Recolección y análisis de resultados	28
2.7.	Metodología de los análisis de laboratorio	28
2.7.1.	Fase I: Análisis físico-químico de las muestras de aceites vegetales usados	29
2.7.1.1.	<i>Índice de acidez</i>	29
2.7.1.2.	<i>Índice de peróxido</i>	29
2.7.1.3.	<i>Densidad relativa</i>	30
2.7.1.4.	<i>Sólidos totales, conductividad, temperatura y pH</i>	30
2.7.2.	Fase II: Análisis microbiológico de los aceites vegetales usados	30
2.7.2.1.	<i>Preparación de la muestra</i>	30
2.7.2.2.	<i>Coliformes totales</i>	31
2.7.2.3.	<i>Escherichia coli</i>	31
2.7.2.4.	<i>Aerobios mesófilos</i>	31
2.7.2.5.	<i>Enterobacterias</i>	32
2.7.2.6.	<i>Tinción Gram</i>	32
2.7.2.7.	<i>Bacilos</i>	32
2.7.2.8.	<i>Pseudomonas</i>	33
2.7.2.9.	<i>Staphylococcus aureus</i>	33
2.7.2.10.	<i>Salmonella y Shigella</i>	34
2.7.3.	Fase III: Análisis de sensibilidad de las bacterias aisladas en las muestras de aceites vegetales usados	36

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS	37
3.1.	Resultados de los análisis físico químicos	37
3.2.	Resultados de los análisis microbiológicos.....	42
3.3.	Análisis estadístico de asociación de variables	45
3.4.	Resultados del análisis de sensibilidad de las bacterias aisladas en las muestras de aceites vegetales usados.....	46
	CONCLUSIONES	50
	RECOMENDACIONES	51
	GLOSARIO	
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Métodos de ensayos físicos - químicos para aceites comestibles	7
Tabla 2-1: Métodos de ensayos microbiológicos para aceites comestibles.....	8
Tabla 3-1: Análisis físico-químicos realizados en los aceites vegetales comestibles	15
Tabla 4-1: Parámetros nacionales e internacionales que miden el deterioro de aceites de frituras usados	16
Tabla 5-1: Diferencias entre bacterias gram positivas y negativas.	17
Tabla 6-1: Reactivos utilizados en la tinción Gram.....	17
Tabla 7-1: Tipos de medios de cultivo.....	21
Tabla 8-1: Medios de cultivo según su estado físico	22
Tabla 9-1: Medios de cultivo según microorganismo a identificar	22
Tabla 1-3: Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de las parroquias Maldonado y Velasco.	37
Tabla 2-3: Estadísticos descriptivos generales de los análisis físico- químicos.	39
Tabla 3-3: Estadísticos descriptivos de los análisis físico-químicos por parroquias.	41
Tabla 4-3: Ausencia (0) y presencia (1) de microorganismos detectados, y resultado del conteo de otros microorganismos, en las muestras analizadas de las parroquias Maldonado y Velasco.....	43
Tabla 5-3: Pruebas Chi-cuadrado	45
Tabla 6-3: Resultados del antibiograma realizado a microorganismos identificados en muestras de AVU.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Clasificación de los ácidos grasos insaturados	6
Figura 2-1: Reacción de hidrólisis en aceites	9
Figura 3-1: Reacción de oxidación en aceites	10
Figura 4-1: Reacción de polimerización en aceites	11

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: OFICIOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

ANEXO B: MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN

ANEXO C: ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

ANEXO D: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS – TINCIÓN GRAM

ANEXO E: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS – IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AVU	Aceite vegetal usado
ESPOCH	Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
MSP	Ministerio de Salud Pública
OMS	Organización Mundial de la Salud
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
NTE	Norma Técnica Ecuatoriana
UFC	Unidades formadoras de colonias
STD	Sólidos totales disueltos

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar la calidad de los aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba durante el período agosto 2020-enero 2021 y su incidencia en la salud, mediante un estudio experimental y transversal. La muestra estuvo conformada por veinte locales. Se tomó en cada local 150mL de aceite vegetal usado en las frituras de papas para proceder a la caracterización fisicoquímica y microbiológica, luego se procesaron los resultados de estos análisis para establecer estadísticos descriptivos y la prueba Chi2 para asociación de variables con tablas de contingencia. Los valores medios de los parámetros fisicoquímicos fueron: pH 7,14, temperatura 18,65 grados Celsius, densidad relativa 0,91, índice de acidez de 1,19 e índice de peróxido 48,28 mEq O₂/Kg. Al hacer una comparación entre las parroquias, se determinó que los locales de la parroquia Maldonado son más propensos al crecimiento microbiano por el pH alcalino y de igual forma, el índice de peróxido es casi el triple respecto a los locales en Velasco. Para el análisis microbiológico se analizaron las muestras en los días 0 y 15 después de su recolección, con un crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter spp* y aerobios mesófilos. Los resultados del antibiograma mostraron que la mayoría de las bacterias presentaban resistencia a amoxicilina más ácido clavulánico, gentamicina, amikacina y eritromicina. Se concluye que las muestras analizadas presentaron alteraciones fisicoquímica y microbiológicas, lo que comprometen su calidad y son peligrosas para la salud de los consumidores que corren el riesgo de desarrollar enfermedades como el cáncer e infecciones. Se recomienda control periódico de la calidad de estos aceites y capacitación en su manejo adecuado.

Palabras clave: <ACEITE VEGETAL USADO>, <NORMAS DE CALIDAD>, <DETERIORO>, <ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS>, <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO>, <RIOBAMBA (CANTÓN)>.

LEONARDO FABIO
MEDINA NUSTE

Firmado digitalmente por
LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2021.11.16 08:20:13
-05'00'



1817-DBRA-UTP-2021

SUMMARY

The aim of this research was to evaluate the quality of vegetable oils used in fast food restaurants in Velasco and Maldonado parishes, Riobamba city, during August 2020 - January 2021 and their impact on health, through an experimental and cross-sectional study. The sample consisted of twenty restaurants. 150 ml of vegetable oil used in french fries were taken in each place to proceed to the physicochemical and microbiological characterization, then the results of these analyzes were processed to establish descriptive statistics and the chi2 test for the association of variables with contingency tables. The mean values of the physicochemical parameters were: pH 7.14, temperature 18.65 degrees Celsius, relative density 0.91, acid number 1.19 and peroxide number 48.28 mEq O₂/Kg. When making a comparison between parishes, it was determined that the restaurants of Maldonado parish are more prone to microbial growth due to the alkaline pH and in the same way, the peroxide index is almost three times higher compared to the restaurants in Velasco. For the microbiological analysis, the samples were analyzed on days 0 and 15 after their collection, with growth of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter spp* and mesophilic aerobes. The antibiogram results showed that most of the bacteria were resistant to amoxicillin plus clavulanic acid, gentamicin, amikacin, and erythromycin. It is concluded that the analyzed samples presented physicochemical and microbiological alterations, which compromise their quality and are dangerous for the health of consumers who are at risk of developing diseases such as cancer and infections. Periodic control of the quality of these oils and training in handling them is recommended.

Keywords: <USED VEGETABLE OIL>, <QUALITY STANDARDS>, <DETERIORATION>, <PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS>, <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>, <RIOBAMBA (CANTON)>.

EDISON
HERNAN
SALAZAR
CALDER
ON

Firmado
digitalmente
por EDISON
HERNAN
SALAZAR
CALDERON
Fecha:
2021.11.23
10:48:54 -05'00'

INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

La presente investigación tiene por objetivo evaluar la calidad de los aceites vegetales utilizados en los negocios de comida rápida en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba, valorando su incidencia en la salud de los consumidores. El beneficio de garantizar la calidad físico-química y microbiológica de los aceites vegetales usados radica en asegurar que el producto utilizado en el proceso de fritura presente las condiciones óptimas que se requieren, brindando así seguridad al consumidor (Rauen et al, 1992, p. 119).

En cuanto a la metodología, para llevar a cabo la investigación, se cuenta con la colaboración de negocios de comida rápida que aceptaron participar en el estudio, en las dos parroquias mencionadas anteriormente, bajo el criterio de muestreo no probabilístico a conveniencia. Las muestras de aceites vegetales usados, son analizadas bajo parámetros físico-químicos (pH, conductividad, sólidos totales, temperatura, densidad relativa, índice de peróxido, índice de acidez) y microbiológicos (detección de patógenos y análisis de la sensibilidad a antibióticos), para valorar si cumplen con los criterios de calidad y poder ser utilizados en el proceso de fritura. Este estudio inicia con la identificación del problema de los variados estilos de vida del ser humano que implican diferentes hábitos alimentarios. En una encuesta realizada por la ENSANUT-ECU indican que el consumo de comida rápida en Ecuador va en incremento, hallándose en un 62.7%, siendo la población adolescente entre 15 a 19 años de edad los mayores consumidores (Rauen et al, 1992, p. 119). La Organización Mundial de la Salud (OMS) por su parte informa que los alimentos naturales y tradicionales han sido reemplazados por las comidas rápidas (Durán et al, 2015, p. 11).

La OMS en el 2014 afirmó que el consumo de comida rápida está provocando una creciente epidemia de obesidad a nivel mundial, convirtiéndose a largo plazo en consecuencias graves para la salud; este tipo de alimentos se relacionan de forma directa con el proceso de fritura (MSP, 2014). Los aceites vegetales usados son sometidos a la reutilización a causa del factor económico, reduciendo costos en la elaboración de los alimentos. Además, se ven afectadas sus propiedades fisicoquímicas, y organolépticas (Durán et al, 2015, p. 11).

En el Ecuador las principales causas de muerte son las enfermedades crónicas no transmisibles, como la obesidad, identificando al consumo de comida rápida como uno de principales factores de esta enfermedad (MSP, 2018). Estudios publicados por la OMS sugieren que, si los gobiernos por medio del Ministerio de Salud Pública realizaran campañas sobre estas enfermedades se pudiera prevenir el sobrepeso y la obesidad, condiciones que a largo plazo pueden provocar

consecuencias graves en la salud, como la diabetes, enfermedades cardíacas, derrame cerebral y cáncer (OMS, 2014, p.12).

El método de preparación más utilizado en las comidas rápidas es la fritura, en el cual las materias grasas sufren una serie de reacciones físico-químicas como la: oxidación térmica, polimerización, isomerización, e hidrólisis, estas reacciones inciden en la calidad de los aceites vegetales y en los alimentos procesados (Deshmukh, 2019). El deterioro que puede ocurrir en los aceites durante su manejo en los procesos de fritura, el alto consumo de alimentos fritos, y los posibles efectos en la salud evidencian la necesidad de verificar su calidad a través de la caracterización físico-química, bacteriológica, y del cumplimiento de la norma INEN 064 para “Grasas y Aceites Comestibles” (Durán et al, 2015, p. 11).

El mejoramiento del manejo de las grasas y aceites de fritura en los negocios de comida rápida de las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba pueden ser planificadas en base a la información de esta investigación, y contribuir con la comunidad para evitar a largo plazo factores de riesgo para el consumidor, logrando un significativo aporte a la prevención de enfermedades con el incremento de la calidad de los productos ofertados, de manera que los expendedores también se beneficien al anexar este valor agregado. Cabe mencionar que no se han encontrado estudios que aborden este tema, por lo tanto, se contará con una línea base que puede utilizarse para el control, regulación, elaboración y manejo adecuado de los aceites vegetales usados en los procesos de frituras de la zona de estudio (Durán et al, 2015, p. 11).

Con los resultados obtenidos de la investigación, en el capítulo III se elaborará y propondrá acciones correctivas a los negocios de comida rápida, convirtiéndose en una evidencia importante que demuestre la necesidad de mejorar el uso de los aceites en las frituras y los peligros que causan al ser excesivamente reutilizados (Rivera et al., 2014, p. 159).

El proyecto forma parte del grupo de investigación “LEISHPAREC” de la ESPOCH, el cual cuenta con los recursos tecnológicos, materiales y económicos necesarios para cubrir y abordar todos los procesos de investigación. El trabajo cuenta también con el apoyo del GADM - Riobamba, donde las propuestas planteadas en este estudio serán validadas por esta entidad, quienes considerarán su aplicación tras las respectivas revisiones a estos negocios de comida.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General

- Evaluar la calidad de los aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba y su incidencia en la salud.

Objetivos específicos

- Determinar el índice de acidez, índice de peróxido, densidad relativa, sólidos totales, conductividad, temperatura y pH en los aceites vegetales usados en el proceso de fritura en los negocios de comida rápida en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba.
- Aislar, identificar y cuantificar las bacterias presentes en los aceites vegetales usados en el proceso de fritura de los negocios de comida rápida en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba.
- Determinar en el medio Muller-Hinton, la sensibilidad o resistencia a los antibióticos, de las bacterias aisladas en las muestras de aceite vegetal usado en los negocios de comida rápida de las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

Durante el año 2014 en Venezuela realizaron una investigación sobre la “Cuantificación del deterioro de aceites vegetales usados en procesos de frituras en establecimientos ubicados en el Municipio Libertador del Estado Mérida”, a partir de la evaluación de parámetros físicos y químicos de los aceites, donde Rivera et al, mencionan que en el proceso de fritura a temperaturas muy elevadas reducen los tiempos de cocción pero causan el deterioro de los aceites y formación de ácidos grasos libres, los cuales pueden alterar la viscosidad, el color y la formación de espuma en el mismo (Rivera et al., 2014, p. 159).

En un estudio realizado por Durán, en su investigación sobre Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades, mencionan que el consumo de aceites vegetales ha ido en incremento sobre todo en las últimas décadas en nuestra sociedad y se han convertido en un componente importante de la dieta en todo el mundo, cuya composición no es estándar, es decir varían de acuerdo a su origen ya sea animal o vegetal, aportando cada uno diferentes beneficios nutricionales en los productos elaborados que lo contengan (Durán et al, 2015, p. 11).

Asimismo, observaron que la reposición del aceite con material fresco es práctica común en varios establecimientos que expenden comida rápida, el objetivo es compensar las pérdidas por absorción y evaporación que se dan en el proceso de fritura, también señalaron que largos periodos de uso del aceite inducen a compensar el volumen perdido con aceite fresco, por lo que estos usos inadecuados de los aceites tiene implicaciones directas en la calidad del alimento y en la salud de sus consumidores (Rivera et al. 2014, p. 160).

No existen antecedentes bibliográficos de la ciudad de Riobamba que den cuenta de la situación actual sobre la calidad de los aceites vegetales usados en los negocios de comida rápida y su incidencia en la salud, por lo que la presente investigación servirá como base para criterios de descarte y la reutilización de dichos aceites, además servirá para ejecutar un proceso en cuanto al buen manejo del aceite vegetal promoviendo la ausencia de factores de riesgo que incidan en la salud de los consumidores.

1.2. Aceites vegetales

1.2.1. Definición

Los aceites han sido usados por los seres humanos desde tiempos ancestrales tanto para la alimentación y como combustibles. Los aceites pueden ser productos de origen vegetal o animal, cuyo principal componente son triésteres de ácidos grasos y el glicerol, llamados “triglicéridos”. Un aceite puede estar conformado por un solo tipo de triglicérido, o por una mezcla de ellos (Durán et al, 2015, p. 11).

Los aceites de origen vegetal al estar expuestos al aire y humedad, se someten a una serie compleja de deterioro tanto físico y químico, llamado “oxidación de lípidos”, la generación de compuestos polares, productos poliméricos y a la vez disminuye el contenido de vitamina E (Durán et al, 2015, p. 12).

Los aceites utilizados a nivel doméstico son una fuente importante de fitoquímicos, conocidos como compuestos bioactivos, como por ejemplo, fitoesteroles, fitoestrógenos, flavonoles, carotenos, tocoferoles, que son promotores de la salud ya que previenen enfermedades y aportan nutrientes (Durán et al, 2015, p. 12).

1.2.2. Composición

Los aceites vegetales están formados por ácidos grasos, a su vez están constituidos por moléculas resultantes de la unión de átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. Las uniones no son iguales originando ácidos grasos saturados e insaturados (Ortiz, 2014, p. 7).

- **Ácidos Grasos Saturados:** Este tipo de ácido graso es el más común, químicamente no tiene un doble enlace carbono – carbono (Melo, 2007 pág. 121). Además, están unidos a átomos de hidrógeno es decir que están “saturados”, por lo que a temperatura ambiente estos se encuentran en estado sólido, su consumo excesivo es perjudicial para la salud debido a que aumenta los niveles de colesterol en sangre causando enfermedades cardiovasculares (Ortiz, 2014).
- **Ácidos Grasos Insaturados:** Este tipo de ácido graso proviene del reino vegetal, tiene un doble enlace en su estructura química por lo que se los denomina “insaturados” y por ende a temperatura ambiente se mantiene en estado líquido (Ortiz, 2014). Estos se subdividen en: monoinsaturados, aquellos que en su estructura química presentan un doble enlace y los poliinsaturados son aquellos que en su estructura química presentan dos o más dobles enlaces (Melo, 2007 pág. 121).

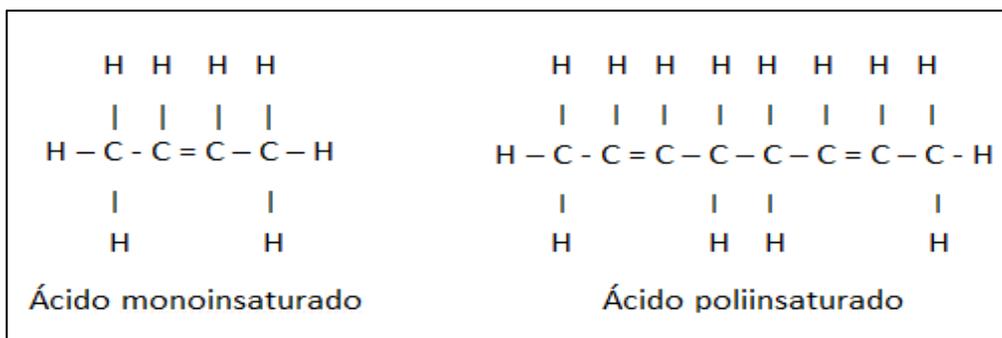


Figura 1-1: Clasificación de los ácidos grasos insaturados

Fuente: (Melo & Cuamatzi, 2007).

El consumo de estos ácidos grasos son idóneos para la salud, porque va asociado a los niveles de colesterol bueno (HDL); el mayor referente el aceite de oliva por lo que es el más adecuado para el proceso de fritura al no degradarse químicamente, ya que debido a exposición de altas temperaturas, se da una menor absorción por la superficie del alimento que se fríen en él, cuyo resultado es la disminución de su valor calórico final (Ortiz 2014, p. 9).

1.2.3. Estabilidad

Al seleccionar una materia grasa para ser utilizada como medio de fritura, se debe tener en cuenta las siguientes características: composición en ácidos grasos, estabilidad, disponibilidad comercial y cumplimiento de normas reguladoras (Juárez y Sammán, 2007, p. 83).

La estabilidad oxidativa de los aceites y grasas, se evalúa con pruebas aceleradas, donde el suministro de oxígeno y las elevadas temperaturas, permiten una mayor alteración. La mayoría de los métodos empleados muestran el mismo fenómeno, es decir, la velocidad de la reacción inicialmente baja y posteriormente elevada (Rauen et al, 1992, p. 119).

La resistencia a estos procesos oxidativos se relaciona con la vida útil de los productos, según características como insaturación, contenido de antioxidantes naturales, de trazas de metales, estado inicial de oxidación, etc. Además, van variando según las condiciones en que se haya realizado el almacenamiento, según las condiciones de luz, temperatura, oxígeno y recipientes (Rauen et al, 1992, p. 119).

1.2.4. Tipos de aceites producidos en Ecuador

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana 064 del año 2012, para "Grasas y aceites comestibles" mencionan los diferentes tipos de aceites que se fabrican, importan o se comercializan en el Ecuador son:

- Aceite de soya
- Mezclas de aceites vegetales comestibles
- Aceite de palma (OxG) alto Oleico
- Aceite de girasol
- Aceite de maíz
- Aceite de oliva
- Aceite de algodón
- Aceite de canola
- Aceite de arroz
- Aceite comestible de palma africana

1.2.5. Normas de calidad de los aceites vegetales

1.2.5.1. Parámetros físicos - químicos de los aceites comestibles

Para verificar la calidad de los aceites vegetales se procede a la ejecución de ensayos físicos-químicos y se aplica las diferentes normas de calidad en donde se especifican las características que deben tener los mismos.

Tabla 1-1: Métodos de ensayos físicos - químicos para aceites comestibles

PARÁMETRO	MÉTODO DE ENSAYO	MÍNIMO	MÁXIMO
Índice de yodo	NTE INEN 37	-	50-55
Acidez (expresada como ácido oleico)	NTE INEN 38	-	0,20%
Pérdida por calentamiento	NTE INEN 39	-	0,05%
Índice de peróxido	NTE INEN 277	-	10 meq/Kg
Índice de refracción a 25°C	NTE INEN 42	1,454	1,476
Humedad y Materia volátil	RTCA 67.04.40:07	-	0,10 %
Color	RTCA 67.04.40:07	-	Característico
Olor y sabor	RTCA 67.04.40:07	-	Agradable
Apariencia	RTCA 67.04.40:07	-	Libre de materia extraña
Ácidos grasos libres	RTCA 67.04.40:07	-	0,10%
Contenido de jabón	RESOLUCIÓN 2154 DE 2012	-	0,005 % m/m
Benzopireno	RESOLUCIÓN 2154 DE 2012	-	-

Fuente: NTE INEN 064, 2012, RTCA 67.04.40:07, RESOLUCIÓN 2154 DE 2012.

Realizado por: Chimborazo Ingrid, 2021.

1.2.5.2. Parámetros microbiológicos de los aceites comestibles

Para verificar la calidad de los aceites vegetales y considerarlos aptos para el consumo no deben contener materias extrañas, restos de tejidos vegetales o animales por lo tanto se procede a la ejecución de ensayos microbiológicos y se aplica las diferentes normas de calidad en donde se especifican las características que deben tener los mismos (NTE INEN 064, 2012).

Tabla 2-1: Métodos de ensayos microbiológicos para aceites comestibles

PARÁMETRO	MÉTODO DE ENSAYO	MÍNIMO	MÁXIMO
Coliformes totales NMP/g	NTE INEN 1529-6	3 NMP/g	9,4 NMP/g
<i>E. Coli</i> NMP/g	NTE INEN 1529-8	-	< 3 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	NTE INEN 1529-14	10 UFC/ml	10 ² UFC/ml
<i>Salmonella</i>	APHA-AOAC Capitulo 5	-	Ausencia

Fuente: NTE INEN 064, 2012.

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

1.3. Aceites vegetales usados

Los aceites vegetales usados son aquellos residuos de frituras, con capacidad de formar películas sobre el agua, además, impiden o dificultan su oxigenación y la correcta depuración. En el caso de no existir una depuración total de estos aceites, cuando el agua vuelve al medio ambiente acompañada de residuos del aceite, se puede dar la contaminación de ríos, el mares y los acuíferos, interfiriendo así en la vida natural y la degradación del entorno, además, proliferan microorganismos perjudiciales para la salud humana (Villabona et al, 2017, p. 22).

Por otro lado, el uso excesivo de los aceites de fritura genera productos cancerígenos como los radicales libres y acrilamidas. Se considera que se podría usar hasta cinco veces, sin embargo, es mejor no darle ese número de usos ya que pierde sus propiedades iniciales y trae consecuencias nocivas en la salud (Villabona et al, 2017, p. 22).

1.3.1. Reacciones químicas de los aceites

Los aceites atraviesan por cambios químicos que suelen reducir su valor nutricional y producir olores o sabores desagradables en los alimentos que tienen que ser freídos en estos. Por otro lado, el deterioro que sufre un aceite depende directamente de ciertos factores como tipo de proceso de freído, temperaturas, grado de insaturaciones del aceite, el tipo de alimento, la luz, intermitencias entre enfriar y calentar, además del mantenimiento que se le brinde a un equipo de fritura (Ayala, 2011, p.45).

A continuación, se visualizan algunas de las reacciones químicas que ocurren durante el proceso de fritura.

1.3.1.1. Hidrólisis

La reacción de hidrólisis se produce en la unión entre la porción del glicerol y los ácidos grasos, siendo muy importante durante la fritura de alimentos en profundidad, debido a que, la grasa de fritura puede estar a 350°F (176 °C) y el alimento a freír tiene un alto contenido de agua, por lo que se forman monoglicéridos y diglicéridos, glicerol y ácidos grasos libres (Ayala, 2011, p.45).

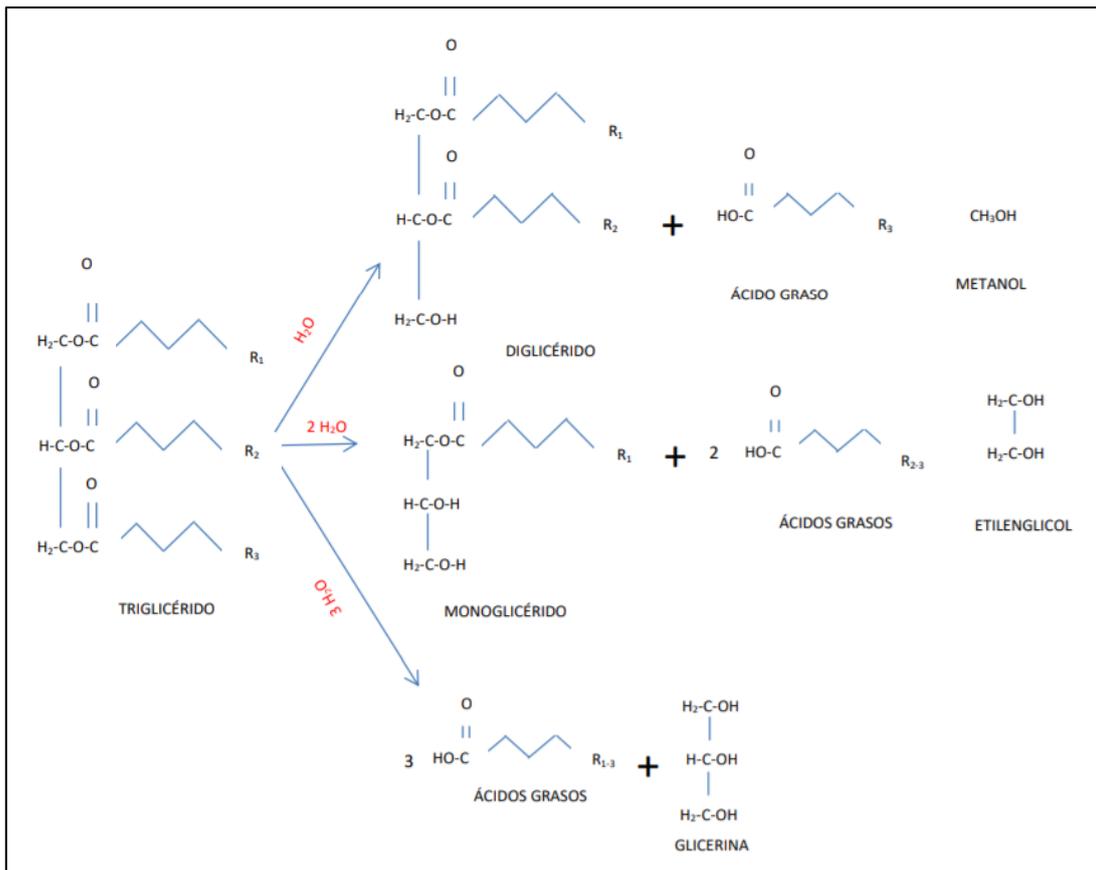


Figura 2-1: Reacción de hidrólisis en aceites.

Fuente: (Lázaro, 2018, p. 72).

1.3.1.2. Oxidación

La oxidación es una reacción que se produce en los puntos de insaturación, siendo un proceso lento que requiere de tiempo para la producción de una cantidad de peróxidos, que son los responsables de sabores y olores desagradables. Los productos que contienen mayor cantidad de insaturaciones, son más propensos de sufrir esta reacción, debido a que, los ácidos grasos

insaturados requieren de menos tiempo para absorben la misma cantidad de oxígeno en relación a los ácidos grasos menos insaturados. La velocidad en que se produce la oxidación depende del aumento de la temperatura, con la exposición al oxígeno, contacto con materiales prooxidantes y la presencia de luz (Ayala, 2011, p.76).

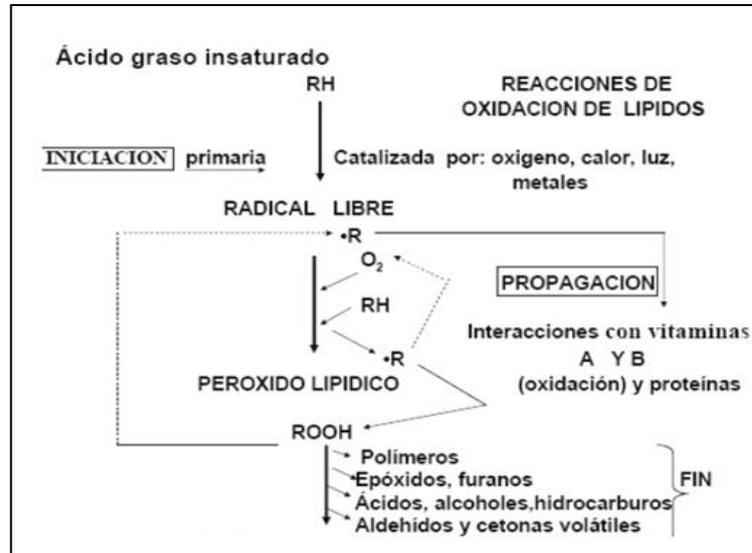


Figura 3-1: Reacción de oxidación en aceites.

Fuente: (Lázaro, 2018, p.48).

Con la remoción de iones de hidrógeno de los ácidos grasos poliinsaturados causada por radicales libres, se inicia una reacción catalítica en cadena llamada autooxidación, que como consecuencia forma alrededor de 60 productos finales, siendo en su mayoría tóxicos y nocivos para la salud de quien los consume. Los ácidos grasos insaturados resultan ser favorables para los procesos de fritura, sin embargo, suelen ser inestables a la temperatura dependiendo de su grado de insaturación (Lázaro, 2018, p.36).

Todo parece indicar que cuando el proceso de fritura supera los 180°C, se produce un deterioro del aceite cuanto mayor número de insaturaciones tenga, lo que conlleva a alterar las características organolépticas de los alimentos sometidos a fritura, además, de la generación de compuestos dañinos para la salud (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014).

1.3.1.3. Polimerización

Esta reacción da lugar a estructuras cíclicas que se producen por uniones cruzadas entre cadenas de ácidos grasos no insaturados o a través de átomos de oxígeno. La polimerización se ve favorecida por temperaturas altas como las manejadas durante la fritura de alimentos, sin

embargo, tiene múltiples desventajas como la degradación ejercida sobre los lípidos (Ayala, 2011, p.78).

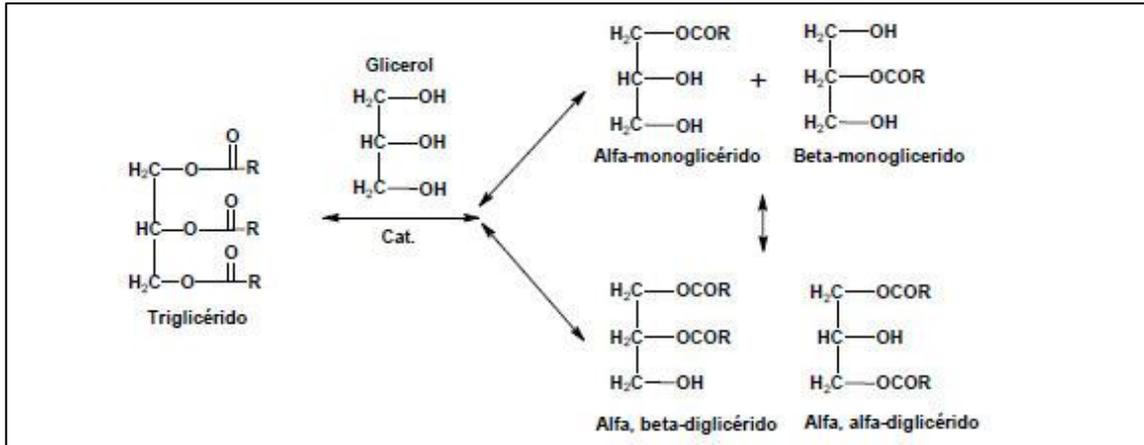


Figura 4-1: Reacción de polimerización en aceites.

Fuente: (Lázaro, 2018, p.46).

1.3.2. Manejo de los aceites

1.3.2.1. Punto de humeo

Según la normativa mexicana, el punto de humeo es considerado como la temperatura a la que la muestra de aceite emite un humo notablemente visible como indicativo de descomposición, de manera que, el glicerol se transforma en acroleína, una sustancia muy tóxica y perjudicial para la salud humana (Marina, 2014, p.4).

Se dice que el punto de humeo es mayor en grasas refinadas, como el aceite extra virgen, en donde este punto se alcanza a menos de 160°C, en tanto que, a mayor reutilización de los aceites, menor es el punto de humeo debido a que desciende ante la exposición continua a oxígeno y altas temperaturas (Marina, 2014, p.4).

1.3.2.2. Tipos de fritura

Se denomina fritura a aquel proceso en el cual un alimento es introducido en un baño de aceite o grasa a temperaturas entre 150 y 200°C. Así también, para procesos de fritura es recomendable el uso de aceite de oliva o de girasol, puesto que tienen un alto contenido de ácido oleico que resiste mejor a la fritura. Los tipos de fritura pueden ser de dos tipos como se indica (UTN 2008, p. 5):

1. Fritura continua o industrial
2. Fritura discontinua: en sartén o freidora

Fritura Continua

La fritura continua es aquella en donde se produce una gran cantidad de productos en un corto período de tiempo, por lo que se usa para producir alimentos precocinados bajo condiciones de fritura nada agresivas y de elevada calidad, siendo necesario la reposición continua del aceite de fritura junto con el alimento. Es común utilizar aceites ricos en ácidos grasos monoinsaturados debido a su calidad sensorial y estabilidad ante la oxidación, además de ser más saludables que las grasas saturadas (Lázaro, 2018, p.56).

Fritura discontinua

Este tipo de fritura se utiliza para productos de consumo inmediato, por lo que se basa en una fritura a demanda y la calidad del alimento dependerá directamente del tipo de aceite utilizado. Se distinguen algunos tipos, como se indica (Lázaro, 2018, p.56):

- Fritura en sartén.
- Fritura en freidora.

Se dice que la fritura continua resulta más saludable que la discontinua debido a que, en la primera existe una mayor velocidad de reposición del aceite, lo que mantiene su calidad y evita que se superen los límites legales establecidos como máximos, es decir, 25% de compuestos polares. Por otro lado, en la fritura discontinua el aceite se somete a ciclos de calentamiento y enfriamiento, lo que conlleva a una mayor degradación y alteración (Lázaro, 2018). Las variables para la optimización de las condiciones de fritura se indican a continuación (UTN, 2008, p.56):

- Del proceso: Método de fritura (freidora o sartén), material del recipiente y temperatura.
- Del tipo de aceite: el uso de aditivos y composición del aceite.
- Del alimento que se va a freír: cobertura, relación volumen/superficie y humedad

- Almacenamiento

Para que un aceite se mantenga integro debe ser almacenado tomando en cuenta las siguientes consideraciones (Sidibé et al., 2010, p. 2752):

- Un nivel bajo de contaminantes
- Ausencia de oxígeno
- Evitar ciclos de calentamiento y enfriamiento (variación brusca de temperatura)
- No exponer el aceite a la luz
- No tener contacto con materiales como cobre y hierro

- Almacenarlo en un ambiente fresco y seco, en un envase limpio y de preferencia hermético a temperaturas menores a 30°C (Sidibé et al., 2010, p. 2752).

1.3.2.3. *Materiales de cocina*

Las freidoras pueden ser de varios tipos como:

1. Doméstica
2. Con cámara de agua
3. Giratoria
4. Calentamiento en espiral

Las freidoras por lo general deben poseer un tamaño adecuada a la cantidad de aceite que se va a utilizar, siendo de material de acero inoxidable, además, debe tener una mínima superficie que entre en contacto con el oxígeno y una tapa que asegure la poca entrada de luz, a más de contar con una canalización para el vapor y un termostato que mantenga el control constante de la temperatura (Yague, 2003, p. 15).

Resulta importante el uso de acero inoxidable debido a que este material presenta una excelente resistencia a la corrosión y no es reactivo, además, tiene una gran tolerancia a temperaturas extremas y no alberga gérmenes, debido a que, se considera un material higiénico cuya superficie no presenta ninguna porosidad, a más de no afectar al sabor de los alimentos con los que entra en contacto (Yague, 2003, p. 15).

1.3.2.4. *Reutilización del aceite*

Dentro de las características de los aceites reutilizados, se considera que (Yague, 2003):

1. No están exentos de sustancias ajenas
2. Características organolépticas distintas al aceite original
3. Contenido de componentes polares

Las condiciones generales de los materiales que tengan contacto directo con el aceite deben tener (Yague, 2003, p.9):

1. Los utensilios a utilizarse deben ser de material adecuado y de fácil limpieza.
2. Los materiales no deben tener agujeros o superficies porosas que no permitan una limpieza adecuada.
3. Los materiales deben soportar altas temperaturas y no desprender partículas o sustancia tóxicas que pudieran alterar la composición del aceite.
4. Los materiales no deben desprender sabores u olores que puedan alterar las características organolépticas de los alimentos sometidos a fritura.

Previo al reúso de los aceites de frituras se procede a una limpieza básica como la que se indica a continuación (Castells, 2018, p.8):

1. Colar el aceite.
2. Colocar el aceite en un recipiente de vidrio y añadir agua caliente.
3. Dejar reposar hasta la separación de las dos fases.
4. Separar el aceite y almacenar, una vez frío se filtra con carbón activado.

El aceite utilizado en la cocina doméstica debe ser almacenado en recipientes oscuros para evitar su contacto con la luz, además debe limpiarse para su posterior reutilización (Castells, 2018, p.8).

1.3.2.5. Reutilización de los aceites de frituras en productos comerciales.

Existen diferentes productos que se pueden obtener a partir de la reutilización del aceite vegetal usado en frituras como se indica:

- Se utiliza el aceite para procesos de elaboración de jabones, siendo necesario su filtrado inicial para la eliminación de partículas y la adición de sosa caustica, de manera que, el jabón obtenido se podrá utilizar para el lavado de prendas de vestir o manos (Solarte y Vargas, 2013, p. 50).
- Otra opción es la producción de velas, debido a que, el aceite se quema tan bien como la cera, por lo que es necesario en primera instancia filtrarlo y añadir gotas de aceite aromático (Solarte y Vargas, 2013).
- Se utiliza también para la elaboración de biodiesel, atravesando por una serie de reacciones de transesterificación en donde actúa el aceite vegetal, un alcohol como metanol y un catalizador alcalino, obteniéndose un 85% de biodiesel y un 15% de glicerol (Solarte y Vargas, 2013).
- Por otro lado, también existen otras alternativas de reutilización del aceite usado para frituras, como la elaboración de abonos orgánicos y fertilizantes, además, de utilizarlo para la producción de otros materiales como el betún asfáltico para la fabricación de telas impermeables y asfalto para carreteras, a más de servir para la elaboración de pinturas, tintas o arcillas, y otros productos que se hallan en investigación y desarrollo (Solarte y Vargas, 2013).

1.3.3. Análisis físico-químico

Los análisis físico químicos son enfocados en analítica, que se apoyan en el análisis cualitativo y cuantitativo, para identificar las características o propiedades de la materia en estudio, permite realizar análisis físicos, químicos y microbiológicos de muestras comerciales, siguiendo los

protocolos ya establecidos por los laboratorios, verificando que la muestra cumple o no con la normatividad o referencia vigente (SEP, 2018, p. 17).

Tabla 3-1: Análisis físico-químicos realizados en los aceites vegetales comestibles

ANÁLISIS	FUNDAMENTO	NOR MA	VALOR DE REFERENCIA	
			min	máx.
QUÍMICOS				
Índice de acidez	Es la masa en mg KOH necesaria para neutralizar la acidez libre en 1 g de grasa. Mediante este índice se evalúan, esencialmente, los ácidos grasos libres. Es indicativo de calidad de un aceite o grasa, se relaciona con las características de la materia prima utilizada y con el proceso (Manrique, 2010 pág. 2).	NTE INEN 38	-	0,30 %
Índice de peróxido	El contenido de peróxidos, producto de la reacción entre las grasas presentes en el aceite y el oxígeno, define su estado de oxidación primaria, es un parámetro de su tendencia al enranciamiento (Manrique, 2010 pág. 2).	NTE INEN 277	-	10 meqO ₂ /Kg
FÍSICOS				
Densidad relativa	Relaciona la masa de un volumen dado de una sustancia y la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones de presión y temperatura (NMX, 2000 pág. 1).	NTE INEN 35	0,895	0,91
Sólidos totales disueltos	Los STD, son compuestos inorgánicos, como sales, metales pesados y algunas trazas de compuestos orgánicos, es decir, es la suma de los sólidos metálicos presentes en el aceite (Manrique, 2010 pág. 2).	-		
Conductividad	Indica la concentración de los componentes ionizados en distintas soluciones, además, es proporcional al contenido de las sales disueltas que están relacionadas con la suma de cationes o aniones, presentando una estrecha correlación con los STD. Las medidas varían dependiendo de la temperatura, por lo que se estandariza a 25°C (PANREAC, 2000 pág. 25).	-		
Temperatura	Para mantener la estabilidad del aceite vegetal, debe estar a temperatura ambiente, porque es la temperatura adecuada de almacenamiento de grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas (ODECU, 2005 pág. 6).	-	15°C	30°C
pH	El pH es una medida que indica la acidez del agua. El rango varía de 0 a 14, siendo 7 el rango promedio (rango neutral). Se dará a entender que el pH afecta a la disponibilidad de nutrientes (COBCM, 2015 pág. 1).	-	No existe un valor de referencia	

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

1.3.3.1. Normas técnicas nacionales e internacionales de aceites vegetales usados

Existen normas nacionales e internacionales para los aceites de fritura, así como las normas para aceites de frituras usados, considerando que a los dos tipos de aceites se realizan los mismos análisis, pero se resaltan los análisis para compuestos polares y análisis de ácido grasos libres, por considerarlos referentes del deterioro de los aceites.

Tabla 4-1: Parámetros nacionales e internacionales que miden el deterioro de aceites de frituras usados

Norma	Aprueba el reuso	Parámetros	Rangos	
			Mínimo	Máximo
NTE INEN 2678 (Ecuador)	Sí	Ácidos grasos libres	-	3%
		Componentes polares	-	24%
BOE-A-1989-2265	Sí	Componentes polares	-	25%
NMX-F-068-SCFI-2008 (México)	Sí	Compuestos polares	-	25%
		Ácido linolénico	-	2%
CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO	Sí	Acidez libre (ácido oleico)	-	1,25%

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

1.3.4. Análisis microbiológico

Las bacterias son consideradas como microorganismo procariotas que poseen una membrana citoplasmática bilaminar y una gran mayoría una pared celular, además, se encuentran dispersas en todo el planeta y ciertas especies son capaces de producir enfermedades a otros organismos (UNAM, 2006, p. 1). Al observarlas en el microscopio se pueden diferenciar de tres formas básicas: las esféricas o también denominadas cocos, las alargadas o bacilos y las curvas o en forma de espiral llamadas espirilos, espiroquetas o vibriones (Vargas y Kuno, 2014, p.78).

1.3.4.1. Tinción Gram

La tinción Gram fue desarrollada en 1880 por el médico danés Hans Cristian Gram, que tuvo como finalidad diferenciar a los grupos bacterianos de acuerdo a su coloración, siendo necesario la adición de colorantes para la identificación de bacterias Gram positivas (coloración azul-

violeta) y Gram negativas (coloración roja-rosada), ambos grupos de bacterias tienen diferencias bien marcadas que se detallan en la tabla 5-1 (Rodríguez y Arenas, 2018, p.78).

Tabla 5-1: Diferencias entre bacterias gram positivas y negativas.

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

Fuente: Hans Christian Gram y su tinción (Rodríguez y Arenas, 2018).

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Para la tinción Gram se utilizan diversos colorantes y reactivos, los cuales cumplen una función, como se indica en la tabla 6-1:

Tabla 6-1: Reactivos utilizados en la tinción Gram

Reactivo	Fundamento
Etanol	La diferenciación se hace añadiendo pequeñas cantidades de etanol a las células teñidas con cristal violeta. El citoplasma de las células que han perdido el cristal violeta se tiñe con otro colorante (safranina). La diferencia de color se relaciona con el tipo de pared bacteriano: células de color violeta (bacterias de pared Gram positivas) y células de color rosa (bacterias de pared Gram negativa).
Cristal violeta	El cristal violeta es básico (se une a componentes celulares de carga negativa). Atraviesa la envuelta celular y se acumula en el citoplasma. Para facilitar la diferenciación se mezcla lugol con cristal violeta: el complejo cristal-violeta-lugol precipita. Así el lugol dificulta la salida del cristal violeta de ambos tipos de células, pero es más fácil de extraerlo de las Gram negativas que de las Gram positivas
Decoloración y safranina	Cuando se añade etanol a una mezcla de células Gram positivas y Gram negativas teñidas con cristal violeta, las células Gram positivas quedan teñidas de violeta: no puede atravesar la gruesa capa de mureína (pueden hacerlo si se prolonga excesivamente el contacto con el alcohol). La pared de las bacterias Gram negativas debe su rigidez a una capa de mureína más delgada, a través de la cual el alcohol extrae el cristal violeta de estas células. Su citoplasma queda incoloro y puede teñirse de color rosa con el colorante de contraste: la safranina

Fuente: Hans Christian Gram y su tinción (Rodríguez y Arenas, 2018, p.79).

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

1.3.4.2. *Microorganismos patógenos*

Las bacterias patógenas son eubacterias, es decir, procariotas de tipo unicelular. El tamaño medio de estas bacterias es de 1 micra. *Bacillus anthracis* es la mayor con un tamaño de (1-1,3 * 3⁻¹⁰ micras) y las más pequeñas, del género *Mycoplasma* con (0,1 * 0,2 micras) (OCW, 2015, p. 1). En este grupo destacan las siguientes:

- *Salmonella*

Estas bacterias son bacilos de tipo gram-negativo, móviles por sus flagelos peritricos, anaerobios facultativos, sin esporas. No tienen la capacidad para fermentar lactosa, sino glucosa con producción de gas, no producen indol, ni degradan urea, tienden a decarboxilar lisina y ornitina (Elika, 2012, p. 2)

Cuando llegan a los alimentos frescos, suelen multiplicarse rápidamente y si una persona ingiere dicho alimento contaminando, las bacterias provocan “salmonelosis”, una infección gastrointestinal. Si los alimentos no se refrigeran rápidamente (el límite de crecimiento está en 6° C) las bacterias se multiplican, pudiendo contaminar los alimentos. Por tanto, temperatura y tiempo son dos factores claves en el desarrollo de la *Salmonella* (Elika, 2012, p.45).

- *Shigella*

El género *Shigella* está conformado por bacilos de tipo gram-negativo inmóvil, anaerobios facultativos no esporulados, de la familia Enterobacterias. Además, presentan actividad bioquímica reducida con actividad negativa de citocromo-oxidasa y fermentación de glucosa sin producción de gas (ANMAT, 2009, p.89).

La shigelosis, conocida como disentería bacilar, está causada por el género *Shigella* que tiene cuatro subgrupos con una distinta capacidad patógena. Se transmite por ruta fecal-oral con una baja dosis infectiva, mediante alimentos contaminados o por el contacto personas infectadas (ANMAT, 2009, p.89).

- *Staphylococcus aureus*

Los estafilococos son un grupo de bacterias de tipo gram-positivas, con oscila entre 0.5-1.5 micras. Se dividen en agrupaciones que asemejan a racimos de uva. Por su fácil propagación, se pueden transmitir de una especie a otra, tanto en casos de contacto humano-animal y viceversa (Zendejas et al, 2014, p. 130).

Staphylococcus aureus es conocido como un importante patógeno humano, causa infecciones tanto a nivel de la comunidad como a nivel hospitalario. Las infecciones por *S. aureus* son agudas y superficiales, produciendo a la vez infecciones profundas como la osteomielitis, neumonía y endocarditis de tipo agudo (Seija y Vignoli, 2010, p. 257).

- ***Staphylococcus epidermidis***

S. epidermidis es el estafilococo coagulasa-negativo más estudiado y virulento. Es uno de los colonizadores que mayormente se encuentran en la piel humana, en la actualidad se reconoce como un patógeno de tipo oportunista, además, es la causa más frecuente de las infecciones relacionadas con dispositivos como son los catéteres, prótesis, etc, usados a nivel hospitalario y en especial en pacientes de UCI (Baos, 2017, p. 33).

Staphylococcus epidermidis forma parte de la flora normal de la piel, pero produce infecciones crecientes en la piel y anexos, coloniza cuerpos extraños, causando infecciones mucho más profundas en huéspedes comprometidos a nivel inmunológico (Seija y Vignoli, 2010, p.257).

- ***Staphylococcus saprophyticus***

El *Staphylococcus saprophyticus* es una bacteria gram-positiva, se halla en el aparato reproductor masculino y femenino, no causa ningún signo ni síntoma. Al haber desequilibrio en la microbiota genital, se puede presentar una proliferación de esta bacteria con síntomas como infección urinaria, principalmente en el caso de mujeres jóvenes y sexualmente activas (Lemos, 2020, p.56).

La bacteria tiene proteínas en la superficie para adherirse de forma más fácil a las células en el tracto urinario, causando infección si hubiese las condiciones favorables para su proliferación. Esta bacteria es causa de infección urinaria baja en la mujer joven (Seija, 2008, p. 257).

- ***Proteus mirabilis***

Proteus mirabilis es una bacteria facultativamente anaeróbica, gram positiva. Presenta aglutinación, motilidad y actividad ureasa. Causa alrededor del 90% de todas las infecciones por *Proteus*. Se puede diagnosticar en el laboratorio por su motilidad agrupada e inhabilidad al metabolizar lactosa en el medio McConkey (Loyola, 2000, p. 1).

La bacteria tiene la habilidad de producir altos niveles de ureasa, la cual, hidroliza urea a amoníaco, volviendo la orina más alcalina. Al subir la alcalinidad se da la formación de cristales de estruvita, carbonato de calcio, y/o apatita. Esta bacteria puede reiniciar una infección post tratamientos antibióticos (Loyola, 2000)

- ***Streptococcus gammahemolítico***

Los estreptococos de este grupo son cocos grampositivos, anaerobios, de tipo facultativo, no producen catalasa. Producen unas colonias pequeñas en agar sangre rodeadas por un halo de hemólisis verde causado por la destrucción incompleta de los eritrocitos (hemólisis α) (Fernandez, 2015, p. 2).

Estos estreptococos son habitantes normales a nivel de la mucosa oral, respiratoria y gastrointestinal, donde juegan un papel importante al prevenir que patógenos potenciales colonicen. Las infecciones clínicas causadas por esta bacteria se dan tras una lesión en las zonas de su hábitat normal (Fernandez, 2015, p.45).

1.3.4.3. ***Microorganismos indicadores de la calidad***

Los microorganismos indicadores de la calidad se utilizan para controlar las condiciones higiénicas de alimentos o agua, por lo que su presencia (bacterias, levaduras u hongos), se utiliza como indicador de la deficiente asepsia (Campuzano et al., 2015, p.78).

- ***Aerobios***

Los microorganismos aerobios se utilizan como indicadores del estado microbiano de la producción, además de las condiciones ambientales con las que tuvo contacto el alimento, reflejando su calidad sanitaria y las condiciones de manipulación (Campuzano et al., 2015, p.75).

- ***Hongos y levaduras***

Los hongos y levaduras forman parte habitual de la microbiota de algunos alimentos y en otros causan descomposición y se dispersan con gran facilidad en el aire y polvo. Son indicadores de la contaminación en los alimentos e indicadores del riesgo de desarrollo de hongos toxigénicos en cereales, especias, entre otros (Campuzano et al., 2015, p.75).

- ***Enterobacterias***

Las enterobacterias son microorganismos anaerobios facultativos que forman parte habitual de la microbiota gastrointestinal de humanos y animales, encontrándose también en el medio ambiente y pudiendo provocar graves enfermedades (Campuzano et al., 2015, p.75).

- *Coliformes totales*

Las bacterias coliformes se utilizan como indicadores de contaminación fecal en un alimento, a más de utilizarse para controlar la calidad del agua. Es importante mencionar que el término “coliformes” agrupa a varios géneros de la familia de enterobacterias (Campuzano et al., 2015, p.81).

- *Pseudomona maltophilia (Stenotrophomonas)*

Se trata de un bacilo Gram negativo aerobio y de metabolismo oxidativo que produce baja patogenicidad y habita normalmente en ambientes acuáticos y son capaces de producir patologías nosocomiales, a más de meningitis, endocarditis e infecciones cutáneas (Burns, 2006, p.895).

- *Pantoea agglomerans*

P. agglomerans (antes *Enterobacter agglomerans*) es un bacilo gramnegativo, anaerobio que tiene forma de varilla y pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. En agar sangre de las observar cómo colonias amarillas. Este tipo de bacteria suelen colonizar pacientes hospitalizados y producir infecciones especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Sánchez et al., 2006, p.789).

1.3.4.4. *Medios de cultivo para identificación y aislamiento de microorganismos*

Medio de cultivo

Un medio de cultivo es el conjunto de nutrientes adecuados para el crecimiento, desarrollo y metabolismo microorganismo, creados a nivel de laboratorios para asegurar que tengan una composición similar a los líquidos orgánicos del cuerpo humano (Sánchez et al., 2006, p.7).

Tabla 7-1: Tipos de medios de cultivo

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

Fuente: Medios de cultivo (Sánchez et al., 2006).

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

De acuerdo a su estado físico se tiene otra clasificación, como se detalla en la tabla 8-1:

Tabla 8-1: Medios de cultivo según su estado físico

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

Fuente: Medios de cultivo (Sánchez et al., 2006).

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Tabla 9-1: Medios de cultivo según microorganismo a identificar

Medio de cultivo	Fundamento	Microorganismos que se identifica
Agar de recuento en placa-PCA	Medio para realizar la enumeración de bacterias aerobias usando el método de inoculado superficial.	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Agua peptonada	Se usa como diluyente o para el enriquecimiento no selectivo de microorganismos en muestras de comida y medioambientales.	Para el enriquecimiento preliminar no selectivo, particularmente patógeno Enterobacteriaceas como <i>Salmonella</i> y <i>Chronobacter</i> , de alimentos y piensos, agua y otros materiales
Agar nutriente	Agar nutritivo se utiliza para el cultivo de bacterias no grasas. La peptona y el extracto de carne de res proporcionan nutrientes suficientes para el crecimiento de gérmenes. Ambos son las fuentes de nitrógeno, vitaminas, carbono y aminoácidos, mientras que el agar es el agente solidificador	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Salmonella Enteritidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>
Manitol salado	Es un medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diversas muestras.	Algunas cepas de enterococos pueden crecer en el medio de cultivo y fermentar el manitol, por eso se debe realizar la prueba de la catalasa y la observación microscópica del extendido coloreado por la técnica de gram para diferenciar estos géneros bacterianos. Algunas pocas cepas

		de <i>Staphylococcus aureus</i> pueden fermentar lentamente el manitol
Agar azul de metileno de eosina	Utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos entéricos gram negativos. El uso de la eosina y del azul de metileno permiten la diferenciación de las colonias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras. La sacarosa está incluida en el medio para detectar a los miembros del grupo coliforme que fermentan más rápidamente la sacarosa que la lactosa.	Las colonias de <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> son translúcidas, de color ámbar o incoloras. Los coliformes que utilizan la lactosa y/o sacarosa producen colonias de color azul a negro con centros oscuros y brillo metálico. Otros coliformes como <i>Enterobacter</i> presentan colonias mucosas de color rosa. Las cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> son parcialmente inhibidas (MCD-LAB, 2017 pág. 1).
Mac Conkey	Medio usado para el aislamiento de bacilos gram negativos, tanto aerobios como anaerobios facultativos, de fácil desarrollo. Todas las enterobacterias desarrollan en el mismo.	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella neumoniae</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Proteus mirabilis</i>
Agar Salmonella – Shigella	Es un medio de cultivo diferencial y selectivo usado para el aislamiento de <i>Salmonella</i> y algunas cepas de <i>Shigella</i> , en el medio de cultivo la pluripeptona y el extracto de carne son los encargados de aportar nutrientes para el desarrollo de las bacterias, produciendo colonias transparentes	<i>Salmonella enteritidis</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i>
Agar sangre	Medios de aislamiento especialmente diseñados para facilitar el crecimiento de microorganismos exigentes, bacterias Gram-positivas y todas las especies encontradas en muestras de origen clínico. Contiene una mezcla de peptonas particularmente adaptada al cultivo de microorganismos	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Hierro de Kligler	La peptona de carne y tripteína aportan nutrientes, mientras que la lactosa y glosa con los carbohidratos fermentables, en tanto que el tiosulfato de sodio es el sustrato para la producción del anhídrido	Medio de cultivo utilizado para la diferenciación de enterobacterias en base a su fermentación de hidratos de carbono y producción de anhídrido sulfúrico.
Citrato de Simmons	Las bacterias capaces de utilizar el citrato sódico y el amonio como única fuente de nitrógeno, crecerán en este medio y lo cambiarán de color de verde a azul, debido	Este medio es utilizado como una prueba bioquímica para diferenciar bacilos gramnegativos entéricos, de muestras de alimentos, agua o laboratorio

		al indicador de azul de bromotimol al aumentar el pH.	
SIM		Es un medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno por los microorganismos.	Es útil para diferenciar miembros de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> .
Mueller Hilton		Se utiliza como medio de cultivo para efectuar la técnica de antibiograma con el método de dilución (1, 2) o como medio básico para preparar un inóculo bacteriano	El medio de cultivo Mueller-Hinton es un medio líquido nutritivo utilizado para el estudio de la sensibilidad de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas frente a agentes antimicrobianos.
Soya Casein Digest		Este medio se utiliza para pruebas de esterilidad mediante filtración por membrana o por inoculación directa. También se utiliza como caldo de pre-enriquecimiento para productos no estériles	Este producto es adecuado para el cultivo de hongos y bacterias aeróbicas.
Caldo de enriquecimiento tetrionato		Tetrionato se forma por la reacción de yodo con tiosulfato de sodio. Esta combinación (tiosulfato de sodio y tetrionato) suprime los organismos intestinales comensales. Los organismos que tienen la enzima tetrionato reductasa, como Salmonella, proliferan en este medio.	Se usa como un enriquecimiento selectivo para el cultivo de especies de <i>Salmonella</i>
Prueba de catalasa		Las bacterias aerobias contienen catalasa que descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno cuya reacción se caracteriza por el desprendimiento de burbujas para resultados positivos	Esta prueba permite diferenciar <i>Streptococcus</i> y <i>Staphylococcus</i>
Prueba de coagulasa		La coagulasa es una enzima capaz de coagular el plasma sanguíneo, sirviendo para la diferenciación de <i>Staphylococcus aureus</i> de otros <i>Staphylococcus</i> . La coagulasa desnaturaliza la fibrina del plasma formando un coagulo, el que indicara un resultado positivo	<i>Staphylococcus aureus</i> de otros <i>Staphylococcus</i>
Prueba de la oxidasa		Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidadas. El oxígeno actúa por tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones.	Todas las especies de <i>Neisseria</i> (+), y diferenciar <i>Pseudomonas</i> de los miembros oxidasa negativos de las enterobacterias

Fuente: Medios de cultivo (Ortega, Santambrosio y Garibaldi, 2009, p.759).

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

1.3.4.5. Antibiograma

Un antibiograma permite conocer la sensibilidad *in vitro* de las bacterias a determinados antibióticos, de manera que, se fundamenta en el enfrentamiento entre el inóculo bacteriano y un rango de concentraciones de determinados antibióticos. Generalmente se utiliza agar Mueller Hinton como medio de cultivo para crear las condiciones idóneas de incubación, además, los resultados se reportan como sensibles, moderadamente sensibles y resistentes a antimicrobianos específicos (Ortega, Santambrosio y Garibaldi, 2009, p.75).

La resistencia antimicrobiana o también denominada RAM, se origina cuando determinadas bacterias presentan cambios al estar expuestas a determinados antibióticos, de modo que, estos resultan ineficaces y la infección sigue persistiendo y propagándose a otros individuos (OMS 2020). Con el paso de los años se han identificado nuevos mecanismos de resistencia que ponen en peligro la capacidad de reducir infecciones eficazmente y por tanto, conllevando a la muerte de un mayor número de individuos, así como el aumento del costo de atención sanitaria debido a una mayor estancia hospitalaria y los cuidados requeridos (OMS, 2020).

1.4. Riesgos para la salud

Los aceites presentan en su composición ácidos grasos mono y poliinsaturados, que son adecuados para los procesos de fritura, sin embargo, tiene la desventaja de presentar menor estabilidad a mayor insaturación (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014). A temperaturas superiores a los 180°C el aceite se deteriora y cambia su composición química, produciéndose productos de oxidación como la acroleína, que es potencialmente tóxica cuando su consumo es crónico (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014). Así también, un aceite alterado térmicamente es capaz de afectar a las características organolépticas del alimento (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014, p.75). A continuación, se detallan algunas enfermedades provocadas por el consumo excesivo de aceites:

1.4.1. Trastornos del metabolismo lipídico

1.4.1.1. Obesidad

El consumo excesivo de grasas y aceites conlleva a que un individuo sufra de sobrepeso y obesidad, que provocan millones de muertes anuales a nivel mundial. Existen trastornos ligados a la obesidad, principalmente los del tipo cardiovascular como se indica (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014):

- *Hipertensión arterial*

Enfermedad que se asocia con la enfermedad cerebrovascular, que de no tener un control adecuado puede conllevar a la muerte del paciente y casos graves de discapacidad (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014).

- *Enfermedad coronaria*

El colesterol LDL o “malo” provoca que se formen placas de grasa en las paredes arteriales que en muchas ocasiones tan estrechas que terminan por taponar una arteria e impedir el paso de la sangre. Cuando un aceite se somete a un tratamiento térmico se generan productos de oxidación primarios y secundarios que pueden resultar perjudiciales y contribuir a la aparición de problemas cardiovasculares, además, se dice que el consumo de ácidos grasos trans es capaz de elevar el nivel de colesterol en la sangre (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014, p.75).

- *Diabetes mellitus*

La diabetes es también muy frecuente, y provoca trastornos en ocasiones muy graves, en diferentes partes del cuerpo humano, como los riñones, los ojos (retina) o los nervios periféricos (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014, p.75).

- *Enfermedades articulares y respiratorias*

El aumento de peso facilitado por el consumo excesivo de grasas y aceites, conlleva a que las articulaciones se desgasten por el peso que tienen que soportar, especialmente las articulaciones de la columna vertebral y rodillas. Por otro lado el exceso de peso dificulta que el aparato respiratorio funcione correctamente y provoca la aparición de insuficiencias respiratorias crónicas (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014, p.75).

- *Tumores y cáncer*

Parece existir una relación entre la obesidad y la aparición de ciertos tipos de tumores en el colon, mamas, vesícula, entre otros. Por otro lado, la remoción de iones hidrógeno de los ácidos grasos poliinsaturados provocada por radicales libres, conlleva al inicio de reacciones catalíticas de autooxidación que genera al menos 60 productos finales que pueden generar cáncer (Esquivel, Castañeda y Ramírez, 2014, p.45).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de la investigación

La investigación se realizó durante el período agosto 2020 – enero de 2021 en las parroquias Velasco y Maldonado de la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

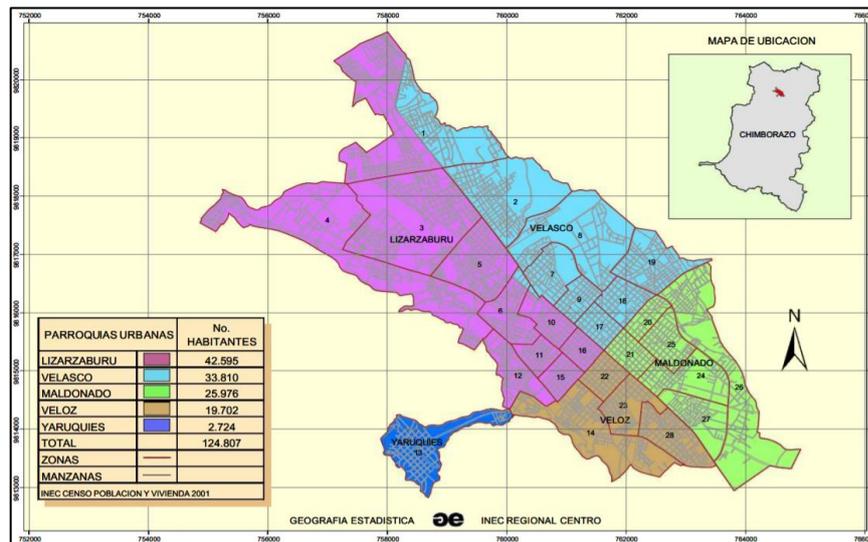


Figura 1-2: Ubicación geográfica de las parroquias urbanas de la ciudad de Riobamba

Fuente: (Moreno, 2017, p.75).

2.2. Tipo y diseño de la investigación

La investigación es de tipo experimental y trasversal, descriptivo, inductivo, analítico y sintético, basado en la observación particular de la problemática planteada, manipulando la variable tiempo, analizando la calidad de los aceites vegetales de fritura usados según los resultados de los ensayos físico- químico, microbiológico, y de los análisis de sensibilidad de las bacterias aisladas de estas muestras. Finalmente sintetizar los hallazgos encontrados y aportar con lo más relevante del presente estudio.

2.3. Instrumentos de recolección de datos

Se han utilizado hojas de registro con codificación de cada sitio muestreado, diagramas de flujo de los procesos realizados en las diferentes fases de la investigación.

2.4. Población de estudio

La población del presente estudio estuvo conformada por el total de 45 negocios, constituyendo 25 negocios a la parroquia Velasco y 20 negocios de la parroquia Maldonado.

2.5. Tamaño de la muestra y muestreo

Para la toma de las muestras se recorrieron todos los negocios, y se muestreo en los sitios en donde hubo colaboración de parte de los propietarios y/ o empleados, logrando un tamaño de muestra constituida por: 15 negocios de la parroquia Velasco y 5 de la parroquia Maldonado. Por las características del muestreo se utilizó la técnica del muestreo por conveniencia (Hernández, Fernández y Baptista, 1997, p. 82), la unidad muestral de los aceites de frituras tomados in situ fue de 150 mL recolectados en recipientes de plástico estériles. Además, se tomó únicamente aceites utilizados para la fritura de papas, el cual al momento del muestreo se encontraba a temperatura ambiente.

2.6. Recolección y análisis de resultados

Una vez realizados los análisis físico-químicos y microbiológicos se utilizaron hojas de registro para tabular dichos resultados, que posteriormente se trasladaron al programa SPSS para obtener estadísticos descriptivos y gráficos que faciliten el análisis.

2.7. Metodología de los análisis de laboratorio

Inicialmente se prepararon los materiales, se etiquetaron y codificaron, se tomaron las muestras colocándolas en el recipiente correspondiente, luego se procedió a desarrollar las fases programadas para esta investigación, para lo cual se requirieron materiales y equipos pertinentes (ANEXO B). De acuerdo a la disponibilidad de materiales y equipos se realizaron los análisis indicados en las fases que se detallan a continuación:

2.7.1. Fase I: Análisis físico-químico de las muestras de aceites vegetales usados

Para el análisis físico-químico de las muestras, se realizaron los ensayos de acidez (NTE INEN 38), índice de peróxido (NTE INEN 277), densidad relativa, sólidos totales, conductividad, temperatura y pH, siguiendo los protocolos de las normas indicadas para cada parámetro.

2.7.1.1. Índice de acidez

- Transferir 300 mL de la mezcla (1:1) de alcohol - éter a un matraz Erlenmeyer; añadir 1 mL de solución indicadora de fenolftaleína (o de azul alcalino 6B, si la muestra es de color oscuro) y agregar, agitando enérgicamente, solución 0,1 N de hidróxido de sodio o de potasio hasta obtener un color rosado persistente durante aproximadamente 30 segundos.
- Sobre un matraz Erlenmeyer de 250 mL pesar, con aproximación a 0,01 g, una cantidad de muestra entre 50 g y 60 g.
- Agregar 100 mL de la mezcla (1:1) de alcohol - éter neutralizada y titular los ácidos grasos libres con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta alcanzar el punto final correspondiente al indicador (coloración rosada persistente durante aproximadamente 30 segundos si es fenolftaleína, o viraje del rojo al azul si es azul alcalino).
- Agitar la solución enérgicamente durante la titulación.
- El volumen de solución 0,1 N empleado en la titulación debe ser menor de 20 mL; en caso contrario usar la solución 0,5 N de hidróxido de sodio o de potasio.
- Calcular la acidez con la fórmula: $A = M.V.N / 10.m$.

2.7.1.2. Índice de peróxido

- Pesar una masa de 5.0 ± 0.05 g de muestra dentro del matraz.
- Agregar 30 mL de la solución de ácido acético y cloroformo.
- Agitar el matraz y añadir 0,5 mL de yoduro de potasio.
- Agitar el matraz por minuto y añadir 30 ml de agua destilada.
- Titular gradualmente con tiosulfato de sodio 0,1 N, hasta que el color amarillo desaparezca.
- Luego añadir 0,5 mL de solución indicadora de almidón y titular hasta el punto final, añadir el tiosulfato de sodio gota a gota hasta que el color azul desaparezca.
- Finalmente calcular con la fórmula: $I = (Vn/m) \times 1000$.

2.7.1.3. Densidad relativa

- Calibrar el picnómetro.
- Pesar el picnómetro vacío y registrar el peso como “m”.
- Llenar el picnómetro con la muestra de agua llevándola a 23 grados. Después sumergir en baño de agua a 25 grados por 30 minutos.
- Secar, dejar enfriar y pesar para registrar el peso “m1”.
- Llenar el picnómetro con la muestra de aceite llevándola a 23 grados. Después sumergir en baño de agua a 25 grados por 30 minutos.
- Secar, dejar enfriar y pesar para registrar el peso “m2”.
- Calcular con la siguiente fórmula: $d = (m_2 - m) / (m_1 - m)$

2.7.1.4. Sólidos totales, conductividad, temperatura y pH

- Utilizar para la medición de sólidos totales, conductividad, temperatura y pH, el equipo multiparámetro Hanna HI9829-03041.
- Asegurar que el electrodo de pH este limpio, para lo cual es necesario enjuagar con agua destilada para remover el remanente de la solución de almacenamiento (solución de cloruro de potasio), después proceder a secar el electrodo.
- Del mismo modo, enjuagar el electrodo de conductividad y realizar las mediciones en el siguiente orden: pH, conductividad, sólidos totales y temperatura.

2.7.2. Fase II: Análisis microbiológico de los aceites vegetales usados

2.7.2.1. Preparación de la muestra

- Preparar el agua de peptona al 0,1% y realizar las respectivas diluciones.
- Para cada muestra preparar en un Erlenmeyer y colocar 90 mL de agua peptonada.
- Para las diluciones preparar dos tubos 9 ml de agua peptonada en cada uno y añadir 1 mL de muestra.
- Para una mezcla homogénea (muestra y el agua de peptona) calentar el agua peptonada y aplicar agitación constante.
- Sembrar en agar PCA y en agar nutritivo añadiendo 10 mL de la muestra preparada con la ayuda de la micropipeta automática y estriar con el asa de sidrauski realizando una siembra por extensión en superficie.
- Incubar durante 24 horas a 37°C.

2.7.2.2. *Coliformes totales*

- Aplicar la técnica del número más probable conocida como NMP.
- Para cada muestra hacer tres series de tres tubos de caldo brillante.
- Colocar 10 mL en cada tubo tomando en cuenta que la primera serie debe ser a doble concentración.
- En cuanto a la segunda y tercera serie preparar a concentración normal en cada tubo y colocar una campana Durham.
- Dilución de doble concentración 10^{-1} : añadir 10 mL de la muestra preparada con la ayuda de la pipeta graduada.
- Dilución de concentración normal 10^{-2} : añadir 1 mL de la muestra preparada con la ayuda de la pipeta graduada.
- Por último, para la dilución de concentración normal 10^{-3} : añadir 100 μ L microlitros de la muestra preparada con la ayuda de la pipeta graduada.

2.7.2.3. *Escherichia coli*

- Preparar agar MacConkey y sembrar por duplicado la muestra e incubar a 37°C durante 24 horas.
- La presencia de colonias de coloración rosa es indicativa de *E. coli*, sin embargo, es necesario realizar pruebas confirmatorias, para lo cual se deben aislar 5 colonias típicas de una caja y sembrarlas sobre una placa de agar nutritivo e incubar por 24 horas a 37°C.
- Para la confirmación bioquímica proceder a inocular una colonia del agar nutritivo en un tubo con triptona/triptófano e incubar por 24 horas a 37°C.
- Adicionar de 4 a 6 gotas de reactivo de Kovac y dejar reposar durante 2 minutos.
- La formación de un color rojo es positiva para *Escherichia coli*, mientras que un color marrón – amarillo es negativo.

2.7.2.4. *Aerobios mesófilos*

- Partir de las respectivas diluciones de concentración 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}
- Preparar agar nutritivo y PCA y sembrar por duplicado partiendo de la dilución 10^{-1} .
- Realizar el conteo de las UFC y multiplicar por 10^1 , siendo ese el resultado de cada muestra sembrada en el medio de PCA reportamos, luego tomar una colonia de cada tipo, color o tamaño que se observe en la placa de agar nutritivo y procedemos a sembrar estriando en los

siguientes medios: MacConkey y EMB (agar con eosina y azul de metileno) y por último llevar a incubar.

2.7.2.5. *Enterobacterias*

- Los medios selectivos para la familia Enterobacteriaceae son MacConkey y EMB (agar con eosina y azul de metileno), sembrar y dejar incubar por 24 horas a 37°C.
- Al crecer las bacterias en los medios de cultivo se deben diferenciar de acuerdo al color que presente cada colonia y a la tinción Gram.

2.7.2.6. *Tinción Gram*

- Con la ayuda de una lámpara de alcohol conseguir un medio estéril.
- Esterilizar el asa y tomar una colonia de los medios antes mencionados.
- Estriar en una placa porta objetos y fijar la muestra flameando por 3 veces sobre la llama.
- Luego añadir unas gotas de Cristal violeta durante 1 minutos y proceder a lavar.
- Adicionar Lugol durante 1 minuto y lavar.
- Después adicionar cetona durante 30 segundos y lavar.
- Finalmente añadir safranina durante 1 minuto y lavar.
- Dejar que la placa se seque y colocar aceite de inmersión.
- Observar con el lente 100X en el microscopio.
- Si se observan bacilos se deben aislar en agar MacConkey y EMB (agar con eosina y azul de metileno) y al ser cocos, proceder a aislarlos en agar manitol.

2.7.2.7. *Bacilos*

- Sembrar en las respectivas pruebas bioquímicas que conforman los medios de cultivo como: agar manitol, agar Kligler, agar citrato y agar úrea, los cuales se deben preparar previamente en tubos estériles en pico de flauta.
- Parte de esta serie de pruebas bioquímicas es también el agar SIM, que se debe plaquear en un tubo estéril de forma vertical.
- Sembrar en cada prueba y llevar a incubación a 37°C de 18 a 24 horas y observar los resultados.
- Observar e interpretar los resultados: En Kligler al observar un color amarillo arriba quiere decir que las bacterias fermentan lactosa y si cambia a color amarillo en la parte inferior, fermenta glucosa, mientras que es una coloración negra el microorganismo fermenta gas

sulfhídrico, al romperse el medio fermenta gas glucosa. El citrato es de color verde al cambiar a color azul es positivo, medio de cultivo SIM al ser positivo en movilidad hay presencia de una nube y al ser positivo para indol añadir una gotas del reactivo de kovac y observar la formación de un halo de color rojo. Agar manitol es positivo al cambiar a color amarillo y al ser negativo se mantiene de color rojo, agar úrea al ser positivo cambia a color fucsia, de lo contrario se conserva su color original que es de color amarillo, en este medio se añade una solución de urea al 40% al agar úrea preparado.

2.7.2.8. *Pseudomonas*

- Sembrar la muestra de *Pseudomona* en agar EMB (agar con eosina y azul de metileno) que es selectivo para este grupo de bacterias, aislar y observar en el microscopio.
- Sembrar la muestra pura de *Pseudomona* en agar soya Trypticase e incubar durante 24 horas a 37°C.
- Observar la placa con la siembra en la luz UV, y en el caso de ser *Pseudomonas* se visualizan colonias verdes fosforescentes.
- Para confirmar se debe realizar la prueba de la oxidasa usando una tira reactiva, siendo necesario tomar una colonia de la placa con ayuda de una asa estéril.
- Estriar en la tira reactiva y observar el resultado de modo que, el resultado es negativo al aparecer un color amarillo, mientras que en caso positivo se debe visualizar un color fucsia.

2.7.2.9. *Staphylococcus aureus*

- El medio selectivo para *Staphylococcus aureus* es manitol, el cual se debe observar amarillo ante la fermentación de lactosa y las colonias tienen una tonalidad dorada, en tanto que, al ser rosas o moradas se puede presumir que se trata de *Staphylococcus epidermidis* o *Staphylococcus saprofítico*.
- Realizar la prueba de la catalasa para lo cual, con el asa estéril tomar una colonia de la muestra respectiva y colocar en una placa porta objetos.
- Adicionar una gota de peróxido de hidrogeno y si desprende burbujas se trata de un *Staphylococcus*, caso contrario (si no desprende burbujas) será un *Streptococcus*.
- En caso de observar un resultado positivo para *Staphylococcus*, se debe realizar la prueba de la coagulasa, para lo cual se tendrá que obtener una muestra de sangre en un tubo de tapa lila que debe ser centrifugado y tomar 0,5 mL de suero sanguíneo con una pipeta graduada y trasvasar a un tubo de ensayo con el asa estéril.

- Tomar una colonia de la muestra del agar manitol y llevar al tubo de ensayo con el suero sanguíneo.
- Mezclar bien y trasladar a baño maría durante 3 horas, si se observa un coagulo el resultado será confirmatorio para *Staphylococcus aureus*, de lo contrario puede tratarse de un *Staphylococcus epidermidis* o *Staphylococcus saprofítico*, que se diferencian en agar nutritivo.
- En un tubo de ensayo con un 1 mL de agua estéril introducir un cotonete estéril y con el mismo tomar una pequeña muestra del medio y estriar en toda la caja como si se tratara de un antibiograma.
- Luego colocar un disco de novoviocina, en donde para la interpretación de resultados se debe verificar la formación de un halo para evidenciar *Staphylococcus epidermidis* y en ausencia de halo se trataría de un *Staphylococcus saprofítico*.
- En caso de evidenciar un *Streptococcus* (prueba catalasa negativa), se debe realizar la prueba de CAMP, para lo cual se debe preparar agar sangre al 5% y después estriar la cepa de *Staphylococcus aureus* en forma de una línea horizontal en toda la caja, y a medio centímetro de estos se debe estriar en forma vertical las colonias de *Streptococcus*.
- Incubar durante 24 horas a 37°C e interpretar resultados: en caso positivo se debe observar una flecha que es indicativo de un *Streptococcus* del grupo B.
- A continuación, preparar agar PCA y adicionar cloruro de sodio al 6.5% preparado en agua estéril y plaquear en cajas Petri.
- Estriar una colonia de *Streptococcus* y en caso de crecimiento se trata de un *Streptococcus* del grupo D.
- Por último, preparar en un tubo el agar bilis esculina en pico de flauta y aplicar el mismo proceso, de manera que, se debe tomar una colonia de *Streptococcus* y estriar en el tubo.
- Incubar y observar si existe un cambio de color desde amarillo a negro para un resultado positivo que es indicativo de *Streptococcus* del grupo D.

2.7.2.10. *Salmonella* y *Shigella*

- Para preparar el agar SS, antes se deben reactivar las bacterias en caldo tetrionato para lo cual se debe esterilizar agua destilada y pesar los gramos necesarios de caldo tetrionato.
- Luego trasvasar en un tubo de ensayo estéril 3 mL por cada muestra.
- Seguir el mismo procedimiento para preparar la solución de yoduro de potasio, añadiendo a esta 1 mL en el mismo tubo de ensayo, así las colonias se reactivan y se purifican, creciendo selectivamente *Salmonella* y *Shigella*.
- En cada tubo de caldo añadir 1mL de la muestra preparada e incubar.

A continuación, en la figura 1-2 se observa la metodología resumida en el diagrama de flujo

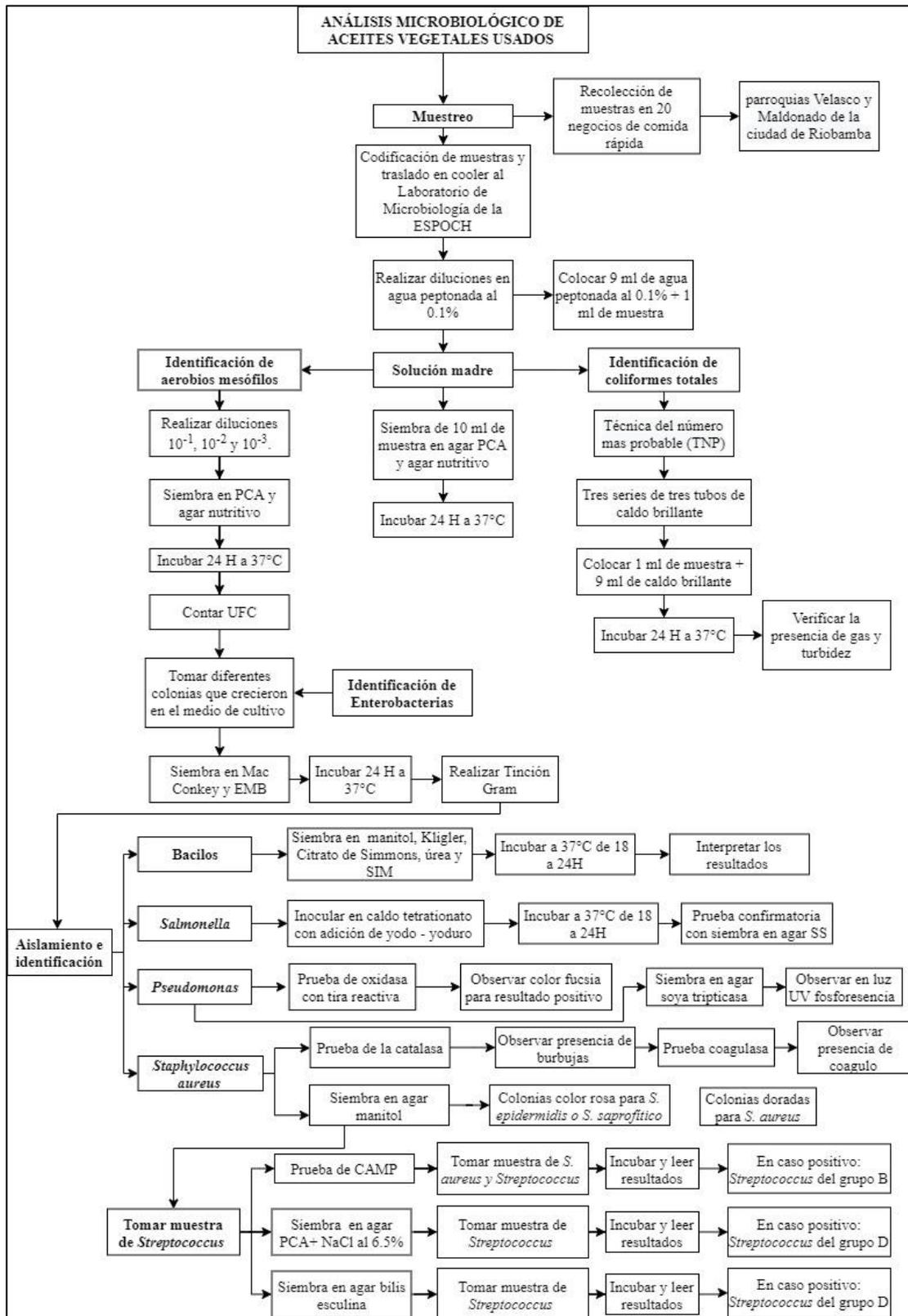


Figura 1-2: Diagrama de flujo del análisis microbiológico realizado a las muestras de aceite vegetal usado.

Realizado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

2.7.3. Fase III: Análisis de sensibilidad de las bacterias aisladas en las muestras de aceites vegetales usados

- Una vez identificadas las bacterias, proceder a preparar agar Soya Trypticasa en tubos de ensayo en forma de pico de flauta.
- Sembrar las bacterias en el agar de los tubos de ensayo para aislar y purificar las bacterias y refrigerar.
- Preparar placas de agar Muller Hinton y realizar el estriado con un hisopo estéril, de modo que, se debe cubrir toda la superficie del medio de cultivo.
- Colocar con ayuda de pinzas previamente esterilizadas colocar los discos de antibióticos en el agar Muller Hinton, para el ensayo de sensibilidad: Vancomicina, penicilina G, amoxicilina + ácido clavulánico, cloranfenicol, gentamicina, amikacina y Trimetroprim + sulfametoxazol.
- Incubar las cajas durante 24 horas a 37°C.
- Observar los resultados visualizando el crecimiento bacteriano alrededor de los discos de sensibilidad, y medir el diámetro de la zona de inhibición que rodea a cada disco.
- Cada combinación de microorganismo – antibiótico tiene diferentes diámetros que indican: sensibilidad, resistencia o moderada resistencia.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

En el desarrollo del presente estudio se contó con la colaboración de 20 locales de comida rápida, 15 en la parroquia Velasco y 5 en la parroquia Maldonado de la ciudad de Riobamba, a los cuales se asignó un número de forma aleatoria por motivo de confidencialidad. Las muestras recolectadas de los aceites vegetales, procedieron de la fritura de papas, registrándose un método de fritura discontinuo, es decir, según la demanda de los productos solicitados por el consumidor, usando freidoras en todos los casos. Este tipo de fritura resulta ser el menos saludable porque el aceite es sometido en varias ocasiones a períodos de calentamiento y enfriamiento, presentando así mayor alteración.

Respecto al análisis organoléptico, todas las muestras presentaron un color turbio, perdiendo el tono característico de amarillo claro del aceite vegetal, además, se observaron partículas de restos de alimentos al tratarse de aceites vegetales usados en fritura más de una vez, teniendo incluso, un aroma más fuerte. Para evaluar la calidad de los aceites vegetales usados, se realizaron análisis de parámetros físico-químicos y microbiológicos, en muestras de aceites tomadas en cada uno de los locales.

3.1. Resultados de los análisis físico químicos

Tabla 1-3: Resultados de los análisis físico-químicos de las muestras de las parroquias Maldonado y Velasco.

MEDIA DE RESULTADOS DE ANALISIS FISICO- QUIMICOS								
Parroquia	Muestra	pH	Conductividad μs	STD* mg/L	Temperatura °C	Densidad relativa	Índice de acidez mgNaOH/g aceite	Índice de peróxido meq O2/Kg aceite
Maldonado	1	7,36	0,1	0,0	18,65	0,9107	1,34	12,05
	2	7,12	0,1	0,0	18,35	0,9221	1,23	193,62
	3	7,11	0,1	0,0	18,10	0,9217	1,23	164,05
	4	6,51	0,1	0,0	18,55	0,9115	1,00	20,01
	5	8,06	0,1	0,0	18,25	0,9171	1,23	69,90
Velasco	6	6,82	0,1	0,0	19,15	0,9147	1,45	40,01
	7	7,12	0,1	0,0	19,10	0,9113	1,23	26,05
	8	6,65	0,1	0,0	18,35	0,9113	1,12	25,97
	9	7,14	0,1	0,0	18,50	0,9119	1,01	24,05
	10	7,32	0,1	0,0	18,65	0,9117	1,24	22,04

11	7,15	0,1	0,0	18,35	0,9115	1,23	23,98
12	7,01	0,1	0,0	18,90	0,9143	1,34	38,05
13	7,16	0,1	0,0	18,55	0,9116	1,12	23,97
14	7,11	0,1	0,0	18,75	0,9167	1,12	62,05
15	7,18	0,1	0,0	18,30	0,9112	1,12	22,04
16	7,35	0,1	0,0	18,65	0,9112	1,23	17,91
17	7,16	0,1	0,0	18,90	0,9165	1,23	57,83
18	7,09	0,1	0,0	18,85	0,9142	1,01	38,05
19	7,21	0,1	0,0	18,90	0,9119	1,12	22,05
20	7,20	0,1	0,0	18,55	0,9169	1,24	62,05

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Al revisar las distintas fuentes bibliográficas se pudo determinar que no existe un valor de referencia establecido de pH en aceites vegetales comestibles debido a que, no son soluciones acuosas, es decir, no existen solutos (sal, azúcar, etc) disueltos en agua, ocurriendo lo mismo con los aceites animales y petroquímicos, sin embargo, en la tabla 1-3 se puede observar que los valores tendieron en su mayoría hacia la alcalinidad entre 7,09 y 8,06. Mientras que tres de los aceites analizados tuvieron valores ácidos que oscilaban entre 6,51 y 6,82. Según Arango V., el valor de pH de cualquier alimento se relaciona directamente con el crecimiento de microorganismos, de modo que, cuanto menor sea el valor será más complicado que se reproduzcan, deduciendo que, al obtener un valor mayoritariamente alcalino, los aceites de frituras del presente estudio, eran susceptibles de contaminación y crecimiento microbiano, cuyos resultados se evidencian más adelante (Arango, 2017, p. 16).

Respecto a los sólidos totales disueltos (STD) y la conductividad, en todas las muestras el multiparamétrico dio una lectura de 0,0 y 0,1 respectivamente, debido a que, estos dos parámetros se encuentran directamente relacionados. Mientras mayor sea la cantidad de iones o sales disueltas en la solución, mayor será la conductividad. Sin embargo, al no tratarse de soluciones acuosas, los resultados tienden hacia 0 y, por tanto, no se encontraron valores de referencia en las normativas vigentes. En cuanto a la temperatura, se puede observar que en todos los casos los valores oscilaron entre 18 y 19°C, pudiéndose deducir que se debía al ambiente en el que se encontraban las muestras para su medición, por tanto la temperatura era ambiente.

En el caso de la densidad relativa, según la normativa NTE INEN 35 el límite máximo permitido es de 0,91, por lo cual, todas las muestras sobrepasan este rango. De acuerdo a un estudio sobre “Componentes presentes en el aceite de fritura usado y determinantes previos a su conversión”, las muestras analizadas presentaron una densidad relativa entre 0,918 y 0,920, siendo valores elevados según la norma, debido a la saturación de las muestras de aceites y al mayor tiempo de calentamiento al que ha sido expuesto el aceite (Sanaguano et al, 2019, p. 35). La densidad está

directamente relacionada con las insaturaciones del aceite y es favorecida con el elevado peso molecular de las largas cadenas de ácidos grasos que poseen (Santos, 2018, p. 29).

Respecto al índice de acidez, las muestras sobrepasaron los valores máximos de 0,20% según la norma NTE INEN 38. Siendo el índice de acidez un parámetro que determina el deterioro de un aceite, al ser producto de la hidrólisis de los ácidos grasos libres que interaccionan con el medio ambiente y el agua, tienden a producir por efecto del calor, humo y sabor desagradable (Rivera et al., 2014). En un estudio sobre “Análisis de la calidad del aceite de mezclas vegetales en doce frituras sucesivas empleado para freír papa sabanera tipo francesa”, se determinó que, en el índice de acidez hubo una tendencia al crecimiento tras la primera fritura, superando el 0,50% tras la segunda fritura, obteniendo hasta un 0,80% en la doceava fritura (Arango, 2008, p. 30).

En el caso del índice de peróxido, se observaron muestras con valores muy elevados, llegando incluso a 164 y 193 mEqO₂/Kg, teniendo en cuenta que el valor máximo según la norma NTE INEN 277, es de 10 mEqO₂/Kg, siendo un riesgo para la salud de los consumidores. En un estudio realizado en México sobre “Composición química y calidad de la grasa contenida en frituras de maíz elaboradas y consumidas en Navojoa”, se determinó que, durante la fritura profunda, el calor puede incrementar hasta 15 veces la cantidad de los ácidos grasos libres, 14 veces el índice de acidez y hasta 8 veces el índice de peróxido (Santana et al., 2019, p. 22).

Tabla 2-3: Estadísticos descriptivos generales de los análisis físico- químicos.

PARÁMETROS	Medidas de tendencia central y de dispersión			
	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
pH	7,14	6,51	8,06	±0,3029
Temperatura °C	18,65	18,10	19,20	±0,2856
Densidad relativa	,9140	,9107	,9221	±0,0035
Solidos totales disueltos mg/L	0,00	0,00	0,00	---
Conductividad μs	0,10	0,10	0,10	---
Índice de acidez mg/g	1,1920	1,000	1,450	±0,1157
Índice de peróxido mEq O ₂ /Kg de muestra	48,2865	12,05	193,62	±47,9043

La desviación estándar en todos los parámetros indica baja dispersión de los resultados de los parámetros pH, temperatura, densidad relativa e Índice de acidez, pero en el caso del índice de peróxido esta dispersión es muy alta, es decir, hay una gran variación de datos, el valor mínimo encontrado en estas 20 muestras de índice de peróxido es de 12,05 mEq O₂/Kg de muestra, valor superior al permitido en la normativa, mientras que, el valor máximo del índice de peróxido fue de 193,62 mEq O₂/Kg. Este elevado valor indica una dosis alta de lípidos peroxidados, los cuales

interactúan directamente con el metabolismo mitocondrial aumentando la concentración de radicales libres.

De acuerdo a un estudio realizado en La Paz sobre “Determinación de la rancidez en aceites usados en el proceso de frituras en establecimientos de expendio de comida rápida”, se concluyó que los aceites al ser usados en el proceso de fritura superan los 180°C, alterando la composición química del aceite al ser insaturado, oxidando los dobles enlaces en peróxidos e hidroperóxidos, también, se alteran las características organolépticas, pudiendo ocasionar la rancidez de la muestra, con sabor y olor desagradable. En el proceso se forman productos de oxidación, altamente tóxicos cuando el consumo es frecuente y por ende dañino para la salud pudiendo conllevar a un estado crónico en el consumidor con problemas cardiovasculares (Segurondo y Cortez, 2020, p. 116).

El efecto de la peroxidación de lípidos es el daño causado a nivel de las membranas, en cuanto a estructura y función, afectando el transporte de iones y metabolitos. Además, un producto de la descomposición de los peróxidos es el malondialdehído, altamente citotóxico, por lo cual, también se tiende a producir un daño en el ADN, ya que se alteran las bases nitrogenadas al formarse enlaces de tipo covalente con malondialdehídos (Delgado, 2004, p. 38). Esta peroxidación en la membrana mitocondrial afecta a componentes en la cadena transportada de electrones, alterando la síntesis de ATP, transporte de metabolitos e iones y conllevando a la destrucción de las células (Rojas y Martínez, 2010, p. 2).

El consumo de los lípidos peroxidados que son compuestos tóxicos, destacándose las acrilamidas y la alta densidad energética, se han relacionado con el desarrollo de algunos tipos de neuropatías, deterioro de la fertilidad y carcinogenicidad, en especial, cáncer de mama, colon y próstata. Se considera que la acrilamida puede reaccionar con cualquier tipo de componente alimentario ya sea mayor o menor, que tenga grupos amino, tiol e hidroxilo (OMS, 2002, p. 8).

De acuerdo a un estudio sobre “Peroxidación de lípidos y sus efectos sobre la salud”, la exposición prolongada al estrés oxidativo se relaciona con disfunciones y enfermedades. A nivel cerebral se dan desórdenes neurodegenerativos como el Parkinson, alzheimer, esclerosis múltiple y lateral amiotrófica, infarto agudo de miocardio y enfermedades cerebrovasculares. En las enfermedades del hígado, incluyendo la hepatopatía alcohólica, la sobreexposición a peróxidos induce la muerte de las células del hígado. La peroxidación también ocasiona la aparición de diabetes tipos II, pancreatitis, cáncer de mama, próstata y colon (Rojas y Martínez, 2010).

Tabla 3-3: Estadísticos descriptivos de los análisis físico-químicos por parroquias.

PARROQUIA MALDONADO				
PARAMETROS	Media	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
pH	7,23	6,51	8,06	± 0,557
Temperatura °C	18,4	18,1	18,7	± 0,222
Densidad relativa	0,9166	0,9107	0,9221	± 0,005
Índice de acidez mg/g	1,21	1,00	1,34	± 0,123
Índice de peróxido	91,92	12,05	193,62	± 12,05
PARROQUIA VELASCO				
pH	7,11	6,65	7,35	± 0,177
Temperatura °C	18,70	18,30	19,15	± 0,268
Densidad relativa	0,9131	0,9112	0,9169	± 0,002
Índice de acidez mg/g	1,19	1,01	1,45	± 0,117
Índice de peróxido	33,74	17,91	62,05	± 15,41

En la tabla 3-3 se observan las diferencias obtenidas entre las parroquias Maldonado y Velasco que fueron consideradas en el estudio, de modo que, la desviación estándar en casi todos los casos indica una baja dispersión y homogeneidad de los datos obtenidos, excepto en el índice de peróxido, en donde el valor es más alto. Respecto al pH se puede observar que los aceites de fritura de la parroquia Maldonado tenían un valor más alcalino, pudiéndose pensar que eran más propensos a crecimientos microbianos, en tanto que, el valor de la temperatura y densidad en ambas parroquias eran similares.

En el caso de la parroquia Maldonado la media del índice de peróxido es casi el triple en relación a la de la parroquia Velasco, pudiéndose deducir que ciertos locales de comida rápida de Maldonado utilizaban un mayor número de veces el aceite para los procesos de fritura, de manera que, el valor peróxidos se incrementaba ante una mayor existencia de lípidos peroxidados (Arango, 2008, p. 30).

Todas las variaciones evidenciadas en ambas parroquias pudieran deberse a los distintos tratamientos que los dueños de los locales realizan a los aceites de fritura, a su manejo en el proceso de cocción, el número de veces que es reutilizado, la temperatura de cocción, equipo utilizado, tipo de alimentos fritos, adición de aceite nuevo como reposición del que se ha perdido durante el proceso, limpieza del aceite e incluso su almacenamiento hasta volver a calentarlo (Ayala, 2011, p. 32).

3.2. Resultados de los análisis microbiológicos

Es importante mencionar que los análisis microbiológicos se realizaron al día 0 y 15 después de la recolección de las muestras en las parroquias objeto de estudio, obteniéndose resultados negativos para presencia de microorganismo patógenos como *Salmonella* – *Shigella* y *Escherichia coli* que son causantes de infecciones a nivel del tracto digestivo, además de ausencia de microorganismos indicadores de la calidad como coliformes totales y *Streptococcus viridans*. En la tabla 4-3 se puede evidenciar que en 8 de los 20 locales de comida rápida, presentaban *Staphylococcus aureus*, en tanto que, todas las muestras tenían un crecimiento de Aerobios mesófilos, cuyos resultados casi se duplicaron al analizar la muestra nuevamente al día 15. Al visualizar los resultados de Enterobacterias, *Pseudomonas*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Proteus mirabilis* y *Acinetobacter spp.* se determinó la presencia y ausencia, de modo que, no existió una variación significativa de estos microorganismos entre el día 0 y 15 del análisis microbiológico como se observa en el gráfico 1-3.

Tabla 4-3: Ausencia (0) y presencia (1) de microorganismos detectados, y resultado del conteo de otros microorganismos, en las muestras analizadas de las parroquias Maldonado y Velasco.

PARROQUIA	MUESTRA	TIEMPO DIA 0									TIEMPO DIA 15								
		PATÓGENOS		INDICADORES DE CALIDAD							PATÓGENOS		INDICADORES DE CALIDAD						
		<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Aerobios Mesofilos</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprofitico</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Chromobacterium;</i>	<i>Acinotobacter spp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Aerobios Mesofilos</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprofitico</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Chromobacterium;</i>	<i>Acinotobacter spp</i>
Maldonado	1	0,00	0,33	0	0	1	0	0	0	0	0,00	0,59	0	0	1	0	0	0	0
	2	0,34	0,36	1	1	1	0	0	0	0	0,48	0,7	1	1	1	0	0	0	0
	3	0,37	0,45	1	1	1	0	0	0	0	0,52	0,89	1	1	1	0	0	0	0
	4	0,00	0,46	1	1	1	0	0	0	0	0,00	0,87	1	1	1	0	0	0	0
	5	0,00	5,40	1	0	1	0	1	0	0	0,00	5,6	1	0	1	0	1	0	0
Velasco	6	0,00	1,40	1	1	1	0	0	1	0	0,00	2,7	1	1	1	0	0	1	0
	7	0,00	0,70	0	0	1	0	0	0	1	0,00	1,4	0	0	1	0	0	0	1
	8	0,00	0,46	0	0	1	1	0	0	1	0,00	0,84	0	0	1	1	0	0	1
	9	0,36	0,50	1	1	1	0	0	0	0	0,49	0,94	1	1	1	0	0	0	0
	10	0,00	0,40	0	0	1	0	0	0	0	0,00	0,78	0	0	1	0	0	0	0
	11	0,00	0,42	0	0	1	0	0	0	0	0,00	0,74	0	0	1	0	0	0	0
	12	0,00	0,41	1	1	1	0	0	0	0	0,00	0,8	1	1	1	0	0	0	0
	13	0,00	0,43	0	0	1	0	0	0	0	0,00	0,84	0	0	1	0	0	0	0
	14	0,40	0,41	0	0	1	0	0	0	0	0,50	0,79	0	0	1	0	0	0	0
	15	0,41	0,47	1	1	1	0	0	0	0	0,55	0,89	1	1	1	0	0	0	0
	16	0,30	0,34	0	0	0	0	0	0	0	0,48	0,65	0	0	0	0	0	0	0
	17	0,40	0,41	0	0	1	0	0	0	0	0,57	0,84	0	0	1	0	0	0	0
	18	0,00	0,40	1	1	1	0	0	0	0	0,00	0,82	1	1	1	0	0	0	0
	19	0,00	0,40	1	0	0	0	0	1	0	0,00	0,95	1	0	0	0	0	1	0
	20	0,36	0,34	1	0	0	0	0	0	0	0,54	0,57	1	0	0	0	0	0	0

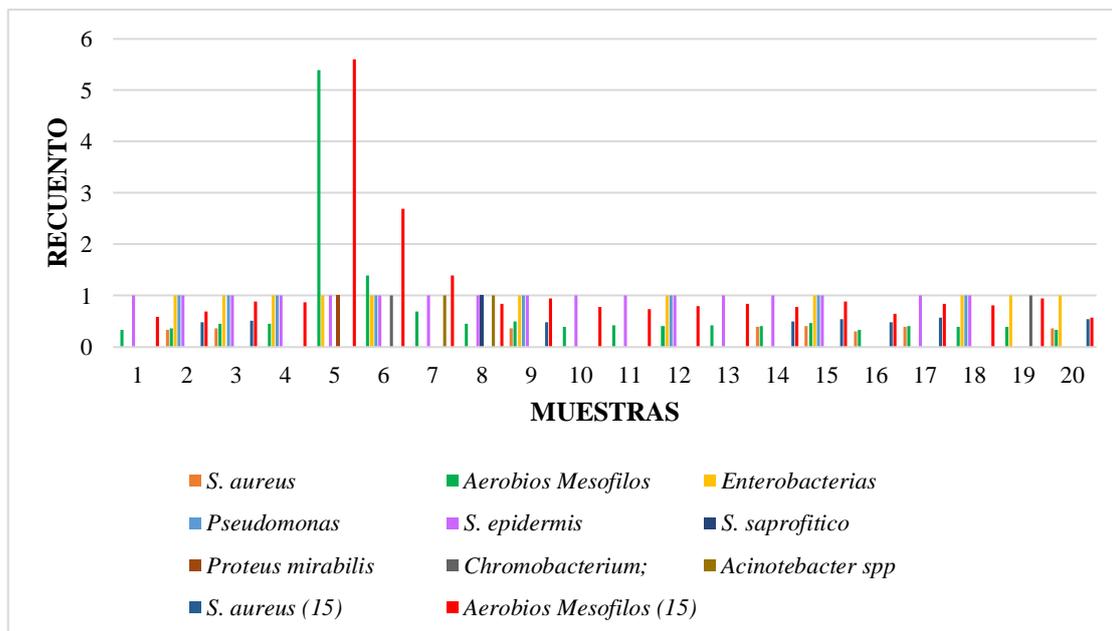


Gráfico 1-3: Comparación del crecimiento microbiano en AVU entre el día 0 y día 15.

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

En la gráfica 1-3 se observa que existe una variación significativa en el recuento de microorganismos entre el día 0 y día 15, de manera que, específicamente en el caso de *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos el valor casi se duplicó con el pasar del tiempo, debido al crecimiento exponencial de las bacterias, el cual puede llegar a ser de 1.4×10^{12} UFC/ ml cada 30 minutos, esto a nivel intestinal, de manera que, el consumo de alimentos que han sido fritos en aceite contaminado con estos microorganismos puede conllevar a un crecimiento microbiano a nivel del tracto alimentario. A pesar de esto, al día 15 no se observó un crecimiento exagerado, pudiéndose deber a la refrigeración en la que en la que se mantuvo a las muestras antes de su análisis en el día 15, por lo que los bacterias no tenían la temperatura adecuada para su replicación exponencial y se mantenían en estado de latencia (Díaz et al., 2017, p. 43).

Por otro lado, en cuanto a la presencia de *Staphylococcus aureus* se deduce que se debe a una contaminación con esta bacteria proveniente de la piel de las personas que realizaban el proceso de fritura, debido a que este patógeno habita incluso en personas sanas que al no utilizar materiales de protección para manipular o retirar los alimentos del aceite y no limpiar correctamente los utensilios pueden contaminar al aceite. En el caso de Aerobios mesófilos, al ser indicadores de la calidad, su presencia en los aceites analizados explicaría una posible práctica incorrecta en el vertido y una manipulación inadecuada (Díaz et al., 2017, p. 43).

Al revisar la bibliografía se pudo evidenciar que la legislación vigente no recoge normas microbiológicas para los aceites vegetales que son utilizados en procesos de fritura, sin embargo, debe existir una ausencia de microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* –

Shigella y *Staphylococcus aureus*, debido a que, provocan infecciones que pueden poner en riesgo la salud del consumidor.

3.3. Análisis estadístico de asociación de variables

Se aplicó la prueba Chi- cuadrado entre todas las variables a un nivel de confianza $\alpha= 0,05$, sin encontrar asociación, exceptuando la asociación identificada entre la variable temperatura y *Staphylococcus aureus* del conteo del día 15 ($0,047 < 0,05$). La prueba de asociación con el día 0 del cultivo y conteo de *Staphylococcus aureus* no se halló asociación ($0,171 > 0,05$)

Tabla 5-3: Pruebas Chi-cuadrado

VARIABLES RELACIONADAS	GI	Chi ² Significación asintótica (bilateral)
Temperatura °C y <i>Staphylococcus</i> día 15	63	0,047
Temperatura °C y <i>Staphylococcus</i> día 0	54	0,171

Al realizar un análisis estadístico de la dependencia de las variables de crecimiento de *S. aureus* respecto a la temperatura, se determinó que, en el día 15 con una significancia de 0,047, se acepta la hipótesis alternativa, es decir, las variables de crecimiento y temperatura de este microorganismo, son dependientes.

Staphylococcus aureus es una bacteria con temperatura óptima de crecimiento a los 37-40°C, produce colonias sin pigmentación, cuyo crecimiento requiere de mínimo 48 horas. Estas colonias utilizan pocos carbohidratos como fuente de energía al ser principalmente autótrofas, sin embargo, la incubación prolongada permite detectar la presencia de colonias pequeñas, de hasta 10 veces menor a las cepas originales (Cervantes et al, 2014, p. 31).

Esta bacteria posee características particulares en cuanto a resistencia a antibióticos y virulencia, en los seres humanos es causante de diversas enfermedades infecciosas, es uno de los microorganismos más importantes en la clínica y en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), la bacteria es capaz de producir toxinas, por lo cual, ocurre la infección con la ingesta de alimentos contaminados. *Staphylococcus aureus* puede encontrarse a nivel del aire, leche, agua potable, comida o equipos donde se preparen los alimentos. Respecto a la intoxicación por esta bacteria, es importante mencionar que las enterotoxinas estafilocócicas son termorresistentes, razón por la cual pueden encontrarse en productos sometidos a altas temperaturas (Zendejas et al, 2014, p. 131).

3.4. Resultados del análisis de sensibilidad de las bacterias aisladas en las muestras de aceites vegetales usados

Tabla 6-3: Resultados del antibiograma realizado a microorganismos identificados en muestras de AVU.

PARROQUIA	MUESTRA	PATÓGENOS		INDICADORES DE CALIDAD													
		<i>Staphylococcus aureus*</i>	<i>Enterobacterias</i>	<i>Pseudomona agglomerans</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprofitico</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Chromobacterium;</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	Resistencia	Sensibilidad	Resistencia	Sensibilidad	Resistencia	Sensibilidad	Resistencia	Sensibilidad
Maldonado	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	6	9	-	-	5	9	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	6	9	-	-	5	9	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	9	6	7	9	1	9	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	-	-
	6	-	-	5	6	1	9	4	-	-	-	-	8	6	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	6	8	-
	8	-	-	-	-	-	-	2	-	8	9	-	-	-	6	8	-
	9	2	9	5	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Velasco	11	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	12	-	-	5	-	8	9	4	6	-	-	-	-	-	-	-	-
	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	6	10	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	5	-	9	-	5	9	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	6	10	9	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17	3	5	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	3	-	9	-	9	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	19	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-	-	-
	20	-	-	9	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1= Eritromicina, gentamicina y oxacilina, 2= Eritromicina, clindamicina y Penicilina G, 3= Nitrofurantoina, Penicilina G y Eritromicina, 4= Clindamicina y oxacilina, 5 = Amoxicilina + Ác. Clavulánico, 6= Cloranfenicol, 7= Fosfomicina, 8= Tetraciclina, 9= Amikacina y gentamicina, 10= Nitrofurantoina

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

En la tabla anteriormente expuesta se puede denotar que en el caso de *Staphylococcus saprofitico* el único caso identificado (muestra 8) tuvo una resistencia a la tetraciclina, mientras que *Proteus mirabilis* (muestra 5) tuvo resistencia a la amoxicilina + ácido clavulánico, en tanto que, *Chromobacterium* (muestras 6 y 19) presentaba resistencia a la tetraciclina y *Acinetobacter spp.* (muestras 7 y 8) presentó resistencia al cloranfenicol.

Del mismo modo, para un mayor entendimiento de la resistencia presentada por *Staphylococcus aureus*, *Enterobacterias*, *Pseudomona agglomerans* y *Staphylococcus epidermidis* se elaboraron varios gráficos que se indicación a continuación. En el caso de *Staphylococcus aureus* en el grafico 2-3 se puede observar que presento una mayor resistencia al cloranfenicol (alfenicol) y a la nitrofurantoina (nitrofurano), Penicilina G (penicilina) y eritromicina (macrólido).

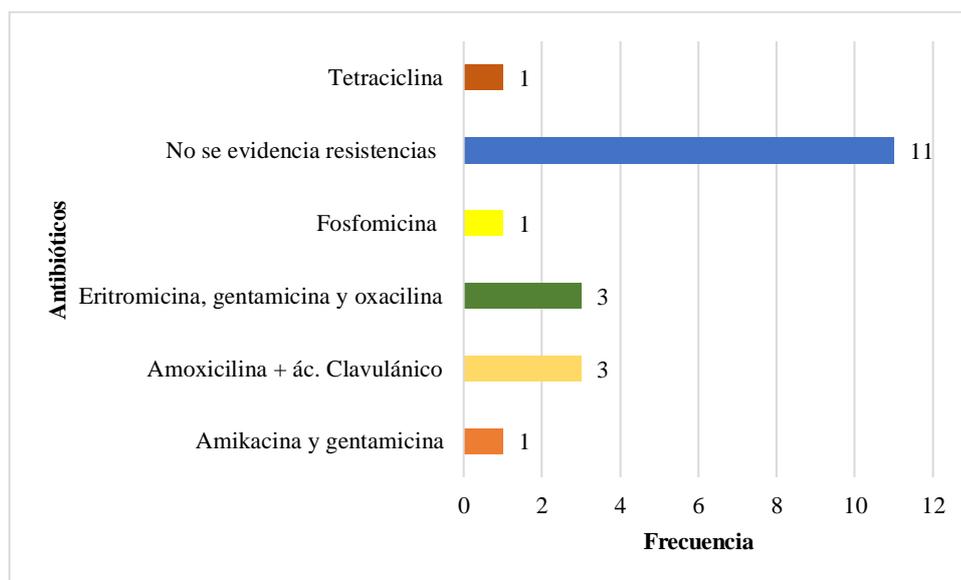


Gráfico 2-3: Resistencia a antibióticos presentada por *Staphylococcus aureus*.

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Al hablar de *Enterobacterias* en el grafico 3-3 se puede observar que presentaron una mayor resistencia a la amikacina y gentamicina (ambos aminoglucósidos) y en menor cantidad a la amoxicilina + ácido clavulánico (penicilina).

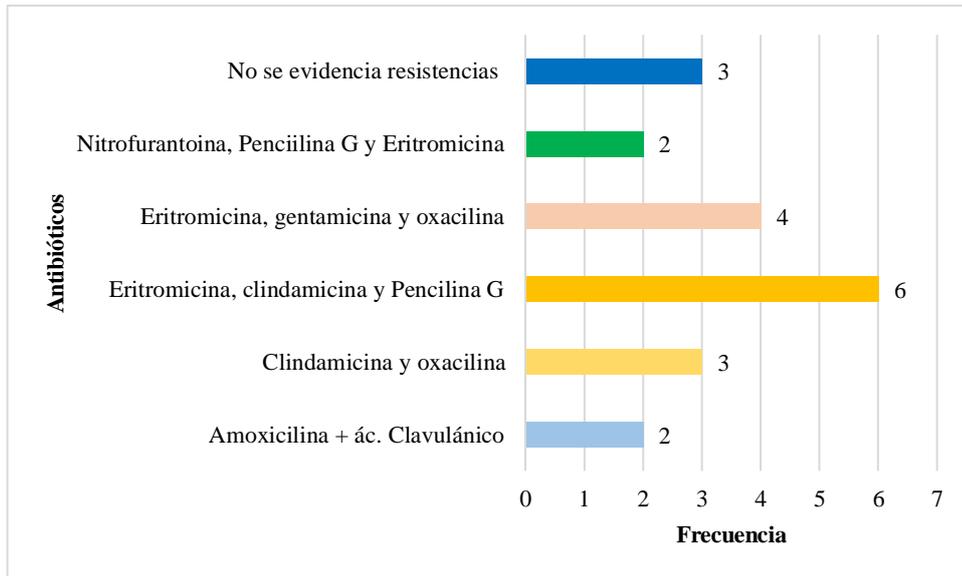


Gráfico 3-3: Resistencia a antibióticos presentada por *Enterobacterias*.

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Las muestras de AVU en donde se identificó *Pseudomona agglomerans* presentaron una mayor resistencia a la eritromicina (macrólido), gentamicina (aminoglucósido), oxacilina (penicilina) y amoxicilina + ácido clavulánico (penicilina), como se indica en el gráfico 4-3.

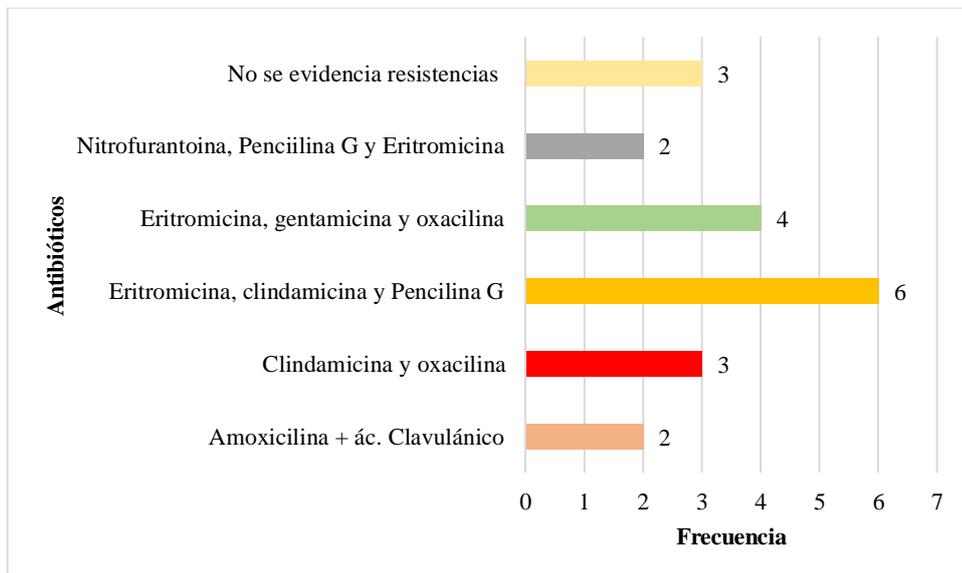


Gráfico 4-3: Resistencia a antibióticos presentada por *Pseudomona agglomerans*.

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

En el caso de *Staphylococcus epidermidis* en el gráfico 5-3 se evidencia que presentaba mayor resistencia a la eritromicina (macrólido), clindamicina (lincomicina), Pencilina G (penicilina), gentamicina (aminoglucósido) y oxacilina (penicilina).

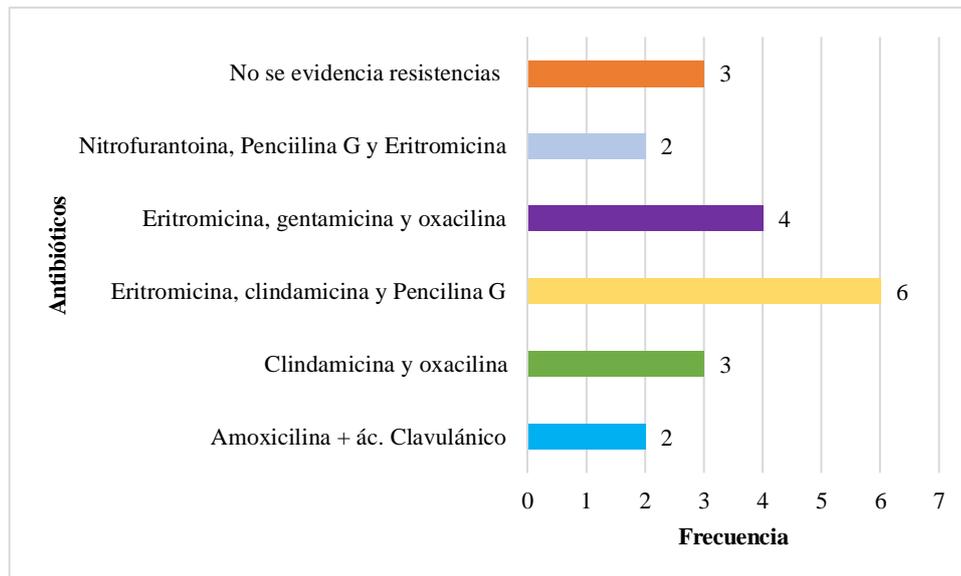


Gráfico 5-3: Resistencia a antibióticos presentada por *Staphylococcus epidermidis*.

Elaborado por: Chimborazo, Ingrid, 2021.

Al observar los resultados del antibiograma realizado a las muestras de aceites vegetales usados, se puede observar que gran parte de las bacterias analizadas eran resistentes a varios antibióticos, sobre todo a los del tipo betalactámico como penicilinas (amoxicilina + ácido clavulánico, oxacilina), aminoglucósidos (gentamicina y amikacina) y macrólidos (eritromicina), poniendo de manifiesto la gran problemática que existe al consumir alimentos que han pasado por un proceso de fritura y pudieran estar contaminados con bacterias resistentes, de manera que, actualmente la OMS recomienda que para prevenir esto eventos es necesario el lavado frecuente de manos al preparar los alimentos, tomando en consideración cinco reglas de inocuidad: separando alimentos crudos de cocinados, coser completamente los alimentos, usar agua y materias primas inocuas, temperaturas seguras y mantener siempre la limpieza del personal y utensilios de cocina (OMS 2020).

CONCLUSIONES

- Los análisis físico-químicos de las muestras de aceites vegetales usados en locales de comida rápida de las parroquias Maldonado y Velasco, mostraron baja desviación o dispersión en los resultados de pH, temperatura, densidad e índice de acidez, excepto en el índice de peróxido con alta desviación de $\pm 47,90$, con valor mínimo de 12 mEq O₂/Kg y valor máximo de 193 mEq O₂/Kg. Tras realizar una comparación entre las parroquias se observó que los locales de la parroquia Maldonado presentaron mayor alteración principalmente por su pH alcalino y los elevados índices de peróxido.
- En cuanto al análisis microbiológico, se determinó que, existió variación significativa en el recuento de microorganismos entre el día 0 y el día 15, en el caso de *Staphylococcus aureus* y aerobios mesófilos, donde el valor casi se duplicó, debido al crecimiento exponencial de las bacterias. En el caso de *S. aureus* la contaminación se supone a la manipulación de las muestras por el personal. También se observó ausencia de bacterias patógenas o indicadores de calidad, sin embargo, la salud de los consumidores sí se puede ver afectada por la presencia de los microorganismos contaminantes y altas posibilidades de adquirir enfermedades por la degradación confirmada en estos aceites.
- La evaluación de sensibilidad o resistencia a los antibióticos determinó que, gran parte de las bacterias analizadas presentaron resistencia a varios antibióticos, sobre todo a medicamentos del tipo betalactámico, como es el caso de las penicilinas (amoxicilina + ácido clavulánico), aminoglucósidos (gentamicina, amikacina) y macrólidos (eritromicina), siendo algunos de los antibióticos más utilizados a nivel del sistema de salud.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los locales de comida rápida tener un mayor cuidado con los aceites vegetales utilizados en el proceso de fritura, ya que cualquier alteración de los parámetros físicos, químicos o microbiológicos, constituyen un riesgo para la salud de los consumidores, por lo cual se debe garantizar la calidad e inocuidad de los productos que se expenden.
- Es importante que los dueños de los locales tengan plena conciencia sobre el uso adecuado del aceite en el proceso de fritura, evitando altas temperaturas, y reuso excesivo que puede incidir en características organolépticas poco deseables por principios de rancidez, a fin de ofrecer productos lo más saludables posible y apetecibles.
- Es importante que el personal que labora en los locales de comida rápida tenga acceso a capacitaciones periódicas sobre conservación, manejo de alimentos, manejo de los aceites de fritura, normas de calidad y normas sanitarias a fin de contribuir con la salud del consumidor y calidad de los procesos y productos que ofrecen.
- Se recomienda que los laboratorios cuenten con los reactivos necesarios para realizar todos los ensayos a los AVU, como índice de saponificación, contaminación con metales pesados como hierro, cobre, plomo y arsénico, entre otros.
- Se debería tratar de automatizar los procesos para el análisis de AVU o utilizar equipos de mayor precisión con la finalidad de obtener resultados más confiables.
- Se deberían realizar nuevos estudios que sirvan de base para futuras investigaciones sobre el análisis físico – químico y microbiológico de AVU, debido a que, la información encontrada es escasa.

GLOSARIO

Aceite vegetal usado: Son aquellos residuos de frituras, con capacidad de formar películas sobre el agua, además, impiden o dificultan su oxigenación y la correcta depuración (Villabona et al, 2017, p. 22).

Aceite vegetal: Productos de origen vegetal o animal, cuyo principal componente son triésteres de ácidos grasos y el glicerol, llamados “triglicéridos”. Un aceite puede estar conformado por un solo tipo de triglicérido, o por una mezcla de ellos (Durán et al, 2015, p. 11)

Ácidos Grasos Insaturados: Este tipo de ácido graso proviene del reino vegetal, tiene un doble enlace en su estructura química por lo que se los denomina “insaturados” y por ende a temperatura ambiente se mantiene en estado líquido (Ortiz, 2014).

Ácidos Grasos Saturados: Este tipo de ácido graso es el más común, químicamente no tiene un doble enlace carbono – carbono (Melo, 2007 pág. 121).

Hidrólisis: Reacción que tiene lugar en la unión entre los ácidos grasos y la porción del glicerol (Ayala, 2011).

Oxidación: Reacción tiene lugar en los puntos de insaturación, generalmente es un proceso lento; se necesita un tiempo considerable para producir una cantidad suficiente de peróxidos, para desarrollar sabores u olores desagradables (Ayala, 2011).

Polimerización: Una producción de uniones cruzadas entre cadenas de ácidos grasos no saturados, directamente o a través de átomos de oxígeno, y que pueden dar lugar a estructuras cíclicas (Ayala, 2011).

Punto de humeo: Temperatura a la cual la muestra de aceite emite un humo visible porque empieza a descomponerse, por lo que el glicerol se transforma en una sustancia tóxica llamada acroleína (Marina, 2014, p. 4).

BIBLIOGRAFÍA

ANMAT. *Guía de Buenas Prácticas de Farmacovigilancia*. Ministerio de Salud: 2009, pp. 2-110.

ARANGO, N. *Análisis de la calidad del aceite de mezclas vegetales utilizado en doce frituras sucesivas empleado para freír papa sabanera tipo francesa* [en línea]. S.l.: Pontificia Universidad Javeriana, 2017. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8794/tesis739.pdf?sequence=1>.

AYALA, M. *Evaluación de la calidad del aceite de mezclas vegetales utilizado en doce frituras sucesivas empleado para freír plátano hartón verde*. S.l.: Pontificia Universidad Javeriana: 2011.

BAOS, E. *Caracterización y seguimiento de la resistencia a linezolid en staphylococcus epidermidis en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Clínico San Carlos*. 2017.

BURNS, J.L. *Stenotrophomonas maltophilia*. *Rev Chil Infect*, [en línea], vol. 23, no. 3, 2006, pp. 247-248. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v23n3/art09.pdf>.

CAMPUZANO, S., MEJÍA, D., MADERO, C. y PABÓN, P. *Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. NOVA: 201,5* [en línea], vol. 13, no. 23, pp. 81-92. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>.

CERVANTES, E., GARCÍA, R. y SALAZAR, P. "Características generales del Staphylococcus aureus". *Medigraphic*, vol. 11, no. 4 (2014), pp. 11-14. ISSN 00035599. DOI 10.1108/eb020168.

DELGADO, W. "¿ Por qué se enrancian las grasas y aceites ?" *Palmas*, vol. 25, no. 42 (2004), pp. 35-43.

DÍAZ, A; et al. "Análisis Microbiológico De Los Alimentos". *Anmat* [en línea], vol. 3, no. 12 (2017), pp. 1-14. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf.

DURÁN, S; et al. "Aceites vegetales de uso frecuente en Sudamérica: características y propiedades". *Nutricion Hospitalaria*, vol. 32, no. 1 (2015), pp. 11-19. ISSN 16995198. DOI

10.3305/nh.2015.32.1.8874.

ESQUIVEL, A; et al. "Cambios químicos de los aceites comestibles durante el proceso de fritura. Riesgos en la salud". *PÄDI Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, vol. 2, no. 3 (2014), pp. 86-96. DOI 10.29057/icbi.v2i3.526.

FERNANDEZ, F. "Microbiología Streptococcus viridans". *Control calidad SEIMC*, 2014, pp. 7.

HERNÁNDEZ, R; et al. *Metodología de la investigación*. Segunda. México Distrito Federal: 1997, s.n. ISBN 9684229313.

JUÁREZ, M.D. y SAMMÁN, N. "El deterioro de los aceites durante la fritura". *Revista Espanola de Nutricion Comunitaria*, vol. 13, no. 2 (2007), pp. 82-94. ISSN 11353074.

LÁZARO, M. *Alteraciones de los aceites vegetales durante la fritura*, 2018. [en línea]. S.l.: Universidad de Sevilla. Disponible en: <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/82324>.

MARINA, A. Norma Mexicana Nmx-F-174-Scfi-2014 Alimentos – Aceites Y Grasas Vegetales O Animales. 2014,

OCW. Estructura de las bacterias patógenas. 2015.

OMS. Consultas sobre la inocuidad de los alimentos. 2002, pp. 35.

OMS. Resistencia a los antimicrobianos, 2020.

ORTEGA, L *Clasificacion de Medios de Cultivo*, 2012. [en línea]. [Consulta: 1 septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.ugr.es/~pomif/pom-bac/pb-i/pb-i-2-variedad.htm>.

ORTEGA, M; et al. *Preparacion de Medios de Cultivo*. Universidad Tecnologica Nacional, 2021. [en línea]. Disponible en: [http://www.ugr.es/~cjl/medios de cultivo.pdf%0Ahttp://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoI.pdf](http://www.ugr.es/~cjl/medios%20de%20cultivo.pdf%0Ahttp://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoI.pdf).

ORTIZ, S. Investigación de los derivados de la palma africana, sus beneficios y aplicación en la gastronomía. *UTE*: 2014.

PUIG, Y; et al. Resistencia antimicrobiana en Salmonella y E. coli aisladas de alimentos: revisión de la literatura. *Panorama Cuba y Salud*, vol. 6, no. 1 (2011), pp. 30-38. ISSN 0124-1265.

RAUEN, M, et al. Determinación del período de inducción de aceite de soja - Correlación entre el Rancimat y otros índices. *Grasas y Aceites*, vol. 43, no. 3 (1992), pp. 119-122. ISSN 0017-3495. DOI 10.3989/gya.1992.v43.i3.1162.

RIVERA, Y. Cuantificación del deterioro de aceites vegetales usados en procesos de frituras en establecimientos ubicados en el Municipio Libertador del Estado Mérida Quantification of the deterioration of vegetable oils used in frying processes in facilities located. *Revista Ciencia e Ingeniería*, vol. 35, no. 3 (2014), pp. 157-164.

RODRÍGUEZ, P.A. y ARENAS, R. Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Medica y Quirúrgica*, 2018. [en línea]. S.l.: s.n., pp. 166-167. Disponible en: <https://www.medigraphic.com>.

ROJAS, M. y MARTÍNEZ, T. Lípidos y Salud. *Cenipalma*, vol. 10, no. 2010, pp. 1-8. ISSN 0717-6163.

SANAGUANO, H; et al. "Componentes presentes en el aceite de fritura usado y determinantes previos a su conversión en biodiesel". *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas*, vol. 22, no. 44 (2019), pp. 33-38. ISSN 1561-0888. DOI 10.15381/iigeo.v22i44.17283.

SÁNCHEZ, F; et al. "Bacteriemia por Pantoea agglomerans". *Anales de Medicina Interna* [en línea], vol. 23, no. 5 (2006), pp. 250-251. ISSN 02127199. DOI 10.4321/s0212-71992006000500015. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/ami/v23n5/carta6.pdf>.

SANTANA, M.E; et al. "Composición química y calidad de la grasa contenida en frituras de maíz elaboradas y consumidas en Navojoa, estado de Sonora, México". *Perspectivas en Nutrición Humana*, vol. 21, no. 1 (2019) pp. 17-26. ISSN 01244108. DOI 10.17533/udea.penh.v21n1a02.

SANTOS, S. Estudio de la estabilidad del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa. 2018, pp. 29.

SEGURONDO, R. y CORTEZ, V. "Determinación de la rancidez en aceites usados en el proceso de frituras en establecimientos de expendio de comida rápida". *Scielo*, vol. 8, 2020, pp. 21-28.

SEIJA, V. "Etiopatogenia microbiológica". «*Enfermedades Infecciosas Principios y práctica*», 2020, pp. 255-272.

SEIJA, V. y VIGNOLI, R. *Principales grupos de antibióticos*, 2010. S.l.: s.n. ISBN 9974-31-194-2.

SIDIBÉ, S.S; et al. "Use of crude filtered vegetable oil as a fuel in diesel engines state of the art: Literature review". *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 9 (2010), pp. 2748-2759. ISSN 13640321. DOI 10.1016/j.rser.2010.06.018.

SOLARTE, N. y VARGAS, M. *Diseño de las estrategias de recolección del aceite de cocina usado para su reutilización en la producción de biodiesel en cuatro barrios de la ciudad de cali, 2013.* [en línea]. S.l.: Universidad Autónoma de Occidente. Disponible en: <https://red.uao.edu.co/bitstream/handle/10614/5196/TIA01580.pdf;jsessionid=F1E05AF75FC10E75D41EF47300288BC1?sequence=1>.

UNAM. Bacterias Diversidad metabólica de las bacterias. *Bacterias*, 2006, pp. 18.

UTN. Productos fritos. 2008, pp. 1-22.

VARGAS, T. y KUNO, A. "Morfología bacteriana". *Revista de Actualización Clínica*, vol. 49, no. 2 (2014), pp. 2594-2598.

VILLABONA, A; et al. "Alternativas para el aprovechamiento integral de residuos grasos de procesos de fritura". *Teknos revista científica*, vol. 17, no. 1 (2017), pp. 21. ISSN 1900-7388. DOI 10.25044/25392190.890.

YAGUE, M. "Estudio de utilización de aceites para fritura en establecimientos alimentarios de comida preparada". *Observacion De La Seguretat*, vol. 2 (2003), pp. 1-34.

ZENDEJAS, G; et al. "Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades de patogenicidad, metodos de identificacion". *Revista Biomed*, vol. 25, no. 3 (2014), pp. 129-143.

LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE Firmado digitalmente por LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.11.16 08:19:57 -05'00'

ANEXOS

ANEXO A: OFICIOS DEL TRABAJO DE TITULACIÓN



ESPOCH

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Of. No.160.UIC.BQF.2020
Riobamba, Octubre 20 del 2020

Dra. Nelly Guananga	DIRECTOR
Dra. Irene Gavilanes	MIEMBRO

Presente.

De mi consideración:

Por el presente me permito comunicar que la Unidad de Integración Curricular de la Carrera de Bioquímica y Farmacia en base al art. 84 y 85 del Reglamento de Régimen Académico Vigente, en reunión del día 20 de octubre del año en curso, en conocimiento del informe presentado por el TRIBUNAL EVALUADOR, ACUERDA APROBAR el Trabajo de Integración Curricular de tipo TRABAJO EXPERIMENTAL con el tema: "ESTUDIO DE CALIDAD DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS EN LOS NEGOCIOS DE COMIDA RAPIDA EN LAS PARROQUIAS VELASCO Y MALDONADO DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA Y SU INCIDENCIA EN LA SALUD", presentado por la señorita INGRID KARINA CHIMBORAZO AZAS, y designar a ustedes parte del Tribunal del Trabajo de integración curricular conforme el siguiente detalle.

DIRECTOR: Dra. Nelly Guananga
MIEMBRO: Dra. Irene Gavilanes
Área: Alimentos

La propuesta pertenece a un proyecto de investigación titulado: "ESTUDIO DE LA CALIDAD DE LOS ACEITES VEGETALES USADOS EN LOS NEGOCIOS DE COMIDA RAPIDA DE RIOBAMBA Y SU INCIDENCIA EN LA SALUD"

Con lo cual se dispone la Matrícula del trabajo de Integración Curricular

Por la atención al presente, anticipo mi agradecimiento,

Cordialmente,

Dra. Janneth Gallegos Nuñez
PRESIDENTA DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
DIRECTORA CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA
uic

ANEXO B: MATERIALES Y EQUIPOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN

Se utilizaron varios materiales y equipos durante la ejecución de la investigación, los cuales se indican en la tabla 1, a continuación:

Tabla 1: Equipos utilizados durante la investigación

Análisis	Método	Técnica	Equipo
FÍSICOS			
Medición del pH	Electro analítica	Potenciometría	pH metro
Conductividad	Electro analítica	Potenciometría	Conductímetro
Temperatura			Multiparámetro
Densidad	Gravimétrico	Picnómetro	Balanza electrónica Scout Pro
QUÍMICOS			
Acidez	Volumétrico	Titulación	Balanza electrónica Scout Pro
Peróxido	Volumétrico	Titulación	Balanza electrónica Scout Pro
MICROBIOLÓGICOS			
Recuento e identificación de bacterias	Recuento en placa	Recuento del número más probable	<ul style="list-style-type: none"> - Autoclave Tuttnaver - Balanza Scout Pro - Cámara de flujo laminar Nuair - Microscopio Fisher Scientific - Refrigerador Mabe - Estufa Memmert - Baño maria Memmert - Centrifuga Dynac - Agitador magnético Fisher Scientific

Tabla 2: Materiales y reactivos utilizados en los análisis fisicoquímicos en la investigación

Materiales	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> - Probeta de 50 ml - Erlenmeyer de 100 ml - Erlenmeyer de 250 ml - Gradillas metálicas - Tubos de ensayo - Picnómetro 	<ul style="list-style-type: none"> - Alcohol - Éter - Fenolftaleína - 0.1 N de hidróxido de sodio - Ácido acético - Cloroformo - Yoduro de potasio - Solución indicadora de almidón - Tiosulfato de sodio - Agua destilada

Realizado por: Chimborazo, Ingrid. 2021.

Tabla 3: Materiales y reactivos utilizados en los análisis microbiológicos en la investigación

Materiales	Reactivos
- Probeta de 50 ml	- Hierro de Kligler
- Erlenmeyer de 100 ml	- Citrato de Simmons
- Erlenmeyer de 500 ml	- SIM
- Mechero	- Úrea
- Tubos de ensayo	- Mueller Hilton
- Micropipetas	- Soya Casein Digest
- Papel aluminio	- Caldo de enriquecimiento tetrionato
- Peras de succión	- Peróxido de hidrógeno
- Pipetas estériles	- Agar EMB
- Placas cubreobjetos	- Agar MacConkey
- Placas portaobjetos	- Agar Manitol Salado
- Puntas para micropipetas	- Agar PCA
- Toallas de papel	- Sangre

Realizado por: Chimborazo, Íngrid. 2021.

A continuación se adjuntan los equipos utilizados:



Figura 1: Conductímetro



Figura 2: Balanza analítica



Figura 3: Refrigeradora



Figura 4: Microscopio



Figura 5: Baño María



Figura 6: Autoclave



Figura 7: Cámara de flujo laminar



Figura 8: Estufa



Figura 9: Centrifuga



Figura 10: Agitador magnético

ANEXO C: ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS



Figura 11: Determinación del índice de acidez



Figura 12: Determinación del índice de acidez



Figura 13: Determinación de densidad



Figura 14: Determinación del índice de peróxido

ANEXO D: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS – TINCIÓN GRAM

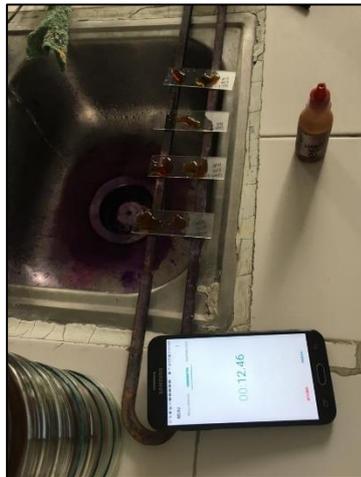


Figura 15: Proceso de tinción Gram con colorantes



Figura 16: Identificación de bacilos Gram negativos



Figura 17: Identificación de cocos Gram positivos



Figura 18: Visualización en el microscopio

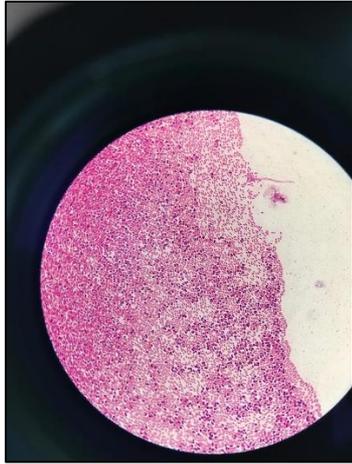


Figura 19: Identificación de cocos Gram negativos

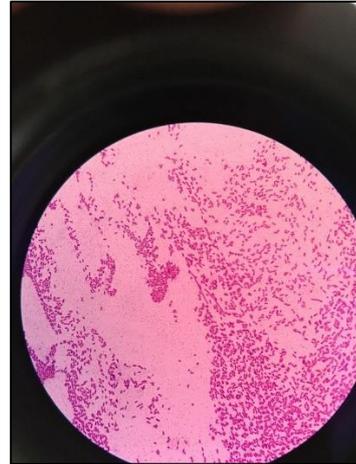


Figura 20: Identificación de bacilos Gram negativos

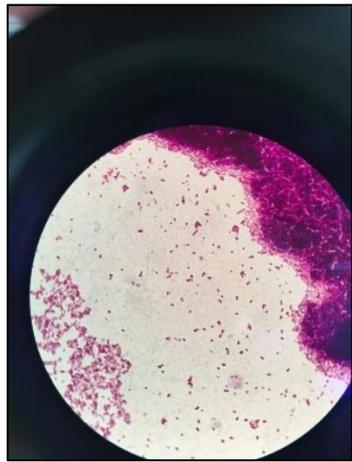


Figura 21: Identificación de cocos Gram positivos

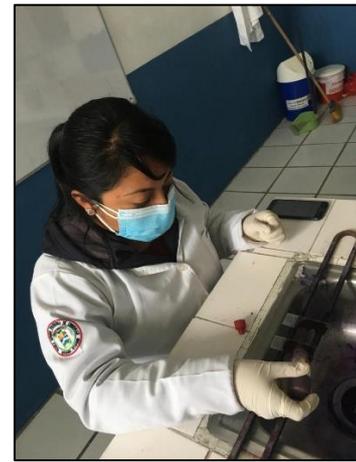


Figura 22: Preparación de Tinción Gram

ANEXO E: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS – IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS



Figura 23: Siembra de bacterias en agar manitol salado

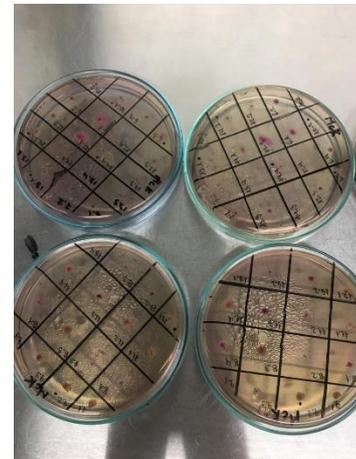


Figura 24: Crecimiento de colonias en agar MacConkey

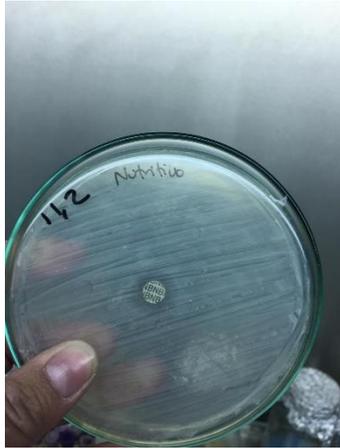


Figura 25: Crecimiento de bacterias alrededor de disco de antibiograma.



Figura 26: Crecimiento de colonias en agar PCA.

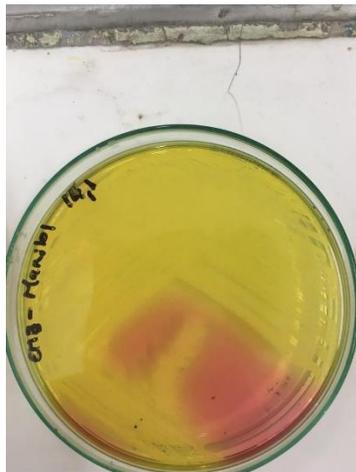


Figura 27: Cambio de coloración en agar manitol salado y EMB.

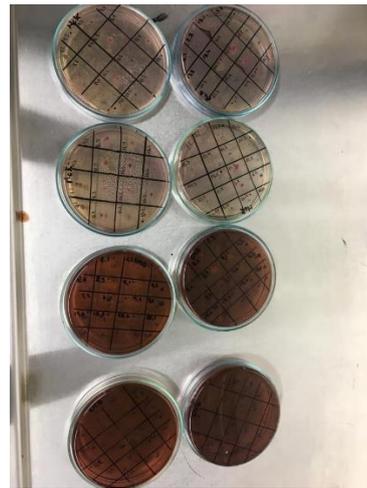


Figura 28: Conteo de colonias en agar MacConkey (arriba) y EMB (abajo).

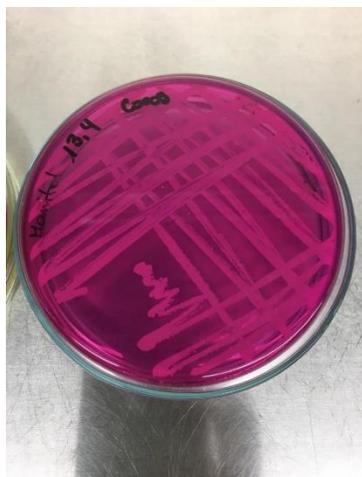


Figura 29: Crecimiento de cocos en agar manitol.

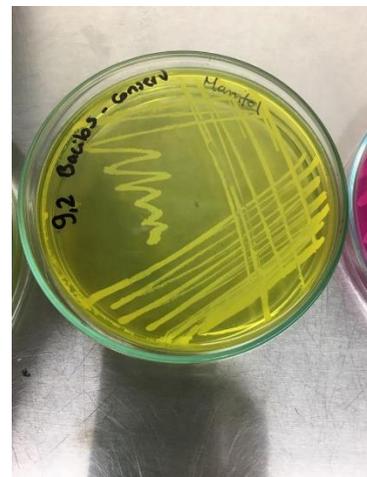


Figura 30: Crecimiento de bacilos en agar manitol.



Figura 31: Identificación de Pseudomonas.



Figura 32: Crecimiento de colonias en agar CMB.



Figura 33: Resultados de pruebas bioquímicas



Figura 34: Resultados de pruebas bioquímicas.



Figura 35: Resultados de antibiograma

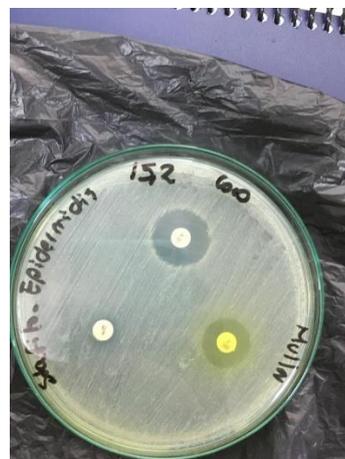


Figura 36: Resultados de antibiograma



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

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

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 22 / 09 / 2021

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

**LEONARDO
FABIO MEDINA
NUSTE**

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN): c=EC,
o=BANCO CENTRAL DEL ECUADOR,
ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
INFORMACION-ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2021.09.22 09:16:06 -05'00'



1817-DBRA-UTP-2021