



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**DESARROLLO DE *NUGGETS* DE SOYA (*Glycine max*)  
CON PULPA DE REMOLACHA (*Beta vulgaris*) PARA EL  
APROVECHAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS  
AGROINDUSTRIALES  
EXPERIMENTAL**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la  
obtención del título de  
**INGENIERA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR**  
**BANCHÓN GARCÍA KELLY MICHELLE**

**TUTORA:**  
**ING. ANA MARÍA CAMPUZANO VERA, M.Sc.**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2021**



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

Yo, **ANA MARÍA CAMPUZANO VERA**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **DESARROLLO DE NUGGETS DE SOYA (*Glycine max*) CON PULPA DE REMOLACHA (*Beta vulgaris*) PARA EL APROVECHAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS AGROINDUSTRIALES**, realizado por la estudiante **BANCHÓN GARCÍA KELLY MICHELLE**; con cédula de identidad N° **0950435545** de la carrera **INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**, Unidad Académica **Guayaquil**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

---

Ing. Ana María Campuzano Vera

Guayaquil, 23 de diciembre del 2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “**DESARROLLO DE NUGGETS DE SOYA (*Glycine max*) CON PULPA DE REMOLACHA (*Beta vulgaris*) PARA EL APROVECHAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS AGROINDUSTRIALES**”, realizado por la estudiante **BANCHÓN GARCÍA KELLY MICHELLE**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

---

Dr. Freddy Arcos Ramos  
**PRESIDENTE**

---

Dra. Tamara Borodulina  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

---

Borbor Suárez Daniel, M.Sc.  
**EXAMINADOR PRINCIPAL**

---

Campuzano Vera Ana, M.Sc.  
**EXAMINADOR SUPLENTE**

Guayaquil, 13 de enero del 2021

### **Dedicatoria**

Deseo dedicar mi trabajo a mis padres, por ser mis pilares fundamentales en cada etapa de mi vida. A mis abuelos por siempre estar para mí en cada momento y en especial a mi mami Martha porque que desde el cielo me ayuda y guía mis pasos y, por último, a mis hermanas y mi hermano por su apoyo incondicional. Los amo.

### **Agradecimiento**

Quiero agradecer mi trabajo primeramente a Dios por ser mi guía y acompañarme siempre en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis estudios.

A mis padres, por ser mi pilar fundamental y haberme apoyado incondicionalmente. A mis familiares y amigos que gracias a su apoyo moral me permitieron permanecer con empeño, dedicación y cariño, y a todos quienes me apoyaron con un granito de arena para culminar con éxito la meta deseada.

## **Autorización de Autoría Intelectual**

Yo, Banchón García Kelly Michelle, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre “Desarrollo de *nuggets* de soya (*Glycine max*) con pulpa de remolacha (*Beta vulgaris*) para el aprovechamiento de materias primas agroindustriales” para optar el título de Ingeniera Agrícola Mención Agroindustrial por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y, demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 21 de enero del 2021

**BANCHÓN GARCÍA KELLY MICHELLE**

**C.I. 0950435545**

## Índice general

PORTADA.....	1
APROBACIÓN DEL TUTOR .....	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN .....	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento .....	5
Autorización de Autoría Intelectual .....	6
Índice general .....	7
Índice de tablas .....	11
Índice de figuras.....	12
Resumen .....	14
Abstract.....	15
1. Introducción .....	17
1.1 Antecedentes del problema .....	17
1.2 Planteamiento y formulación del problema.....	17
1.2.1 Planteamiento del problema.....	17
1.2.2 Formulación del problema.....	20
1.3 Justificación de la investigación.....	20
1.4 Delimitación de la investigación.....	21
1.5 Objetivo general.....	21
1.6 Objetivos específicos .....	21
1.7 Hipótesis.....	21
2. Marco teórico.....	22
2.1 Estado del arte.....	22
2.2 Bases teóricas .....	25

2.2.1 Soya.....	25
2.2.1.1 <i>Taxonomía de la soya</i> .....	28
2.2.1.2 <i>Soya (Glycine max)</i> .....	29
2.2.1.3 <i>Caracterización nutricional de la soya</i> .....	31
2.2.1.4 <i>Definición de productos proteicos de soya</i> .....	34
2.2.2 Historia de la Remolacha.....	34
2.2.2.1 <i>Taxonomía de la remolacha</i> .....	35
2.2.2.2 <i>Remolacha (Beta vulgaris)</i> .....	36
2.2.2.3 <i>Caracterización nutricional de la remolacha</i> .....	38
2.2.3 <i>Nuggets</i> .....	40
2.2.3.1 <i>Historia de los nuggets</i> .....	41
2.2.3.2 <i>Fibra dietética como alternativa</i> .....	42
2.3 Marco legal.....	43
3. Materiales y métodos.....	45
3.1 Enfoque de la investigación.....	45
3.1.1 Tipo de investigación.....	45
3.1.2 Diseño de investigación.....	45
3.2 Metodología.....	45
3.2.1 Variables.....	45
3.2.1.1 <i>Variables independientes</i> .....	45
3.2.1.2 <i>Variables dependientes</i> .....	45
3.2.2 Tratamientos.....	45
3.2.3 Diseño experimental.....	46
3.2.4 Recolección de datos.....	47
3.2.4.1 <i>Recursos</i> .....	47

3.2.4.2 Métodos y técnicas .....	48
3.2.5 Análisis estadístico .....	54
4. Resultados.....	54
4.1 Formulación de 3 tratamientos variando los porcentajes de la soya y de la pulpa de remolacha.....	55
4.1.1 Atributo color .....	55
4.1.2 Atributo olor .....	57
4.1.3 Atributo sabor .....	58
4.1.4 Atributo textura .....	59
4.2 Evaluación de la calidad nutricional (proteína, humedad y grasas) al tratamiento de mayor aceptación sensorial.....	61
4.3 Evaluación de la calidad microbiológica (Coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i> ) al tratamiento de mayor aceptación sensorial. ....	61
5. Discusión .....	63
6. Conclusiones.....	68
7. Recomendaciones .....	69
8. Bibliografía .....	70
9. Anexos .....	78
9.1 Anexo 1. Escala hedónica .....	78
9.2 Anexo 2. Evidencias fotográficas .....	79
9.3 Anexo 3. Resultados de análisis de varianza evaluación de atributos ...	83
9.4 Anexo 4. Informe de Resultados Bromatológicos.....	85
9.5 Anexo 5. Informe de Resultados microbiológicos .....	86
9.6 Anexo 6. Método Oficial de la AOAC para la soya .....	87
9.7 Anexo 7. Norma técnica para determinación de Humedad .....	90

<b>9.8 Anexo 8. Método oficial de la AOAC para determinar grasa en alimentos.....</b>	<b>93</b>
<b>9.9 Anexos 9. Control microbiológico de los alimentos (Coliformes fecales)..</b> .....	<b>97</b>
<b>9.10 Anexo 10. Método para determinación de <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>105</b>

**Índice de tablas**

Tabla 1. Taxonomía de la soya .....	28
Tabla 2. Derivados de la soya .....	30
Tabla 3. Componentes químicos de la soya .....	32
Tabla 4. Taxonomía de la remolacha .....	36
Tabla 5. Composición química de la remolacha.....	38
Tabla 6. Tratamientos .....	46
Tabla 7. Esquema de la varianza .....	54
Tabla 8. Análisis de varianza del atributo color .....	56
Tabla 9. Análisis de varianza del atributo olor .....	57
Tabla 10. Análisis de varianza del atributo sabor .....	59
Tabla 11. Análisis de varianza del atributo textura .....	60
Tabla 12. Análisis bromatológico.....	61
Tabla 13. Análisis microbiológico .....	62

## Índice de figuras

Figura 1. Frejoles de soya .....	29
Figura 2. Granos de soya, leche de soya, tofú .....	31
Figura 3. Remolacha entera con tallo y hojas. ....	36
Figura 4. Diferentes tipos de remolacha.....	37
Figura 5. <i>Nuggets</i> de pollo original.....	40
Figura 6. Flujograma proceso de la elaboración de la pulpa de remolacha .....	48
Figura 7. Flujograma del proceso de elaboración <i>nuggets</i> de soya .....	49
Figura 8. Análisis de varianza del atributo color .....	57
Figura 9. Análisis de varianza del atributo olor.....	58
Figura 10. Análisis de varianza del atributo sabor.....	59
Figura 11. Análisis de varianza del atributo textura.....	60
Figura 12. Ficha de evaluación sensorial con escala de 4 puntos. ....	78
Figura 13. Preparación y mezcla de ingredientes para los <i>nuggets</i> .....	79
Figura 14. Codificación de los tres tratamientos.....	79
Figura 15. Empacado de los tratamientos para degustación a panelistas .....	80
Figura 16. Ejecución del análisis sensorial.....	80
Figura 17. Degustación de los <i>nuggets</i> para los panelistas .....	81
Figura 18. Degustación y evaluación de los panelistas.....	81
Figura 19. Degustación y evaluación de los panelistas.....	82
Figura 20. Degustación y evaluación de los panelistas.....	82
Figura 21. Resultados Infostat de color .....	83
Figura 22. Resultados Infostat de olor.....	83
Figura 23. Resultados Infostat de sabor.....	84
Figura 24. Resultados Infostat de textura.....	84
Figura 25. Resultados otorgados por laboratorio acreditado.....	85

Figura 26. Resultados otorgados por laboratorio acreditado.....	86
Figura 27. Técnica para determinar proteína en la soya .....	87
Figura 28. Técnica para determinar proteína en la soya .....	88
Figura 29. Técnica para determinar proteína en la soya .....	89
Figura 30. Método para determinar humedad en granos y cereales .....	90
Figura 31. Método para determinar humedad en granos y cereales .....	91
Figura 32. Método para determinar humedad en granos y cereales .....	92
Figura 33. Técnica para determinar grasas en alimentos .....	93
Figura 34. Técnica para determinar grasas en alimentos .....	94
Figura 35. Técnica para determinar grasas en alimentos .....	95
Figura 36. Técnica para determinar grasas en alimentos .....	96
Figura 37. Norma técnica para determinación de Coliforme fecales.....	97
Figura 38. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	98
Figura 39. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	99
Figura 40. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	100
Figura 41. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	101
Figura 42. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	102
Figura 43. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	103
Figura 44. Norma técnica para determinación de Coliformes fecales .....	104
Figura 45. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	105
Figura 46. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	106
Figura 47. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	107
Figura 48. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	108
Figura 49. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	109
Figura 50. Norma técnica para determinación de <i>E. coli</i> .....	110

## Resumen

La presente investigación permite desarrollar *nuggets* de soya con pulpa de remolacha para aprovechar materias primas agroindustriales, siendo un producto innovador, saludable, práctico y de fácil preparación. Este producto ofrece valores nutricionales procedentes de una hortaliza y leguminosa otorgando beneficios para la salud, ofreciendo nuevas alternativas de consumo con alimentos vegetales que ayuden a una buena digestión. La metodología utilizada en este estudio es de tipo exploratorio, para el diseño experimental se emplearon tres tratamientos variando los porcentajes de soya texturizada y pulpa de remolacha, los cuales, fueron evaluados por 30 panelistas no entrenados determinando el grado de aceptabilidad de sus características sensoriales (color, olor, sabor y textura) mediante una escala hedónica. Los resultados obtenidos mediante la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad, indicaron que el tratamiento tres (T3) (soya 17 %, pulpa de remolacha 6 %) es el mejor de acuerdo a la escala hedónica según los panelistas, teniendo en cuenta, que tres de los cuatro atributos, no presentaron diferencias significativas. Además, se realizó el análisis bromatológico al mejor tratamiento obteniendo como resultado: grasa de 2,90 %, humedad de 64,5 % y proteína de 45 %. Con respecto, al análisis microbiológico dio como resultados en Coliformes fecales <3 NMP/g y en *Escherichia coli* <10 UFC/g. Cabe destacar que no existe una norma específica para establecer parámetros a este producto. Como conclusión, el *nugget* obtenido es una fuente de proteína, bajo en grasa, alto contenido de humedad e inocuo siendo una alternativa saludable para el consumidor.

Palabras clave: innovador, *nuggets*, proteína, pulpa de remolacha, soya texturizada

### Abstract

This research allows us to develop soy nuggets with beet pulp to, on one hand take advantage of agro-industrial raw materials and on the other hand elaborate an innovative, healthy, practical and easy-to-prepare product. This product offers nutritional values from a vegetable and legume that provides health benefits and offers new consumption alternatives with plant foods to help improve digestion. The methodology used in this study is exploratory, for the experimental design three treatments were used varying the percentages of textured soy and beet pulp, which were evaluated by 30 untrained panelists. Using a hedonic scale, the degree of acceptability of their sensory characteristics (color, smell, taste and texture) was determined. The results obtained through the Tukey test at 5% probability indicated that treatment three (T3) (soybean 17%, beet pulp 6%) is the best according to the hedonic scale provided by the panelists, taking into account, that three of the four attributes did not present significant differences. In addition, the bromatological analysis of the best treatment was carried out, obtaining as a result: fat of 2.90%, humidity of 64.5% and protein of 45%. Regarding the microbiological analysis, the results were in fecal coliforms  $<3$  nmp / g and in *Escherichia coli*  $<10$  ufc / g. It should be noted that there is no specific standard to establish parameters for this product. In conclusion, the nugget obtained is a source of protein, low in fat, high in moisture content and safe, being a healthy alternative for the consumer.

Keywords: innovative, *nuggets*, protein, beet pulp, textured soybeans



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**APROBACIÓN DEL ABSTRACT**

Yo, DIANA LORENA VÁSNEZ MIRANDA, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de ENGLISH TEACHER, **CERTIFICO** que he procedido a la **REVISIÓN DEL ABSTRACT** del presente trabajo de titulación: “**DESARROLLO DE NUGGETS DE SOYA (*Glycine max*) CON PULPA DE REMOLACHA (*Beta vulgaris*) PARA EL APROVECHAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS AGROINDUSTRIALES**”, realizado por la estudiante **BANCHÓN GARCÍA KELLY MICHELLE**; con cédula de identidad **N° 0950435545** de la carrera **INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**, Unidad Académica **Guayaquil**, el mismo que cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Lic. Diana Lorena Vásquez Miranda  
dvasconez@uagraria.edu.ec

Guayaquil, 21 de enero del 2021

## **1. Introducción**

### **1.1 Antecedentes del problema**

Según Freire (2018), la soya es una fuente significativa de nutrientes su composición posee un alto contenido proteínico lo que resulta beneficioso para la salud. Además, proporciona vitaminas del grupo A, B, D, E y F; ayuda a construir tejidos musculares principales que el cuerpo no puede generar.

Salabert (2019), indica que la soya fue descubierta en China, y es considerada como parte de las semillas sagradas que fueron creadas por los dioses, junto con el trigo, el arroz, el mijo, y la cebada.

Como afirma Rodríguez (2014), en Ecuador existe una gran falta de conocimiento acerca de los contenidos nutricionales de la soya, por esa razón, el consumo no se lo realiza de forma masiva. Se debe de tener presente que la soya es una leguminosa rica en fibra dietética, proteínas vegetales e hidratos de carbono y al incorporar su consumo a una dieta diaria es un excelente aporte nutricional al cuerpo.

De acuerdo con Blasco (2018), los *nuggets* tiene similitud con la soya texturizada, esta aporta muchos beneficios como la fibra que ayuda con los problemas de estreñimiento, además mejora la absorción de calcio en los huesos, reduce el colesterol, contiene componentes anticancerígenos.

### **1.2 Planteamiento y formulación del problema**

#### **1.2.1 Planteamiento del problema**

Las industrias alimenticias para brindar mayor comodidad a los consumidores han creado nuevos alimentos listos para preparar, esta propuesta tendría la “solución” a muchos problemas que se presentan al elaborar los alimentos, por la facilidad que tiene en el producto. Sumado a ese factor existe el estilo de vida

acelerado que muchas personas tienen todos los días. Esto conlleva que el consumo de los productos tenga buena acogida en los compradores, por lo que lo promueven como un producto saludable.

Desde el inicio, los *nuggets* se introdujeron en el mercado como una pieza sólida de carne de pollo, exactamente de su pechuga, la misma que troceaban de forma triangular y empanizaban para freírla en el aceite. Actualmente, este proceso no se realiza de la misma forma, por su creciente demanda, han empleado nuevas materias primas lo que provocó la disminución de la cantidad de pollo y el incremento de aditivos que los convierte en poco saludable. Sin embargo, estos productos mantienen una textura crocante y deseable para los consumidores. De acuerdo a estudios realizados se ha comprobado que alimentos fritos son un riesgo para la salud, por su alto contenido calórico (Flores, Mejía, Cervantes, Pimentel, y Ramírez, 2020).

Por otra parte, los consumidores demandan productos alimenticios con una buena calidad y con un alto valor nutricional. Los productos cárnicos comienzan a tener un bajo consumo, por sus diversas contraindicaciones en ciertas enfermedades, es por esto que existe una inclinación al consumo de alimentos de origen vegetal rico en proteínas como son la soya, la lenteja, los garbanzos, el maní, los frejoles, etc. Debido a la difusión nutricional acerca de los alimentos en torno a la relación dieta-salud, una de las innovaciones son las sustituciones que se hacen a los productos existentes con ingredientes más nutritivos de los tradicionales.

Con todos los factores mencionados se desea crear un *nuggets* nutritivo a base de soya y pulpa de remolacha para proporcionar a los consumidores un producto que sea práctico y fácil de preparar, pero a la vez que ofrezca altos valores

nutricionales provenientes de una leguminosa y una hortaliza por lo que aportan muchos beneficios a la salud.

Más aun, la soya es una legumbre con un alto contenido en ácidos grasos y bajo en grasas saturadas, constituyendo una excelente fuente de proteínas, vitamina E, vitaminas del grupo B y minerales como el fósforo, potasio, hierro, zinc. En los últimos 20 años en países occidentales se ha popularizado este alimento. Algunos expertos lo definen como uno de los más completos que existe (Salabert, 2019).

Por otro lado, entre las hortalizas, la raíz de la remolacha es un alimento con nutrientes muy importantes, los mismos que aporta un gran beneficio a la salud. La remolacha contiene hidratos de carbono y una gran cantidad de agua, siendo una de las hortalizas más rica en fibra y azúcares, sin olvidar aporte de vitaminas del grupo B, antioxidantes, vitamina A y diversos minerales como el potasio, hierro, magnesio y manganeso. Al contener antioxidante como los flavonoides, compuestos fenólicos, potentes anticancerígenos, su consumo habitual ayuda a prevenir la aparición de cáncer. También, los minerales y las vitaminas contribuyen que diferentes órganos y estructuras del organismo tengan un buen funcionamiento y regulación como son el hígado, los huesos, páncreas, riñones y sangre (Somolinos, 2018).

En esta investigación se sustituyó la soya y la pulpa de la remolacha por la tradicional carne de pollo utilizado en los *nuggets*, con la finalidad de brindar al consumidor un nuevo producto, con muy buena calidad y con características nutricionales adecuadas como son las vitaminas hidrosolubles del grupo B, diversos nutrientes como el hierro, potasio, magnesio, los que brindan un aporte nutricional importante para la salud, de esta forma se logra satisfacer las exigencias del mercado y contar con una alternativa para la alimentación en la búsqueda de

buenas características nutricionales y sensoriales para una mejor apariencia y gusto alimenticio que sean de agrado para el consumidor.

### **1.2.2 Formulación del problema**

¿Cómo influye el desarrollo de *nuggets* de soya con pulpa de remolacha en el aprovechamiento de las materias primas agroindustriales?

### **1.3 Justificación de la investigación**

El presente trabajo contribuye con la elaboración y valoración de un producto de calidad. Además, aporta un gran valor nutricional en la dieta alimenticia de las personas por su contenido en hierro, calcio, cobre, tiamina, zinc, magnesio, ácido fólico, antioxidantes y aminoácidos esenciales. El *nuggets* de soya tiene proteína vegetal y la calidad es superior a la carne de origen animal (Chávez, 2015; Camargo, 2018).

Una de las ventajas de éste producto es su fácil digestión, al contrario de la carne roja, por su alto contenido de fibra ayuda a mejorar las evacuaciones y por lo tanto prevenir el estreñimiento, además, reduce el colesterol y mejora la absorción del calcio en los huesos.

Este proyecto se enfoca en ofrecer una nuevas alternativas de consumo de alimento vegetales como la soya y remolacha, en el desarrollo de un nuevo producto como es el *nuggets* de soya con la pulpa de remolacha; con una evaluación bromatológica y microbiológica se confirmarán los beneficios nutricionales y la seguridad para el consumo de éste nuevo producto, orientado para todo tipo de personas, especialmente para las que sufren de diversas enfermedades, y que desean mejorar el estilo de vida mediante una dieta saludable.

El uso de la remolacha en la elaboración del *nuggets*, se debe por dos razones: la primera aprovechar los nutrientes y moléculas beneficiosas; y la segunda para

utilizar la pigmentación roja para dar la apariencia de un *nuggets* tradicional a la soya texturizada, haciendo que los consumidores de carnes rojas, tengan nuevas alternativas de alimentación más saludable.

#### 1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** La presente investigación fue desarrollada en el sur de Guayaquil (16 y Domingo Sabio)
- **Tiempo:** El tiempo de duración fue de 6 meses.
- **Población:** Fue dirigido al público en general.

#### 1.5 Objetivo general

Desarrollar *nuggets* de soya (*Glycine max*) con pulpa de remolacha (*Beta vulgaris*) para el aprovechamiento de materias primas agroindustriales.

#### 1.6 Objetivos específicos

- ✓ Formular 3 tratamientos variando los porcentajes de la soya y de la pulpa de remolacha.
- ✓ Evaluar la calidad nutricional (proteína, humedad y grasas) al tratamiento de mayor aceptación sensorial.
- ✓ Evaluar la calidad microbiológica (Coliformes fecales y *Escherichia coli*) al tratamiento de mayor aceptación sensorial.

#### 1.7 Hipótesis

Una de las formulaciones tendrá mejor aceptación de acuerdo a sus características sensoriales y físico-químicas en los tratamientos desarrollados.

## 2. Marco teórico

### 2.1 Estado del arte

Mourin, Biswas, y Islam (2018), analizaron el efecto de la inclusión de carne de soya en los *nuggets* de carne y su efecto acerca de las cualidades físicas, la composición sensorial y nutricional, ejecutada en cinco tratamientos, dando como resultado que la incorporación de la carne de soya disminuyó la proteína cruda, la humedad y la pérdida de cocción, aroma, pero hubo un aumento de rendimiento en carbohidratos. Mientras que la textura y la apariencia mostró una puntuación más alta, teniendo en cuenta que el costo de producción se redujo. Cabe destacar que resultó más aceptable los *nuggets* con carne de soya al 100 %.

Otro trabajo de investigación realizado fue de Andrade (2014), elaboró *nuggets* a base de carne de camarón realizando comparaciones con tres niveles de proteína de camarón (fórmula A 6 %, fórmula B 10 %, fórmula C 14 %), de acuerdo a los resultados de la encuesta efectuada, la fórmula con mejor aceptación fue la Fórmula A, con una miga gruesa para poder alcanzar el nivel de crocancia aceptable y una vida útil es de 45 días en congelación. Además, cabe indicar que al realizar cambios en la formulación las características organolépticas se alteran de forma considerable.

Un estudio realizado por Polizer, Pompeu, Hirano, De Alvarenga Freire, y Trinidad (2015), fue de desarrollar y evaluar la formulación de un *nuggets* de pollo con una sustitución parcial de la grasa o carne por fibra de guisantes. En el cual se desarrollaron tres formulaciones teniendo como resultado en la prueba de textura ninguna diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) entre los tratamientos de cohesión y elasticidad. En la prueba de aceptación sensorial los panelistas no detectaron la diferencia. Se concluye que, si existe posibilidad de reemplazar en forma parcial la

grasa y la carne por fibra de un guisante en los *nuggets* de pollo, sin cambiar la mayoría de las características fisicoquímicas y sin afectar la aceptación sensorial.

En la investigación presentada por Parra (2015), se realizó la encapsulación del colorante de la remolacha y determinó su efecto en el yogur. Para este ensayo se utilizó el colorante extraído de la remolacha, realizando dos tratamientos, (T1 0,6 % de cápsulas con colorante en 2 % de alginato de sodio, T2 no se le añadió cápsula) a cada tratamiento se evaluó el pH, sinéresis, bacterias lácticas, acidez y un monitoreo visual por 9 días, dando como resultado que la cápsula liberó el colorante de forma gradual, el mismo que fue utilizado como fuente de energía por las bacterias lácticas, disminuyendo los valores del pH, aumentando la acidez.

Otro estudio realizado por Garzón (2016), donde elaboró *nuggets* con zumos de vegetales como el perejil, acelga y espinaca, realizando seis diferentes formulaciones para determinar aquella con mayor grado de aceptabilidad, obteniendo el T2 con un 20 % de zumo de acelga y T4 el 20 % zumo de espinaca una mejor tolerancia, a estos tratamientos se le efectuaron un análisis de hierro y calcio, logrando el T4 un valor más alto en hierro, aunque el T2 reveló un contenido mayor de calcio, pero, la concentración de calcio no afecta la absorción del hierro, por esa razón, decidió desarrollar estudios microbiológicos y de proteínas totales al T4, los mismos que cumplieron con los parámetros estipulados por la norma INEN 1338-3. Por lo tanto, el T4 al poseer un incremento de contenido de hierro sobre 5 ppm es calificado como una buena fuente de hierro.

Asimismo, Ipiales (2018), efectuó un estudio para elaborar un *nuggets* vegetal con champiñón blanco y avena, considerando ocho tratamientos y un tratamiento testigo (*nugget* de pollo) donde evaluó pH, textura, humedad a una masa inicial y al producto final, grasa, proteína, humedad, carbohidrato y cenizas, asimismo hizo

un análisis sensorial y microbiológico. De acuerdo a los resultados el tratamiento que obtuvo una similitud al *nuggets* de carne de pollo en relación al pH, textura y humedad, fue el de 75 % de champiñón blanco y 25 % de avena. Al mismo tiempo identificó un alto contenido de grasas, cenizas, proteína, fibra con un menor contenido de carbohidratos totales y humedad en los *nuggets* comerciales, pero en los *nuggets* vegetales se presentó lo contrario. En la evaluación sensorial, en el atributo del sabor por parte de los panelista, tuvo mejor aceptabilidad el T1 compuesto por champiñón blanco 90 % y hojuela de avena 10 %. Como conclusión obtuvo que los *nuggets* vegetales es una buena alternativa de consumo por su excelente aporte nutricional, bajo en grasa y de fácil preparación.

De igual manera, Dávalo (2016), realizó el desarrollo de *nuggets* de bonito (*Sarda chiliensis chiliensis*) bajo en calorías con chía (*Salvia hispánica*) como antioxidante, realizando tres tratamientos y en cada uno de ellos determinó varios parámetros. El primero fue el reemplazo de la leche en polvo por grasa, sin perder las características sensoriales en los *nuggets*, realizando cuatro tratamientos (T1 2%, T2 4%, T3 6% y T4 8%). De acuerdo a los resultados del análisis químico proximal y sensorial, la mejor formulación fue con aquella con 4% de grasa en forma de margarina. Con el segundo experimento, probó el uso de la semilla de chía aportando un valor nutricional evitando el enranciamiento de los *nuggets* de bonito, efectuando tres distintas adiciones de chía, mediante 40 panelista estableció una escala hedónica teniendo como resultado que no existe diferencia en el sabor. Por último, determinó la vida útil, empleando la técnica de pruebas aceleradas de temperaturas, como efecto, la conservación debe ser a -18°C, con un máximo de 36 días de almacenamiento. En conclusión, mediante un análisis organoléptico los *nuggets* de bonito con semillas de chía son de buena calidad; son bajos en grasa,

con una humedad adecuada, estableciendo por medio de un análisis químico y microbiológico el cumplimiento con los estándares establecidos en la norma sanitaria.

Por último, Caiza (2017), realizó un análisis donde evaluó el aprovechamiento de las propiedades nutricionales de la remolacha (*Beta vulgaris*), para elaborar un alimento enfocado a los niños, obteniendo un alimento tipo gomita a partir de la deshidratación de la remolacha variedad Boro F1. En la que se evaluaron dos factores, la remolacha deshidratada (polvo) como el factor A y el factor B la grenetina con diferentes porcentajes, lo que influyó de manera directa en su color, además procedió a efectuar la prueba de Tukey. En la investigación se efectuó una valoración de humedad mediante el método tradicional de la termobalanza. Además, evaluó un análisis sensorial (olor, color, textura y sabor) usando una escala de aceptabilidad de 5 puntos con 12 niños de la Unidad Educativa “Santa Rosa”, en el cual se obtuvo que el tratamiento A1B1 (60% remolacha + 40% grenetina) fue el mejor con una puntuación de 4,5. También, realizó un análisis bromatológico para destacar el contenido de hierro y proteína y determinó el costo beneficio del producto final.

## **2.2 Bases teóricas**

### **2.2.1 Soya**

Según la tradición asiática, la soya se origina de un vocablo chino Sou, lo que significa cientos de años atrás. Fue descubierta por el emperador chino Sheng-Nung, el mismo que era dueño de grandes cultivos de esta leguminosa, además trabajaba arduamente para el descubrimiento de las propiedades alimenticias y medicinales (Torres y Tovar, 2017).

El cultivo de este fréjol se concentraba en el noroeste de China. Según la tradición, los budistas fueron los que introdujeron la soya en Japón en el siglo VII. Para el siglo XVII se popularizó el comercio marítimo llevando la soya a otros países y continentes. A inicios del siglo XIX, en Estados Unidos, la soya empezó a cultivarse, su introducción estuvo ligada al movimiento hippie, en forma especial a la atención de la dieta macrobiótica japonesa. En la década de 1920 se demostró que la proteína de la soya se podría utilizar en la elaboración de quesos y por ende la fabricación de la leche de origen vegetal (INIAP, 2015).

Por otra parte, su origen fue en oriente asiático es decir en China y su domesticación se inició en los años 1700 hasta 1100 antes de Cristo, luego se propagó a otros países de Asia (Valencia, 2016).

Sin embargo, en muchos países occidentales con tradiciones culinarias basadas en la proteína animal se imponían a la cocina cotidiana en el uso de la soya, el consumo de su afrecho y sus derivados. Es a partir de ese momento que se empezó a utilizar la harina de soya como fuente de proteína. De tal forma que durante las guerras mundiales se empleó esta alternativa para compensar la escasez de la carne.

El cultivo de la soya a gran escala se inició en los años 20 desde ese momento su cultivo continuó a nivel mundial. La soya es una fuente de proteínas y aceites esenciales, su uso es extenso, sirve como alimento a las personas como a los animales, las aplicaciones industriales también cumple un papel importante en la actualidad (Escamilla, 2015).

En 1973, cuando se establece el gobierno nacional de Ecuador, el cultivo de soya se volvió muy importante se implementaron proyectos de promoción de oleaginosas a corto plazo donde se incluía a esta oleaginosa, en el cual, se

utilizaron créditos financieros otorgado por el Banco Nacional, y en la actualidad la siembra se ha expandido rápidamente y se estima que supera las 30.000 Hectáreas (Medlineplus, 2020).

Según Vergara, Orellana, Vizueta, Mata, Bernal, San Andrés, (2016), la soya es un cultivo que cada día cobra más importancia en el país porque se puede utilizarse para producir alimentos equilibrados para aves y cerdos; y productos de la alimentación humana, como carne, leche, queso de soya. Además, su especie es considerada muy nutritiva por su alto contenido de aceite y proteína.

La mayor área productora de soya en el país se encuentra en la provincia de Los Ríos con el 95% del total sembrada en la Cuenca Alta del Río Guayas en, Mocache y Valencia, así como también la Cuenca Baja del Río Guayas que incluye a los cantones Ventanas, Urdaneta, Pueblo Viejo, Vinces, Babahoyo y Montalvo. La soya se cultiva en la provincia de Los Ríos, incluidas 45.000 hectáreas de soya. El producto representa el 96% de la producción nacional, la producción promedio es de 1,72 toneladas por hectárea.

La investigación científica muestra que la soya en la dieta puede reducir los niveles de colesterol. La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) coincide que 25 gramos de proteína de soya por día pueden reducir cardiopatías.

El frejol soya es una oleaginosa de demanda internacional cuyo potencial no está siendo apreciado en Ecuador, teniendo escenarios excelentes y adecuados para su producción según el informe de características y rendimientos de soya (Vergara, Orellana, Vizueta, Mata, Bernal, y San Andrés, 2016).

### 2.2.1.1 Taxonomía de la soya

La soya pertenece al grupo de las leguminosas como son los frejoles, judías, haba, estas se forman dentro de una vaina. De esta se obtiene de una a cuatro frejoles de tamaño pequeño. La vaina puede ser de diversos colores como marrones, amarillas, verdes moteadas o negras (Escamilla, 2015).

**Tabla 1. Taxonomía de la soya**

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Fabales
<b>Familia</b>	<i>Fabaceae</i> (Leguminosa)
<b>Sub-Familia</b>	<i>Faboideae</i>
<b>Género</b>	<i>Glycine</i>
<b>Especie</b>	<i>G. max</i>

Descripción de la taxonomía de la soya  
Valencia, 2016

El autor Espinoza (2015), proporciona las siguientes descripciones morfológicas de la soya:

- **Planta:** herbácea anual, de primavera y verano, cuyo ciclo vegetativo oscila de 3 a 7 meses y de cuarenta a cien cm de envergadura. Los talluelos, hojuelas y las vainas son púber, lo que hace que renueve el color de los pelos de dorado a plomizo casi grisáceo.
- **Tallo:** este es rígido y erecto, adquiere diferentes alturas que van desde 0.4 a 1.5 metros, según diversidades y situaciones de siembra. Suele ser bifurcado, tiene propensión a encamarse, no obstante estas variedades son resistentes al giro.
- **Sistema radicular:** Este sistema es muy resistente, en lo que es la raíz alcanza hasta un metro de profundidad, aunque por lo general sobrepasa los cuarenta y cincuenta centímetros.

- Hojas: Pueden cambiar fácilmente, compuestas, excepto las basales, que son peladas. Son trifoliadas, con los folíolos oval-lanceolados. Son de color verde que se tornan amarillas en la madurez, permaneciendo las plantas sin hojas.
- Flores: Se hallan en retoños racemosas sobacales que pueden variar, son amariposadas y de color blancuzco o morado, dependiendo la diversidad.
- Fruto: Es dehiscente por una y otras suturas. La longitud de la vaina es de 2 a 7 centímetros. Por lo general cada fruto está constituido por 2 o 3 semillas.
- Semilla: La semilla generalmente es redonda, de la dimensión de un guisante y de tono amarillo. Ciertas variedades presentan una sombra de color negra que pertenece al ciclo de la semilla. Su volumen es mediano, es decir, cien semillas mantienen un peso de cinco a cuarenta gramos, aunque en las diversidades comerciales van de diez a veinte gramos.

#### **2.2.1.2 Soya (*Glycine max*)**

La soya cuyo nombre científico es *Glycine max*, de familia de la *Papilionáceas* (Fabáceas), es una legumbre de ciclo anual, su altura alcanza entre 0.50 y 1.5 metros de altura (Ridner, 2015).



Figura 1. Frejoles de soya  
Ramírez, 2018

La soya es una leguminosa que tiene un grado significativo en el sector económico del Ecuador, a nivel mundial se considera una composición nutricional estratégica que se destaca por su alto contenido proteico (38 – 42 %) y su concentración de aceites (18 – 22 %). El cultivo de este cereal es de gran importancia para el sector industrial en la elaboración de balaceados para la alimentación animal y la producción de aceites esenciales (INIAP , 2014).

La soya representan grandes beneficios para la salud. Este grano puede ser sembrado en semillas o germinada y producir diversos subproductos, tales como: Leche de soya, tofu, salsa de soya, aceite de soya, dulces. El tofu, es un alimento muy ligero y recomendado para humanos, no contienen colesterol, ni grasas saturadas, es rico en lecitina. Además, sirve para fabricación de aceite de soya, un fosfolípido vital para las membranas de las células cerebrales del sistema nervioso.

Según Blasco (2018), menciona que la soya tiene varios derivados cada una aporta diferentes porcentajes:

**Tabla 2. Derivados de la soya**

<b>Derivados de la soya</b>	<b>Porcentaje</b>
Soya texturizada	53 %
Harina de soya	37 %
Brotos germinados	36 %
Miso	34 %
Tempeh	19 %
Tofu	7 %
Bebida o leche de soya	3.5 %
Postres de soya	3.5 %

Subproductos de la soya  
Blasco, 2018

De acuerdo con los datos de la Coordinación General de Sistemas de información Nacional del Ministerio de Agricultura, en Ecuador la semilla de la soya

se cultiva en la provincia de Los Ríos como en los cantones Vinces, Baba, Pueblo Viejo y Ventanas; y en Guayas (Milagro y Urbinajado) (MAGAP, 2016).



Figura 2. Granos de soya, leche de soya, tofú  
Salabert, 2019

### ***2.2.1.3 Caracterización nutricional de la soya***

El consumo de productos de soya en todo el mundo está en aumento. La soya tiene una posición activa en el mercado de alimentos, aunque la mayor parte de productos se realiza a mano, ya existen algunas empresas en Ecuador introduciendo este producto de forma industrial.

La industria alimentaria se ha propuesto desarrollar nuevos productos con beneficios a la salud, alimentos que aportan nutrientes importantes o cualquier suplemento que permita cubrir el requerimiento diario en las personas de toda edad y sexo, debido a que en ocasiones es difícil proporcionar en forma natural por los hábitos y costumbres nutritivas de cada región o en cada población son diferentes.

Para proporcionar un desarrollo saludable, la alimentación debe ser balanceada y contener: lípidos, proteínas, carbohidratos, minerales, suficientes calorías y vitaminas. En este sentido, la soya es un vegetal que contiene la proteína más completa, porque cuenta con todos los aminoácidos que el organismo no puede

sintetizar, además es muy recomendada por sus principios digestibles y aporta un adecuado equilibrio en la dieta (Valencia, 2016).

La soya es considerada como un alimento que muestran formas muy variadas para su consumo, de manera apetitosa, saludable y deseable en las comidas, también, en bebidas para calmar la sed (De la Torre, 2016).

**Tabla 3. Componentes químicos de la soya**

<b>Composición</b>	
Calorías	370.2 g
Proteínas	35.9 g
Grasas	18.6 g
Hidratos de carbono	15.8 g
Fibra	15.7 g
Hierro	9.7 mg
Zinc	4.3 mg
Potasio	1730 mg
Calcio	240 mg
Vitamina B <sub>1</sub>	0.61 mg
Folatos	370 mg

Aporte nutricional por cada 100 g  
Escamilla, 2015

### **2.2.1.3.1 Aminoácidos**

Los aminoácidos que contiene la soya son asimilables y casi completos como la carne. Su valor proteico es de 33 % y su Utilización Neta de Proteína (UNP) es de 63 en forma de fréjol y como tofú es de 65, esto la coloca con un nivel proteínico alto. Por ejemplo, la carne de ave y de res contienen un UNP de 67 (De Luna, 2016).

El fréjol de la soya se lo utiliza sin cáscara en forma de harina, teniendo un valor alimenticio alto comparado con otras harinas. Con la harina de soya se puede preparar panes, galletas. Además, se lo puede utilizar como un sustituto de la leche en polvo, teniendo un valor proteico de 36.7 %. La leguminosa contiene un buen balance de aminoácidos, en comparación con otros vegetales, entre estos se tiene la lisina (1900 mg), prolina (1820 mg), alanina (1530 mg), ácido aspártico (3990

mg), ácido glutámico (6490 mg), los indicados para los valores que corresponden a 100 gramos de soya (Valencia y Garzón, 2014).

Los nutricionistas abordan el concepto de "aminoácidos esenciales" y "aminoácidos restrictivos". Los aminoácidos esenciales en el cuerpo humano no son sintetizados y deben ser ingeridos en los alimentos. Los aminoácidos restringidos son aminoácidos esenciales que hasta cierto punto se encuentra en las proteínas.

#### **2.2.1.3.2 Ácidos grasos esenciales**

Los ácidos grasos esenciales proporcionan las calorías que necesita el organismo para que las proteínas ingeridas en las dietas sean metabolizadas y sintetizar nuevos tejidos. La soya contiene aceite en un 21 %, siendo de alta digestibilidad y rico en ácidos grasos poliinsaturados con un 86 % (linoleico 54 %, linoleico 8 %, oleico 24 %) y ácidos grasos saturados en un 13 % (esteárico 4 % y palmítico 9 %). El ácido linoleico es alto y muy importante por tener un aporte esencial al organismo, por eso, el aceite de soya es considerado por muchos médicos como de alta calidad en comparación con aceites comestibles y otras grasas (Valencia y Garzón, 2014).

#### **2.2.1.3.3 Las isoflavonas**

Son sustancias vegetales conocidas también como fito estrógenos, ayudan a equilibrar un cambio hormonal de la mujer en cualquier etapa de su vida como son la fertilidad, la menstruación y la menopausia. En esta última etapa es cuando los niveles de estrógenos ocasionan fatiga, sudores nocturnos, dolores de cabeza, alteraciones de ánimo, sequedad vaginal y la disminución de la libido, además ayudan a prevenir la osteoporosis. Algunos estudios evidenciaron que el consumo de 40 g de proteína de soya al día por seis meses, puede incrementar de forma

considerable la densidad mineral ósea vertebral en las mujeres posmenopáusicas. También son antioxidantes que protegen del cáncer de mama y de las enfermedades del corazón. Según las estadísticas de los países asiáticos donde la soya es parte de su dieta diaria, estas enfermedades son casi inexistentes (De Luna, 2016).

A pesar que las isoflavonas se logran localizar también en otros vegetales que constituyen parte de la dieta humana, la soya es uno de los alimentos con mayor contenido del mismo (Martín y López, 2017).

#### ***2.2.1.4 Definición de productos proteicos de soya***

Son productos alimenticios obtenidos de la soya mediante la reducción o eliminación de algunos de los principales constituyentes no proteínicos (agua, aceite, almidón y otros carbohidratos) de forma que se obtiene un contenido proteínico (INEN , 2013).

#### **2.2.2 Historia de la Remolacha**

Durante las primeras civilizaciones, de la remolacha sólo se consumían sus hojas. La raíz se utilizaba como medicamento para combatir dolores de cabeza y de muelas. Los romanos consumían la raíz, pero la incorporaron a su dieta en el siglo XVI los alemanes e ingleses. A lo largo de los años el cultivo de la remolacha común fue creciendo. En la actualidad, el consumo de esta hortaliza está difundido por todos los países que tienen un clima templado, en especial Italia y Francia, que son sus principales productores (Chávez, 2015).

La remolacha por sus ricos nutrientes, se puede consumir en ensaladas o jugos, propiedades beneficiosas para la salud humana, pero aún no son utilizadas en la industria ecuatoriana. Por tanto, a partir de la investigación de su composición se

ha identificado la presencia de betalaínas, que se pueden utilizar en el sector agroalimentario, cosmético, medicinal y textil.

La remolacha es una verdura nutritiva, porque contiene mucha fibra, vitamina C, magnesio y ácido fólico. Por otro lado, según algunos estudios, la remolacha ha mostrado efectos sinérgicos y ayuda a mejorar la salud física y sexual.

Debido a su falta de grasa y una gran cantidad de fibra dietética, la remolacha contribuye a una buena función intestinal y reduce el colesterol en sangre. En lo que respecta, al magnesio ayuda al funcionamiento normal de los nervios y músculos, lo que indirectamente puede ayudar a perder peso (Corral, 2020).

En Ecuador, en las provincias de Pichincha y Tungurahua se suele cultivar la remolacha, el cual se caracteriza por tener raíces comerciales esféricas y redondas, el color va del rojo oscuro al morado, y el sabor es muy dulce, con un diámetro de 6 a 9 cm. Las hojas son de longitud media, de unos 30 cm incluidos el pecíolo. Puede comenzar a cosechar sesenta días después de la eclosión. Es apto para consumo. También, existe la remolacha denominada boro f1 de mesa de excelente color externo e interno, tiene una frondosidad exuberante de color verde opaco y muy saludable, es muy uniforme a la cosecha. Es recomendable para la siembra durante todo un año. Su ciclo es entre 75 a 80 días, el color es verde oscuro con forma globosa o redonda, tiene un sabor dulce (Caiza, 2017).

### **2.2.2.1 Taxonomía de la remolacha**

La remolacha es un alimento apreciado por sus características organolépticas y sus diversos usos. Es una planta que pertenece a la familia *Amaranthaceae* de tipo anual, la misma que era cultivada y utilizada como vinagre en el proceso de vinificación en la edad media, por su sabor dulce. En la actualidad se cultiva por

sus hojas, raíces, semillas, las cuales se usan con fines forrajeros, azucareros y para el consumo humano (Fuentes et al., 2018).

**Tabla 4. Taxonomía de la remolacha**

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Caryophyllales
<b>Familia</b>	<i>Amaranthaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Chenopodioideae</i>
<b>Género</b>	<i>Beta</i>
<b>Especie</b>	<i>B. vulgaris</i>

Descripción de la taxonomía de la remolacha (*Beta vulgaris*)  
Torrenegra, Villalobos, Castellar, León, y Granados, 2016

#### **2.2.2.2 Remolacha (*Beta vulgaris*)**

La remolacha es una especie de planta herbácea del género beta en la familia *amaranthaceae* cuyo nombre científico es *Beta vulgaris*, también conocida en diversos países como betarraga, acelga blanca, beterrada, betabel, betarava, beteraba (Somolinos, 2018).



Figura 3. Remolacha entera con tallo y hojas.  
Somolinos, 2018

El órgano más consumido de la remolacha es la raíz espesa, que generalmente se prepara como ensalada y en jugos, tienen un sabor similar a la acelga y espinaca, en la actualidad se continúa consumiendo en Francia e Italia. A partir del

siglo XIX se dejó de consumir este producto como alimento y se destinó principalmente para producir azúcar o extracción de alcohol.

La remolacha tiene una raíz grande, profunda, carnosa, casi esférica de forma globosa. Su diámetro es de 5 a 10 cm, puede pesar entre 80 y 200 g, su color varía de anaranjado a rojizo hasta marrón y desde rosácea a violáceo. Su sabor es dulce por ser una raíz que acumula gran cantidad de azúcares (Casierra y Pinto, 2015).

De acuerdo con lo que menciona Somolinos (2018), la remolacha es una hortaliza de color rojizo, este alimento se lo puede llegar a consumir todo, inclusive las hojas, las cuales se pueden consumir crudas o cocinadas. Existen tres tipos de remolacha que se nombran a continuación:

- Remolacha común (*Beta vulgaris*), es la que se puede consumir como hortalizas.
- Remolacha azucarera (*Beta vulgaris L. var. altissima*), que se la predestina para la industria azucarera, y es de un color blanquecina.
- Remolacha forrajera (*Beta vulgaris Mangelwurzel*), se la destina como alimento del ganado.



Figura 4. Diferentes tipos de remolacha  
Somolinos, 2018

En las provincias de Pichincha y Tungurahua se suele cultivar el Detroit Dark Red se caracteriza por tener la raíz comercial globosa y redonda, de color rojo oscuro a morado, de sabor muy dulce y diámetro de seis a nueve centímetros. Las hojas son de longitud mediana unos treinta centímetros incluyendo el pecíolo. Se puede empezar a cosechar a partir de los sesenta días de la nascencia. Es excelente tanto para consumo fresco como para enlatar.

### **2.2.2.3 Caracterización nutricional de la remolacha**

La remolacha es un alimento de origen vegetal, esta hortaliza brinda muchos beneficios por el alto contenido de nutrientes y propiedades medicinales. Es ideal para purificar la sangre, es rica en hierro por lo que ayuda a incrementar la producción de anticuerpo que combaten las enfermedades (Pamplona, 2015).

**Tabla 5. Composición química de la remolacha**

<b>Compuesto</b>	
Calorías	43
Agua	87.58 g
Carbohidratos	9.56 g
Grasas	0.17 g
Proteínas	1.61 g
Fibra	2.8 g
Calcio	16 mg
Potasio	325 mg
Fósforo	40 mg
Sodio	78 mg
Hierro	0.80 mg
Tiamina	0.031 mg
Riboflavina	0.040 mg
Niacina	0.334 mg
Ácido ascórbico	4.9 mg

Valores nutricionales de cada 100 g  
Ramos, 2020

La industria alimentaria ha comenzado a desarrollar nuevos productos, con beneficios para la salud, alimentos que aportan nutrientes importantes o permita

que cualquier suplemento satisfaga las necesidades diarias a personas de todas las edades y géneros (Caiza, 2017).

La remolacha es una buena fuente de vitamina C, ácido fólico y potasio, además con una cantidad apreciable de fósforo, aporta pocas calorías. También, se encuentra en esta hortaliza vitaminas como son B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>6</sub>, minerales como el yodo y el hierro, estos nutrientes se asimilan de una mejor forma cuando la remolacha se toma como jugo o pulpa (Martínez , Lee, Chaparro y Páramo, 2013).

La beterraba o remolacha posee un gran valor nutricional a diferencia que otras hortalizas, está compuesta por 65.7 % de agua, el 1.4 % de proteínas, entre 4% a 8% de carbohidrato, el 1 % de fibra soluble, el 0.4 % de grasas, además de compuesto bioactivos (antioxidantes, antocianinas, polifenoles) y minerales como fósforo, potasio, calcio. Sin embargo, debido a muchos factores como su cultivo, la variedad botánica, el medio ambiente, la concentración de estos elementos no es homogénea (Fuentes, 2018).

Por otra parte, existen las hojas de la remolacha en las que predomina la vitamina B<sub>6</sub>, vitaminas A y C, hierro, calcio, cobre, fósforo, zinc, fibra, potasio, magnesio, manganeso y proteínas. Además, el mineral predominante en las hojas de esta planta es el hierro teniendo más porcentaje que las espinacas, brindando beneficios en muchos aspectos como el fortalecer el sistema inmunológico porque estimula glóbulos blancos y los anticuerpos, previene la osteoporosis aumentando la resistencia ósea, también, previene y combate el Alzheimer. Su forma de consumo puede ser en jugos o ensaladas (Somolinos, 2018).

### 2.2.3 *Nuggets*

Los *nuggets* son alimentos que siempre han tenido gran aceptación por parte de todas las edades de los compradores, por esa razón, en la actualidad gran parte de la población piensa que estos son nutritivos (Dávalos Cuno, 2016).

Los *nuggets* son productos reestructurados y empanizados, son una alternativa de consumo a la carne de pollo, la cual es aceptada por los consumidores. La materia prima de los *nuggets* son los cortes de carne del pollo, la misma que es molida mediante un proceso mecánico, continuando con la mezcla de ingredientes adicionales. Esta carne se amasa y se empana para después freír u hornear y finalmente se congela rápidamente (Schuch, Da Silva, Kalschne, Silva, Corso, Canan, 2019).



Figura 5. *Nuggets* de pollo original.  
Martínez, Lee, Chaparro, y Páramo, 2013

Los *nuggets* de pollo se originaron de la carne de pechuga del ave, originalmente estaba elaborada en trozos y rebozada en harina, pan rallado y huevo. El pan rallado se lo ponía en doble capa para proporcionar una textura crujiente, siendo esta la receta original. Después tuvo diversas modificaciones como agregar otros ingredientes como la cebolla picada, yema de huevo, pan rallado como las hamburguesas y albóndigas. Al hablar de los *nuggets* industrializados se les adicionan potenciadores de sabor, conservantes y en la mezcla se le incorpora la

piel del pollo. Varias fuentes mencionan que el contenido de los *nuggets* industrializados solamente el 50% de todo el producto es carne de pollo (Pintor, 2015).

De manera industrial, la preparación del *nuggets* de ave doméstica conocida como pollo se inicia con el molido de la pechuga y el cuero, consecutivamente se agregan los aumentados, ya previamente determinados y combinados antes de ser unidos a la masa de pollo (Panduro, 2015).

El *nuggets* comercial es producido de una manera eficaz por ende ser capaz de conservar la cobertura completa de envuelto a pesar de las desiguales diversificaciones entre los diferentes fragmentos de equipo y durante el enfriamiento ya que gran parte de estos productos se ofrecen congelado. También, deben soportar resistencias de envío donde la vibración puede arrancar los recubrimientos mal adheridos (Garzón, 2016).

### **2.2.3.1 Historia de los nuggets**

Se menciona que, en los años 50, el *nuggets* de pollo fue inventado por un profesor de la Universidad Cornell, Robert C. Baker experto en tecnología de alimentos, este docente publicó su trabajo académico, pero no lo patentó. A inicios de los años 1979 a 1980 la empresa McDonald's lanzó al mercado los famosos *McNuggets*, debido a esta comercialización muchas personas creyeron que esta empresa dio origen a los *nuggets*. En la época medieval el plato tradicional de los escoceses fue el pollo frito, tiempo después emigraron a Estados Unidos trayendo sus costumbres, convirtiéndose como el alimento básico de la población, además, gracias a los condimentos y especias que esclavos afroamericanos agregaban a este plato, el sabor fue ganando prestigio. A medida que el tiempo ha pasado el incremento de cadenas de restaurantes de comidas rápidas ha hecho popular al

pollo empanado y frito, este plato es accesible a toda la población por ser una proteína barata (Pintor, 2015).

Los *nuggets* siendo productos ampliamente aceptados por los consumidores. El enriquecer este tipo de empanizados con la soya como producto nutritivo, es una idea que surgió precisamente por todas las necesidades que presenta la población hoy en día.

### **2.2.3.2 Fibra dietética como alternativa**

La fibra dietética en productos cárnicos es una alternativa para sustituir las grasas, por lo que aumenta la capacidad de retener el agua y no compromete la textura, de esta forma los costos se reducen teniendo resultados positivos. Al incluir fibras dietéticas como parte de los ingredientes en productos cárnicos, se ha considerado reemplazar de forma parcial a la carne por sus efectos nutricionales y funcionales. Las características de una fibra dietética son una buena proporción en las fibras insolubles y solubles, una alta concentración y propiedades sensoriales suaves. Además de los efectos favorables para la salud humana, siendo este aspecto de mayor importancia para sus consumidores. En las industrias para tomar la decisión del cambio de algún componente debe de representar bajos costos, tener disponibilidad del producto y asequibilidad, además que en diversos estudios se han combinado y analizado varios tipos de fibra con otros ingredientes en la elaboración de productos cárnicos bajos en grasas. Dentro de las principales fibras que se pueden utilizar en productos cárnicos se encuentra la de remolacha, avena, naranja, trigo, guisantes (alverjitas). De acuerdo a los datos científicos acerca de la adición de fibras dietéticas, se puede reemplazar con el almidón y la proteína de la soya (Polizer, 2015).

## **2.3 Marco legal**

El *nuggets* de soya con pulpa de remolacha es un producto nuevo y no tiene una norma sanitaria específica que avale su elaboración, es por esta razón, se relaciona con un artículo de la Constitución de la República del Ecuador (2010).

### **Capítulo segundo**

#### **Derechos del buen vivir**

##### **Sección primera**

##### **Agua y alimentación**

**Art 13.-** Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales.

El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria.

Según el artículo 25 de la Declaración Universal de Derechos Humanos Toda persona tiene derecho a disfrutar de un nivel de vida adecuado que garantice la salud y el bienestar de su familia, especialmente la alimentación (Unidos Por Los Derechos Humanos , 2020).

Según el Reglamento de Registro y Control Sanitario de Alimentos (2013) junto con la Agencia Nacional de Regulaciones, Control y Vigilancia Sanitaria indica en sus:

**Art. 2.-** Los alimentos procesados y aditivos alimentarios, en adelante “productos alimenticios”, que se expendan directamente al consumidor en envases definidos y bajo una marca de fábrica o nombres y designaciones determinadas, deberán obtener el Registro Sanitario, mismo que será expedido conforme a lo establecido en el presente reglamento.

Art. 4.- El Registro Sanitario para productos alimenticios, se obtendrá sobre la base del informe técnico favorable del análisis de la documentación técnica y legal presentada a la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria – ARCSA, mediante uno de los siguientes procedimientos:

- Registro Sanitario por producto
- Registro Sanitario por homologación para productos alimenticios extranjeros
- Registro Sanitario por línea de producción con Certificado de Operaciones sobre la base de Buenas Prácticas de Manufactura, certificado por la Autoridad Sanitaria Nacional (productos alimenticios nacionales).

Art. 8.- Es responsable de los fabricantes de productos alimenticios nacionales y extranjeros a nivel nacional, cumplir con las especificaciones físico-químicas, bromatológicas, y microbiológicas establecidas en las disposiciones de las normas técnicas ecuatorianas INEN, o sus equivalentes, como Codex Alimentarius, Código de Regulaciones de la Administración de 24 Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), la Unión Europea u otros códigos reconocidos internacionalmente. En caso de no existir normativa técnica específica para un alimento procesado, el fabricante del producto establecerá y validará los criterios de inocuidad y calidad para las especificaciones del producto, las mismas que serán verificadas en el proceso de control post-registro.

Art. 9.- Los productos alimenticios, durante la vigencia del Registro Sanitario otorgado, conservarán las especificaciones aceptadas en el trámite inicial del mismo; cualquier cambio respecto a dichas especificaciones, será informado inmediatamente a la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria ARCSA.

### **3. Materiales y métodos**

#### **3.1 Enfoque de la investigación**

##### **3.1.1 Tipo de investigación**

El tipo de investigación que se realizó fue exploratorio porque se desarrolló *nuggets* de soya con pulpa de remolacha para aprovechar materias primas agroindustriales de poco consumo. La evaluación sensorial permitió determinar la formulación con mayor aceptación por parte de los panelistas evaluadores.

##### **3.1.2 Diseño de investigación**

El diseño de la investigación que se empleó en el proyecto fue de tipo experimental, pues se utilizó diferentes formulaciones, las variaciones fueron evaluadas por parte del panel sensorial y el puntaje obtenido permitió identificar al tratamiento con mayor aceptación.

#### **3.2 Metodología**

##### **3.2.1 Variables**

###### **3.2.1.1 Variables independientes**

Porcentaje de proteína de soya texturizada

Porcentaje de pulpa de remolacha

###### **3.2.1.2 Variables dependientes**

Análisis sensoriales (color, olor, sabor y textura), bromatológicos (proteína, humedad y grasa) y microbiológicos (Coliformes fecales y *Escherichia coli*)

##### **3.2.2 Tratamientos**

De acuerdo a la investigación establecida se ejecutó los tratamientos detallados a continuación.

**Tabla 6. Tratamientos**

<b>Formulación</b>	<b>Tratamiento 1</b>	<b>Tratamiento 2</b>	<b>Tratamiento 3</b>
<b>Soya texturizada</b>	8%	13%	17%
<b>Pulpa de remolacha</b>	15%	10%	6%
<b>Agua</b>	29%	29%	29%
<b>Pimienta</b>	1%	1%	1%
<b>Comino</b>	1%	1%	1%
<b>Cloruro de sodio</b>	1%	1%	1%
<b>Ajo</b>	3%	3%	3%
<b>Huevo</b>	13%	13%	13%
<b>Pan rallado</b>	29 %	29 %	29%
<b>Total</b>	100%	100%	100%

Tratamientos realizados en la investigación  
Banchón, 2020

### **3.2.3 Diseño experimental**

En la investigación se aplicó una prueba sensorial desde el punto de vista de aceptación. Para este proceso se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 3 tratamientos.

El análisis sensorial se realizó con un panel de 30 degustadores donde se estableció el grado de aceptabilidad de producto mediante una escala hedónica del 1 al 4, como se detalla a continuación:

- 1: No me gusta
- 2: Ni me gusta ni me disgusta
- 3: Me gusta
- 4: Me gusta muchísimo

La evaluación la realizaron panelistas no entrenados que degustaron las muestras de los tres tratamientos que fueron codificados para facilitar su evaluación. La prueba se realizó de preferencia con dos horas antes del almuerzo, se recomendó a los panelistas un enjuague de boca después de degustar cada muestra (Ver Anexo 1).

### **3.2.4 Recolección de datos**

#### **3.2.4.1. Recursos**

- ✓ Artículos científicos
- ✓ Páginas científicas en internet

#### **3.2.4.1.1 Equipos para los tratamientos**

- ✓ Balanza Camry capacidad de 6 kg; Modelo EI-02 H
- ✓ Extractor Hamilton Beach 400 W.
- ✓ Cocina Industrial de 5 quemadores a gas (31500Btu/Hr) C/u.
- ✓ Congelador; potencia de 270 Wmax; Volumen Bruto de 342 litros; Modelo RI-470(S50)

#### **3.2.4.1.2 Insumos**

- ✓ Soya texturizada
- ✓ Pulpa de remolacha
- ✓ Agua
- ✓ Cloruro de sodio
- ✓ Condimentos
- ✓ Pan rallado

#### **3.2.4.1.3 Utensilios y otros materiales**

- ✓ Cuchillo
- ✓ Cedazo

- ✓ Recipientes
- ✓ Moldes
- ✓ Cucharas de plástico
- ✓ Vaso de medidas
- ✓ Fundas ziploc

### 3.2.4.2 Métodos y técnicas

#### 3.2.4.2.1 Técnicas

#### Obtención de la pulpa de la remolacha

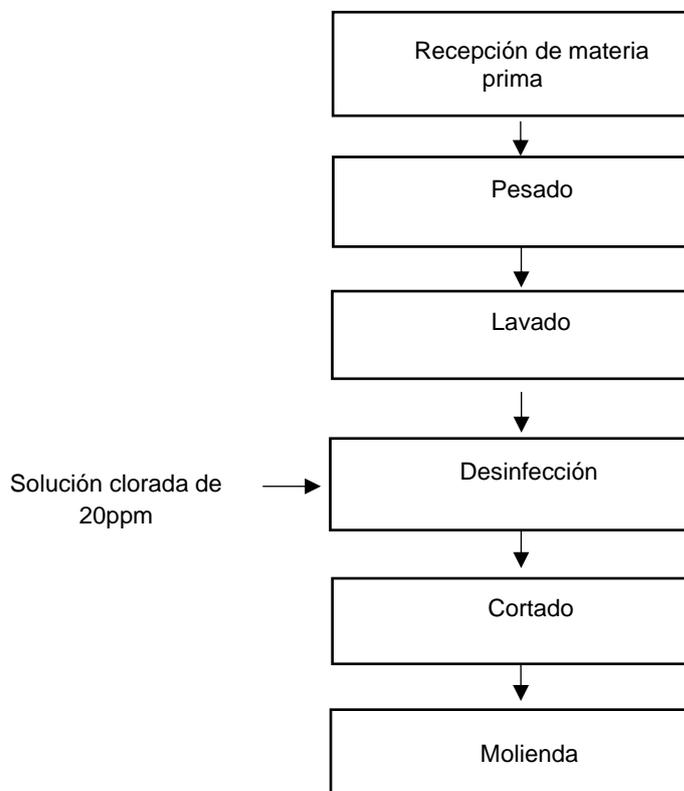


Figura 6. Flujograma del proceso de la elaboración de la pulpa de remolacha Banchón, 2020

#### Descripción del proceso de obtención de pulpa de remolacha.

**Recepción de materia prima:** Se recibió la materia prima en buenas condiciones (características organolépticas).

**Pesado:** Se pesó la cantidad de remolacha dependiendo la formulación que se desee.

**Lavado:** La materia prima seleccionada se lavó con agua potable para eliminar impurezas.

**Desinfección:** Se añadió una solución de cloro de 20 ppm y se dejó en reposo por 15 minutos, luego se enjuagó nuevamente con agua potable para eliminar el cloro.

**Cortado:** En el caso de la remolacha se realizó el respectivo corte en trozos.

**Molienda:** Tuvo como finalidad extraer la pulpa de remolacha.

### Elaboración de los *nuggets*

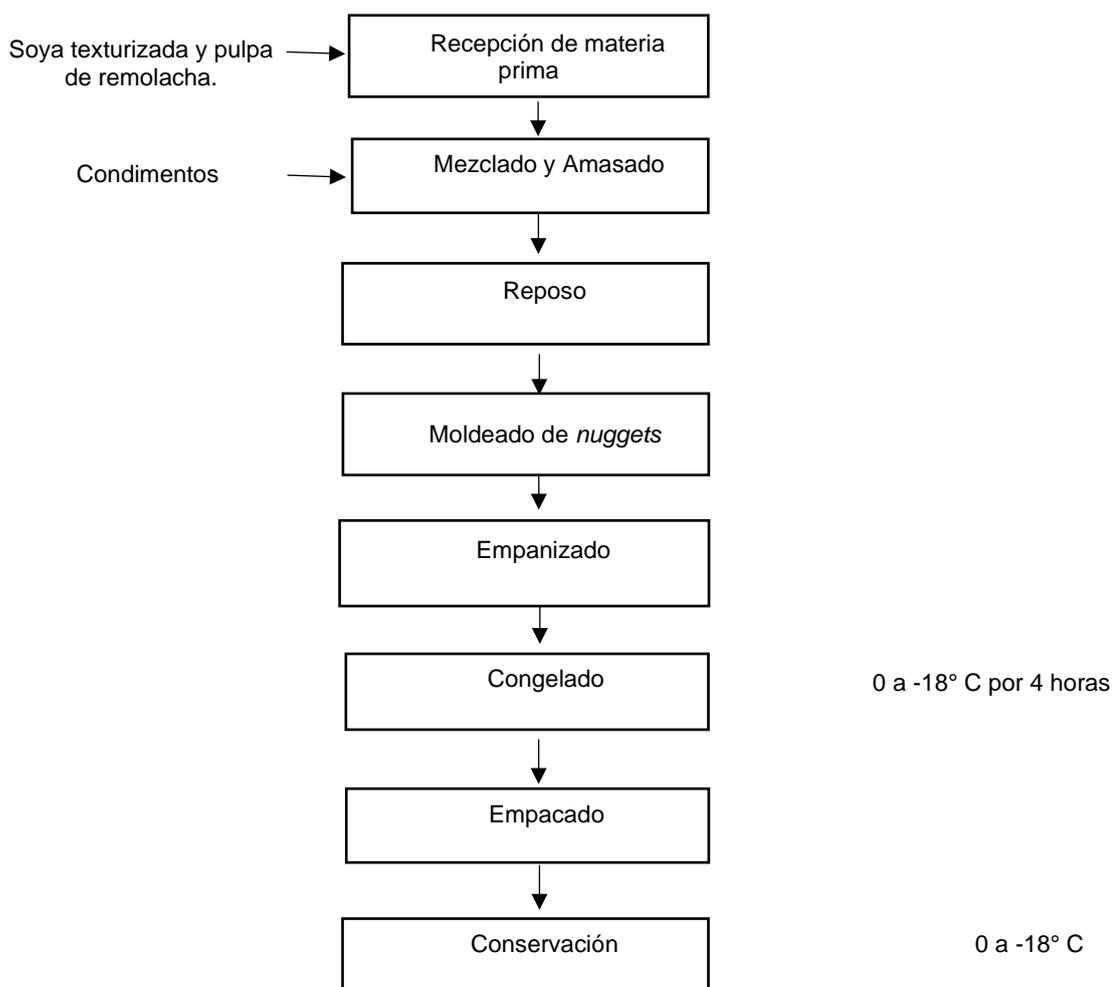


Figura 7. Flujograma del proceso de elaboración *nuggets* de soya Banchón, 2020

### **Descripción del proceso de elaboración**

**Recepción de materia prima:** Se recibió la materia prima en buenas condiciones (características organolépticas)

**Mezclado y amasado:** En esta etapa se mezcló las materias primas como son la soya y la pulpa de la remolacha, además de los condimentos para la elaboración de los *nuggets* hasta obtener una pasta homogénea.

**Reposo:** Se dejó la masa en reposo por unos 15 minutos, luego se lo sometió a una temperatura de refrigeración de 4° C para que la masa sea más compacta.

**Moldeado de los *nuggets*:** Se extendió la masa dejando un grosor de 1 centímetro, con los moldes se cortó la masa para obtener la forma deseada.

**Empanizado:** En esta etapa se recubrió el *nuggets* con el pan rallado para que la masa quede firme y al momento de la cocción estén crocantes.

**Congelado:** El producto apanado fue colocado en el congelador por 4 horas.

**Empacado:** El empaque se realizó en fundas ziploc, para evitar posibles contaminaciones, o si es posible al vacío.

**Conservación:** Se realizó a temperaturas de congelación de 0 a -18°C para que los *nuggets* tengan una vida útil de unos 3 meses aproximadamente.

#### *3.2.4.2.2 Métodos*

##### **Proteína**

El método Kjeldahl es uno de los métodos más confiables para determinar nitrógeno orgánico y proteína. Se fundamenta en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico para luego formar sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio a su vez libera amoníaco, el exceso de este ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de metilo (A.O.A.C, 2002).

- Preparación de la muestra

Preparación de la muestra analítica: Triturar la muestra de laboratorio seca a la finura de la molienda (ca 0.7–1 mm), lo que da una desviación estándar relativa (RSD) de  $\leq 2.0$  % para 10 determinaciones sucesivas de N en la mezcla molida de granos de maíz y frijoles de soya. (2 + 1). La finura requerida para lograr esta precisión debe usarse para todas las alimentaciones mixtas secas y otros materiales no uniformes. Mezcla de líquidos a la uniformidad (Ver Anexo 6).

### **Humedad**

La determinación de humedad es una de las técnicas más importantes y de mayor uso en el procesado, control y conservación de los alimentos, puesto que la mayoría de los productos alimenticios poseen un contenido mayoritario de agua, como por ejemplo, la leche posee un 88 %, el yogurt, entre un 80 y 90 %, las carnes frescas (60-75 %) y aún los llamados productos secos como las leguminosas o el arroz, alcanzan un contenido de humedad de hasta un 12% (INEN, 2013).

#### ➤ Preparación de la muestra analítica:

Productos que no necesitan trituración. Los productos cuyas partículas son de dimensiones inferiores o iguales a 1,70 mm, de los cuales menos del 10% en masa son superiores a 1,00 mm y más del 50 % en masa son inferiores a 0,5 mm, no necesitan ser triturados. b) Productos que necesitan trituración. Si la muestra no reúne las características granulométricas citadas anteriormente, es necesario triturarla sin o con acondicionamiento previo según su contenido de humedad (Ver Anexo 7).

### **Grasas**

El método que se emplea para determinar grasas es el método de Gravimetría el cual consiste para los análisis de forrajes, granos de cereales, leche o productos

lácteos, alimentos para animales, harinas de pescado, semillas oleaginosas y carnes en concentraciones de 0,5 % a 100 % de grasa (A.O.A.C, 2002).

➤ Preparación de la muestra:

Disolver el residuo graso extraído en 2–3 ml de cloroformo y 2–3 ml de éter dietílico. Transfiera la mezcla a un vial de vidrio de 3 dram y luego evapore a sequedad en un baño de agua a 40 ° C bajo una corriente de nitrógeno. Añadir 2,0 ml de reactivo BF al 7 %,) y 1,0 ml de tolueno. Selle el vial con un tapón de rosca que contenga tabique de teflón / silicona. Calentar el vial en el horno 45 min a 100° C. Agite suavemente el vial cada 10 min. (Nota: la evaporación del líquido de los viales indica un sellado inadecuado; si esto ocurre, deseche la solución y repita todo el procedimiento). Deje que el vial se enfríe a temperatura ambiente (20–25 C). Añadir 5,0 ml de HO, 1,0 ml de hexano y aproximadamente 1,0 g de NaSO.) Tape el vial y agite 1 min. Permita que las capas se separen y luego transfiera cuidadosamente la capa superior a otro vial que contenga aproximadamente 1,0 g de NaSO (Ver Anexo 8).

### **Coliformes fecales**

El método se basa en la determinación del número más probable (NMP) por la técnica de dilución en tubos, utilizando el medio líquido selectivo caldo verde brillante bilis-lactosa o similar para el ensayo presuntivo y los tubos que presentan gas son confirmados en agar Eosina azul de metileno (EMB), la temperatura de incubación para el ensayo presuntivo y confirmativo es de  $30 \pm 1^\circ \text{C}$ , para productos refrigerados y  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  para productos que se mantienen a temperatura ambiente.

➤ Preparación de la muestra:

Inmediatamente después de realizadas las diluciones con una pipeta estéril, transferir  $1 \text{ cm}^3$  de la dilución  $10^{-1}$  a cada uno de los tres tubos que contengan 10

cm<sup>3</sup> de caldo BGBL o similar. Con otra nueva pipeta estéril, transferir 1 cm<sup>3</sup> de la dilución 10<sup>-2</sup> en cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> del medio. Proceder de igual manera con otras diluciones. Incubar los tubos a 30 ± 1 ° C para productos que se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas. Transcurridas las 48 horas andar en cada dilución como presuntos positivos todos los tubos que presenten crecimiento con producción suficiente de gas como para llenar el fondo cóncavo del tubo Durhan, es decir, el menisco llegaría hasta donde las paredes del tubo se hacen paralelas. También se considera como presunto positivo si el tubo Durhan contiene menos gas del indicado, pero al golpear delicadamente al tubo de cultivo hay desprendimiento de burbujas. Solo la turbidez no es indicativa de una prueba positiva.

Agitar cada uno de los tubos presuntamente positivos y con un asa de inoculación a partir de cada uno de ellos sembrar por estría en la superficie de placa individual seca de Agar EMB, identificar las placas. Invertir las placas e incubarlas a 30 ± 1 para productos refrigerados y 35 ± 1°C para productos que se mantienen a temperatura ambiente por 24 ± 2 horas. Si al término del período de incubación hay desarrollo de colonias lactosa positivas las cuales son negras o poseen centro oscuro con periferias transparentes incoloras o bien colonias mucoides de color rosa naranja, confirman la presencia de coliformes. De cada dilución anotar el número de tubos positivos confirmados de coliformes (INEN, 1990) (Ver Anexo 9).

### ***Escherichia coli***

El método de prueba de *Escherichia coli* contiene una unidad de conteo de placas que proporciona la determinación rápida de *E. coli* y cargas bacterianas de carnes crudas. A su vez las placas están preesterilizadas y contienen nutrientes suplementados con sustancias selectivas, dos enzimas cromogénicas un sustrato

y un gelificante soluble en agua fría. El medio debe ser hidratado con 1 mL de material de muestra (diluido) y con un difusor automáticamente e incubado tamaño mediano completo en el plato de 20 cm<sup>2</sup>. El agente gelificante solidifica, las placas se incuban y se cuentan las *E. coli* y coliformes (INEN , 2013) (Ver Anexo 10).

### 3.2.5 Análisis estadístico

En el presente experimento la valoración estadística se realizó por medio de un análisis de varianza (Anova), posterior a ello se desarrolló la comparación de promedios utilizando la prueba de Tukey al 5 % de probabilidad. En la tabla 7 se detalla el esquema de la varianza del experimento en estudio:

**Tabla 7. Esquema de la varianza**

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Tratamientos	2
Panelistas	29
Error experimental	72
Total	103

Descripción del análisis de varianza  
Banchón, 2020

## 4. Resultados

### 4.1 Formulación de 3 tratamientos variando los porcentajes de la soya y de la pulpa de remolacha.

El desarrollo del *nuggets* de soya con pulpa de remolacha inició desde la recepción de la materia prima en buenas condiciones, es decir sin golpes, e impurezas tanto la leguminosa como la hortaliza, con el peso adecuado dependiendo de la formulación que se desee realizar. A continuación, se realizó el lavado para eliminar todas las impurezas y desinfección con solución de cloro de (20 ppm), dejando por 15 minutos en reposo para luego enjuagarlo. Para la remolacha se efectuó cortes en trozos y la molienda para extraer la pulpa. En la elaboración de los *nuggets*, se recibió la materia prima que son la soya texturizada y la pulpa de remolacha, en el Tratamiento 1 se empleó 8 % de soya texturizada y 15 % de pulpa de remolacha, para el Tratamiento 2 se utilizó 13 % de soya texturizada y 10% de pulpa de remolacha y por último para el tratamiento 3 se usó 17 % de soya texturizada y 6% de pulpa de remolacha manteniendo constante el resto de ingredientes. Las materias primas y los condimentos fueron mezclados, luego se amasó y se procedió a enfriar la mezcla para que se compacte la masa, después se efectuó el moldeado y empanizado de los *nuggets*. Por último, se congeló a una temperatura de -18° C por 4 horas, se empacó en fundas ziploc conservando el producto a una temperatura de -18° C.

#### 4.1.1 Atributo color

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza se evidencia, que los tres tratamientos no presentaron similitud debido a que el p-valor fue de 0,1874.

Cada uno de los tratamientos obtuvo medias diferentes, el T1 presentó una media de 2,57, el T2 una media de 2,87 y el T3 con una media de 2.90. Por otro lado, la prueba de Tukey muestra que no existe diferencias entre la aceptabilidad de los 3 tratamientos lo que indica según la escala hedónica que a los panelistas ni les gusta, ni les disgusta acercándose a un me gusta cómo se observa en la tabla 8 por lo cual, los resultados se clasificaron con letras iguales (A).

Por lo tanto, el mejor tratamiento fue el T3 por la aproximación que se presenta al punto 3 que indica “me gusta” de acuerdo a la escala hedónica que usaron los panelistas no entrenados.

**Tabla 8. Análisis de varianza del atributo color**

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T1	2,57	30	0,14	A
T2	2,87	30	0,14	A
T3	2,90	30	0,14	A

Datos obtenidos a partir del análisis de varianza del atributo color  
Banchón, 2020

De acuerdo con la figura 8 se puede visualizar el mayor grado de aceptabilidad del color en el tratamiento 3 en comparación a los demás tratamientos.

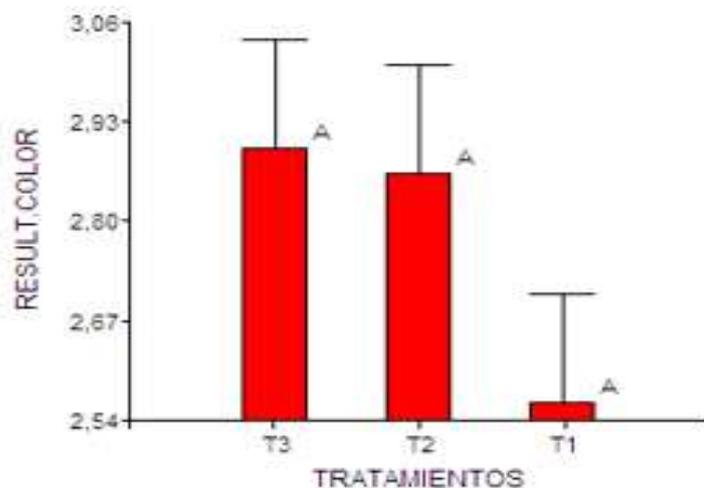


Figura 8. Análisis de varianza del atributo color  
Banchón, 2020

#### 4.1.2 Atributo olor

El análisis de varianza indica que los tres tratamientos demostraron semejanza debido a que el p-valor fue 0,0849.

Cada uno de los tratamientos adquirió medias diferentes, el T1 presentó una media de 2,60, el T2 una media de 2,87 y el T3 con una media de 3,00. De acuerdo con la prueba de Tukey no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) entre los 3 tratamientos lo que indica según la escala hedónica que a los panelistas ni les gusta, ni les disgusta acercándose a un me gusta cómo se observa en la tabla 9. El tratamiento T3 fue el de mayor aceptación de acuerdo a la escala hedónica, por tanto, los resultados se clasificaron en letras iguales (A).

**Tabla 9. Análisis de varianza del atributo olor**

Tratamientos	Medias	N	E.E.	
T1	2,60	30	0,13	A
T2	2,87	30	0,13	A
T3	3,00	30	0,13	A

Datos obtenidos a partir del análisis de varianza del atributo olor  
Banchón, 2020

Como se observa en la Figura 9 se puede visualizar el mayor grado de aceptabilidad del olor es en el tratamiento 3 en relación a los demás tratamientos demostrando que a los panelistas les gusta.

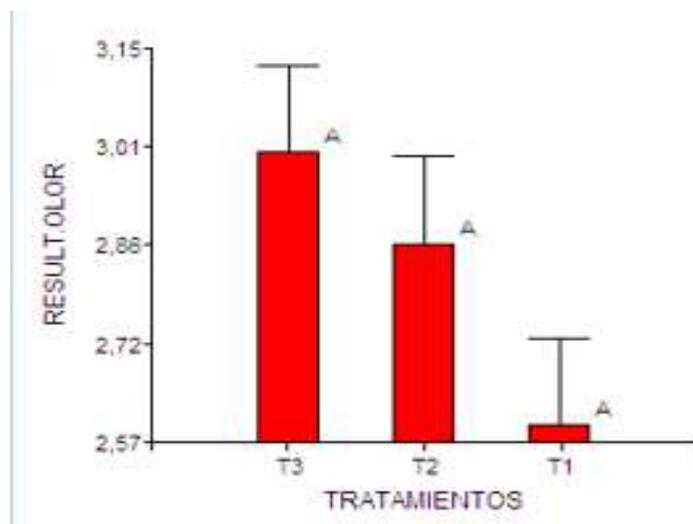


Figura 9. Análisis de varianza del atributo olor  
Banchón, 2020

#### 4.1.3 Atributo sabor

En los resultados de análisis de varianza señala que uno de los tratamientos demuestra diferencia significativa. Los otros dos tratamientos son semejantes ya que se encuentra en la misma categoría de error experimental debido que el p-valor es superior al valor alfa establecido 0,0025.

En el T1 muestra una media de 2,40 el cual se encuentra en una categoría diferente de acuerdo al error experimental, el T2 es de 3,13 y el T3 de 2,93, sin embargo, el T2 obtuvo un valor mayor de aproximación con referencia a la escala hedónica como se muestra en la tabla 10, lo cual indica que a los panelistas les gusta, por lo cual los resultados se clasificaron con letra diferentes (A) y (B), tal como se muestra en la tabla 10.

**Tabla 10. Análisis de varianza del atributo sabor**

Tratamientos	Media	N	E.E.	
T1	2,40	30	0,15	A
T2	3,13	30	0,15	B
T3	2,93	30	0,15	B

Datos obtenidos a partir del análisis de varianza del atributo sabor  
Banchón, 2020

En la siguiente figura 10 se demuestra que el tratamiento con mayor aceptación es el tratamiento 2 ya que se aproxima a la puntuación más alta de escala hedónica con el valor cercano a 3, seguido de los demás tratamientos que tienen menor preferencia.

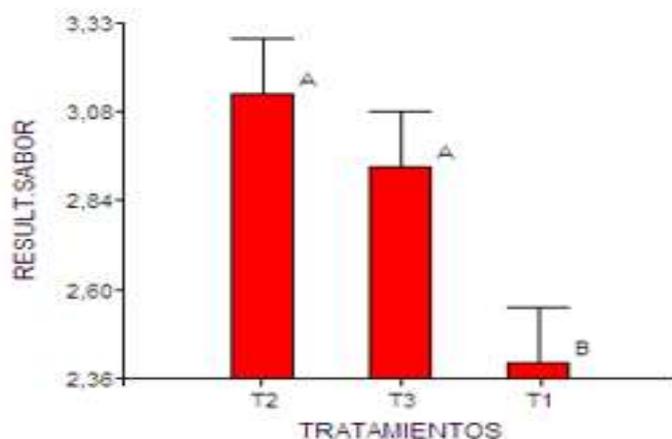


Figura 10. Análisis de varianza del atributo sabor  
Banchón, 2020

#### 4.1.4 Atributo textura

De acuerdo a los resultados del análisis de varianza muestra que los tres tratamientos no indicaron diferencias debido a que el p-valor fue 0,4821.

Cada uno de los tratamientos presentó medias diferentes, el T1 obtuvo una media de 2,77, el T2 y T3 fueron de 2,97. De acuerdo con la prueba de Tukey

muestra que no existe diferencias entre la aceptabilidad de los 3 tratamientos lo que indica según la escala hedónica que a los panelistas ni les gusta ni les disgusta acercándose a un me gusta cómo se observa en la tabla 11, teniendo como resultado que el tratamiento T3 fue el de mayor aceptación de acuerdo a la escala hedónica, por lo tanto, los resultados se clasificaron con letras iguales (A).

**Tabla 11. Análisis de varianza del atributo textura**

Tratamientos	Media	N	E.E.	
T1	2,77	30	0,13	A
T2	2,97	30	0,13	A
T3	2,97	30	0,13	A

Datos obtenidos a partir del análisis de varianza del atributo textura Banchón, 2020

Como indica en la figura 11 existe un nivel de preferencia por el tratamiento 2 y 3 de acuerdo a la evaluación sensorial acercándose a una puntuación de 3 lo que indica que a los panelistas les gusta.

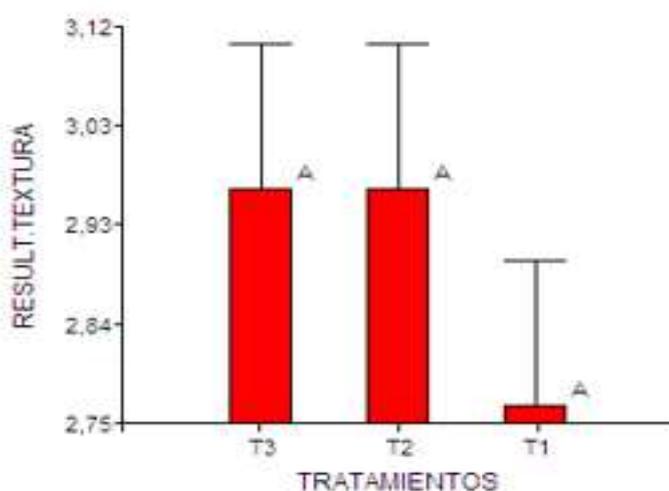


Figura 11. Análisis de varianza del atributo textura Banchón, 2020

De los resultados obtenidos en el análisis sensorial con los respectivos tratamientos se estima que, de acuerdo a los resultados significativos el tratamiento 3, obtuvo tres valores promedios elevados de los cuatros atributos que se evaluaron, por esta razón, se procedió a realizar los análisis bromatológicos y microbiológicos.

#### **4.2 Evaluación de la calidad nutricional (proteína, humedad y grasas) al tratamiento de mayor aceptación sensorial.**

Al realizar el análisis bromatológico al tratamiento 3, se obtuvo que contiene 2,90 % de grasa, 64,5 % de humedad y 45 % de proteína.

Cabe destacar que los valores no están reglamentados bajo ninguna norma porque el producto que se examinó es una innovación y no existe alguna norma técnica para este tipo de producto.

**Tabla 12. Análisis bromatológico**

Ítem	Parámetros	Unidades	Resultados
1	Grasa	%	2,90
2	Humedad	%	64,5
3	Proteína (f: 6,25)	%	45,0

Laboratorio de Análisis de alimentos y productos procesados  
LASA, 2020

#### **4.3 Evaluación de la calidad microbiológica (Coliformes fecales y *Escherichia coli*) al tratamiento de mayor aceptación sensorial.**

Se aprecia que los *nuggets* no presentaron Coliformes fecales y *E.coli* ya que los resultados expresados indican que no mostró ningún tipo de contaminación del producto ya sea por el ambiente o por las materias primas utilizadas según la técnica empleada. Los resultados son demostrados en la tabla 13:

**Tabla 13. Análisis microbiológico**

<b>Parámetros</b>	<b>Unidades</b>	<b>Resultados</b>
Coliformes fecales	NMP/g	<3
<i>Escherichia coli</i>	UFC/g	<10

Laboratorio de Análisis de alimentos y productos procesados  
LASA, 2020

## 5. Discusión

La soya al ser un alimento nutritivo es utilizada a nivel internacional ya que posee alto contenido de proteínas y aminoácidos. La pulpa de remolacha presenta alto contenido de fibra digestiva. Por consiguiente, al realizar los *nuggets* con estos ingredientes base, se establecen ciertas comparaciones con otras investigaciones realizadas a partir de los componentes mencionados.

Para la formulación de los tratamientos se tomó en cuenta la coloración y la humedad de la pulpa de remolacha, ya que estos atributos pueden influir al producto final, variando el porcentaje de soja y pulpa de remolacha en los tres tratamientos, también se tomó en cuenta el porcentaje de proteína que contiene la soja para enriquecer el *nuggets*. Coincidiendo con Martín y López (2017), que indican que la soja es una leguminosa rica en proteínas y grasas saludables, que contribuyen de manera positiva en la salud, al ser una oleaginosa contiene del 40% al 50 % de proteína y 20 % de grasa. Por otra parte Corral (2020), indica que la remolacha contiene 1,61 g de proteínas y 0,17 g de grasas que es un valor relativamente bajo que lo hace un sustituto adecuado para el aprovechamiento de su pigmento, mediante la adición de la pulpa.

El análisis de varianza del atributo color evidenció que el tratamiento T3 (soja 17 % y pulpa de remolacha 6 %), presentó un color semi-intenso, debido a que en la elaboración del *nuggets* se adicionó 6 % de pulpa de remolacha el cual proporcionó un color agradable para los panelistas. Ipiales (2018), menciona que los *nuggets* además de asemejarse a las características bromatológicas, también deben presentar un color similar a los *nuggets* comerciales, para tener mayor aceptación por parte de los consumidores.

El análisis de varianza del atributo olor evidenció que el mejor tratamiento fue el tres ya que tuvo mayor aceptabilidad debido a que su olor fue característico a la remolacha siendo agradable a los panelistas. Garzón (2016), demuestra que al adicionar extractos vegetales en la formulación de *nuggets* influye en el olor del producto final, mismo que puede ser aceptado o rechazado por los consumidores, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo de titulación donde se obtuvo una media de 3 que indica que les gusta a los panelistas.

El mejor tratamiento presentó un sabor característico a remolacha, que fue adicionada en la formulación del *nuggets*, adquiriendo su olor y sabor. Ipiales (2018), coincide que al aumentar el porcentaje de proteína vegetal el sabor varía desde moderado a intenso, siendo aceptado o rechazado por el consumidor, concordando de acuerdo a los resultados obtenidos del presente trabajo de titulación el cual presenta una media de 3 que demuestra que les gusta a los panelistas.

El atributo textura está relacionado con el contenido de humedad de la proteína vegetal (soja y pulpa de remolacha), que al presentar un porcentaje de humedad alto se obtiene un producto más suave y agradable al consumidor. Coincidiendo con Garzón (2016), que al agregar zumo de vegetales en la formulación de los *nuggets* obtuvo mayor aceptación en este parámetro, también menciona que se debe tener mayor cuidado con los alimentos con alto porcentaje de humedad ya que contribuye a la proliferación de microorganismos que deterioran las características sensoriales del producto.

El porcentaje de proteína obtenido en el análisis bromatológico del *nuggets* de soja con pulpa de remolacha fue de 45 %, considerado un porcentaje alto, favorable en la dieta ya que la proteína ayuda a la absorción de calcio y creación

de anticuerpos. La soya es una oleaginosa rica en proteínas que pueden sustituir de manera adecuada la proteína de origen animal, sin embargo al agregar los ingredientes como la soya y la pulpa de remolacha en las formulaciones y al realizar una sustitución total, el porcentaje de proteína aumenta considerablemente a diferencia de *nuggets* en los que se realiza una sustitución parcial con zumos de vegetales los cuales no presentan diferencia significativa en relación a los *nuggets* tradicionales. Polizer, Pompeu, Hirano, De Alvarenga Freire, y Trinidad (2015), sustituyeron parcialmente la carne de pollo por fibra de guisantes obteniendo un porcentaje de proteína de 16,41 % asemejándose al de un *nuggets* comercial que contiene 17,41 %, evidenciando que la sustitución parcial o total de la carne en la elaboración de *nuggets* es favorable. Coincidiendo con Garzón (2016), que obtuvo 17.56 % de proteína, lo que indica que al enriquecer los *nuggets* de pollo con zumo de vegetales se puede obtener un porcentaje de proteína alto.

Al analizar el parámetro grasa se obtuvo un resultado de 2,90 %, siendo un porcentaje bajo, en comparación a los *nuggets* tradicionales, evidenciando que la sustitución de proteína animal por una de origen vegetal contribuye a obtener un producto bajo en grasa. El *nuggets* formulado en la presente investigación obtuvo un porcentaje bajo de grasa ya que se realizó una sustitución total de la proteína animal a diferencia de las formulaciones realizadas por otros autores que la sustituyeron de manera parcial, obteniendo valores más altos en la evaluación de este parámetro. Ipiales (2018), coincide que al sustituir parcialmente la proteína animal por una vegetal el porcentaje de grasa disminuye, que se evidencia mediante los resultados obtenidos en su investigación que van de 5,47 % a 7,36 %, a diferencia del tratamiento testigo (proteína animal) que presentó 18.06 %. Por otra parte, Dávalos (2016), desarrolló un *nuggets* de bonito con chía como antioxidante,

coincide que al adicionar un ingrediente de origen vegetal el porcentaje de grasa disminuye considerablemente que se demuestra mediante el porcentaje de grasa obtenido de 4 %, en comparación a los demás tratamientos evaluados.

Mediante el análisis de humedad se obtuvo un resultado de 64,5 %, indicando que al adicionar pulpa de remolacha en la formulación y agua para obtener el texturizado de soya aumenta relativamente el porcentaje de humedad del producto, obteniendo como resultado un porcentaje de humedad alto. Ipiles (2018), corrobora que el contenido de humedad de las materias primas empleadas en el desarrollo del *nuggets* influye en el porcentaje de humedad del producto final. Por otra parte, Mourin, Biswas, y Islam (2018), demuestran que al aumentar el porcentaje de soya en cada uno de los tratamientos formulados aumentó el porcentaje de humedad, evidenciando que el contenido de la materia prima influye en el porcentaje de humedad final.

Para el análisis microbiológico del mejor tratamiento se consideró evaluar Coliformes fecales, obteniendo un resultado  $< 3$  NMP/g, haciéndolo un producto inocuo para el consumo, libre de microorganismos patógenos. Coincidiendo con Balcázar (2019), que evaluó el desempeño de métodos microbiológicos normalizados utilizados en el análisis de alimentos para la determinación de bacterias mesófitas aerobias y bacterias coliformes totales, estableciendo como requisito de aceptación un resultado menor a 3 NMP/g, que indica una aplicación adecuada de las buenas prácticas de manufactura. Cabrera, Mosquera, Cadena, El Salous, Arizaga, Ibarra, (2018), también coinciden que al presentar un resultado de  $< 3$  NMP/g, lo hace un producto inocuo y apto para el consumo humano.

En el análisis de *Escherichia coli* se obtuvo un resultado de  $< 10$  UFC/g, lo cual demuestra que no existe presencia de microorganismo patógenos. De igual forma

lpiales (2018), obtuvo como resultado un valor menor a 10 UFC/g que se encuentra por debajo de los parámetros establecidos de la norma INEN 1338:2012 coincidiendo que es un producto apto para el consumo humano. Dávalos (2016), también coincide que al obtener un resultado de <10 UFC/g cumplen con la buena calidad microbiológica, haciéndolo un producto inocuo.

## 6. Conclusiones

- Se logró obtener los *Nuggets* a partir de las diferentes formulaciones evidenciando que entre ellos no existe diferencias significativas excepto en el parámetro del sabor que tuvo una mejor acogida variando los rangos establecidos en los tratamientos de la soya texturizada de un 8 % hasta 17 % y de la pulpa de remolacha de un 15 % hasta un 6 %.
  
- Se determinó que los *nuggets* de soya con pulpa de remolacha es una buena fuente de proteínas 45 %, bajo en grasas 2,90 % y con un adecuado contenido de humedad 65 %, confirmando que la materia prima utilizada en el proceso de elaboración es de excelente calidad en comparación a los *nuggets* tradicionales.
  
- Los análisis microbiológicos realizados aseguran la inocuidad del producto final, siendo este <10 UFC/g en *Escherichia coli* y <3 NMP/g en Coliformes fecales lo que afirma que el *nuggets* de soya con pulpa de remolacha es apto para el consumo demostrando que fue elaborado de forma segura utilizando las buenas prácticas de manufactura.

## 7. Recomendaciones

Se recomienda:

- Efectuar un estudio de mercado determinando la potencial demanda del producto para la implementación de una empresa productora de *nuggets* de soya con pulpa de remolacha.
  
- Ejecutar una investigación acerca de la capacidad antioxidante del producto, debido al uso del extracto de la pulpa de remolacha puesto que se cataloga como un alimento funcional.
  
- Implementar una norma técnica que pueda avalar la calidad nutricional del producto para próximas investigaciones.
  
- Realizar un análisis de mercado y económico para establecer la factibilidad de la producción de *nuggets* de soya texturizada y pulpa de remolacha.

## 8. Bibliografía

- A.O.A.C. (Abril de 2002). Obtenido de AOAC Official Method 996.06 Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods: <https://www.pdfFiller.com/jsfiller-app10/?projectId=355450651&lang=es#bd8eb364110049debbae94101cfc574a>
- A.O.A.C. (28 de Mayo de 2002). *Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds*. Obtenido de <https://img.21food.cn/img/biaozhun/20100108/177/11285182.pdf>
- A.O.A.C. (14 de Julio de 2005). *AOAC Official Method 991.42 Insoluble Dietary Fiber in Foods and Food Products*. Obtenido de [13146808.s21d-13.faiusrd.com> f=AOAC+991.42.pdf](http://13146808.s21d-13.faiusrd.com/f=AOAC+991.42.pdf)
- Andrade Guamán, C. (2014). *Comparación de tres niveles de proteína de soya para la elaboración de nugget a base de carne de camarón. Tesis pregrado*. Guayaquil, Ecuador: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.
- Astawan, M., Rachma Adiningsih, N., y Sri Palupi, N. (2014). Evaluation on Tempeh Nugget Quality Made from Different Soybean Varieties. *Jurnal Pangan*, 240-255.
- Balcázar, B. (2019). Evaluación del desempeño de métodos microbiológicos normalizados utilizados en el análisis de alimentos para bacterias mesofílicas aerobias y bacterias coliformes totales de acuerdo con la Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura. Puebla: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
- Blasco, M. (17 de Marzo de 2018). *Alimentos con más proteínas que la carne*. Obtenido de Sitio Web de Bioeco: <https://www.bioecoactual.com/2018/03/17/alimentos-mas-proteinas-que-la-carne/>

- Cabrera, E., Mosquera, C., Cadena, N., El Salous, A., Arizaga, R., y Ibarra, A. (2018). Efecto de la harina de remolacha (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) en el contenido nutricional del pan. *Revista Ciencia & Tecnología*, 19-27.
- Caiza, I. (2017). *Aprovechamiento de las propiedades nutricionales de la remolacha (Beta vulgaris), para la formulación de un alimento agroindustrial dirigido para niños. Tesis pregrado*. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar. Recuperado el 14 de octubre de 2020
- Camargo, C. (26 de Enero de 2018). *¿Conoces los beneficios de la remolacha para tu salud?* Obtenido de Sitio Web de La Opinión: <https://aopinion.com/conoces-los-beneficios-de-la-remolacha-para-tu-salud/>
- Casierra, F., y Pinto, J. R. (2015). Crecimiento de Plantas de Remolacha (*Beta vulgaris* L. var. *Crosby Egipcia*) Bajo Coberturas de Color. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 6081-6091.
- Chávez, M. (2015). *Nutrición vegetariana: Una guía práctica para ser vegetariano*. México: Editorial Grijalbo.
- Constitución de la República del Ecuador. (2010). *Constitución de la República del Ecuador*. Quito, Ecuador: Asamblea Constituyente.
- Corral, M. (3 de junio de 2020). *Remolacha: beneficios, propiedades y valores nutricionales de la hortaliza rosa*. Recuperado el 13 de octubre de 2020, de El Español: [https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20200603/remolacha-beneficios-propiedades-valores-nutricionales-hortaliza-rosa/494451252\\_0.html](https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20200603/remolacha-beneficios-propiedades-valores-nutricionales-hortaliza-rosa/494451252_0.html)
- Dávalos Cuno, M. (2016). *Desarrollo de nuggets de bonito (Sarda chiliensis chiliensis) bajos en calorías y con la adición de chía (Salvia hispánica) como antioxidante. Tesis pregrado*. Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San

- Agustín. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/2366/IPlumedc.pdf?sequence>
- De la Torre, G. (2016). *Análisis del comportamiento de consumo de soya en hombre y mujeres en la ciudad de Guayaquil. Tesis pregrado*. Universidad Católica Santiago de Guayaquil . Guayaquil: Universidad Católica Santiago de Guayaquil. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/5608/1/T-UCSG-PRE-ESP-CIM-181.pdf>
- De Luna, A. (2016). Valor nutritivo de la proteína de soya. *Investigación y Ciencia*, 29-34.
- Escamilla, M. (2015). *Las Maravillas De La Carne De Soya: 100 Exquisitas Recetas De Carne De Soya*. Blooming, EEUU: Ediciones Palibrio.
- Espinoza, S. (2015). *Evaluación Agronómica de materiales de soya (Glycinemax (L) Merrill) en condiciones de Siembra Directa (SD). Tesis pregrado*. Guayaquil, Ecuador: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/6079/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-78.pdf>
- Flores, M., Mejía, I., Cervantes, A., Pimentel, A., y Ramírez, E. (2020). Aditivos presentes en etiquetado de los Nuggets de pollo. *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 170-173.
- Freire, J. (2018). *"Determinación del efecto del riego y la fertilización en el rendimiento del cultivo de soya (Glycine max). Tesis pregrado*. Los Rios, Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/11057>

- Fuentes Barría, H., Muñoz Peña, D., Aguilera Eguía, R., y González Wong, C. (2018). Influencia de los compuestos bioactivos de betarraga (*Beta vulgaris* L) sobre el efecto cardio-protector: Una revisión narrativa. *Revista chilena de nutrición*, versión On-line ISSN 0717-7518 [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182018000300178](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182018000300178).
- Gamboa, M. (2015). *Actualización de pruebas de laboratorio microbiológicas para el control de calidad en alimentos. Tesis pregrado*. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Garzón, D. (2016). *Elaboración de nuggets de pollo con zumos vegetales. Tesis pregrado*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/16653/1/67753\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/16653/1/67753_1.pdf)
- INEN. (Febrero de 1990). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismo coliformes por la técnica de numeros más probable*. Obtenido de Sitio Web de Instituto Ecuatoriano de Normalización : <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-6.pdf>
- INEN. (2013). *Determinación del contenido de humedad (Método de rutina)*. Obtenido de <https://181.112.149.204/buzon/normas/1235.pdf>
- INIAP. (13 de mayo de 2014). *Soya* . Obtenido de Sitio Web de Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias : <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/molea/rsoya>
- INIAP. (2015). *Manual Del Cultivo De Soya*. Guayaquil, Ecuador: Editorial Raices.
- Ipiales , A. (2018). *Estudio del comportamiento de la mezcla de champiñon blanco (*Agaricus bisporus*) y avena para el desarrollo de un nugget vegetal. Tesis pregrado*. Ibarra, Ecuador: Universidad Técnica del Norte.

- MAGAP. (23 de junio de 2016). *MAGAP e industrias balanceadoras y maquiladoras acordaron cumplir con absorción de soya*. Obtenido de Sitio Web del Magap: <https://www.agricultura.gob.ec/?s=soya>
- Martín, C., y López, A. (14 de octubre de 2017). *Beneficios de la soja en la salud femenina*. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de scielo: [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v34s4/07\\_martin.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v34s4/07_martin.pdf)
- Martínez , A., Lee, R., Ch apparro, D., y Páramo, S. (2013). *Postcosecha y mercadeo de hortalizas de clima frío bajo prácticas de producción sostenible. Tesis pregrado*. Bogotá: Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
- Medlineplus. (8 de octubre de 2020). *Soya*. Recuperado el 13 de octubre de 2020, de Medlineplus: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/007204.htm>
- Mourin, M., Biswas, J., y Islam , M. (2018). Effect of Soya Meat Inclusion on the Quality Characteristics and. *Proceedings of the 5th International Conference on Natural Sciences and Technology* , 50 - 53.
- Pamplona, J. (2015). *Salud por los Alimentos*. Madrid, España: Editorial Faseliz.
- Panduro, C. (2015). *Efecto de la sustitución de harina de trigo por harina de quinoa (chenopodium quinoa) sobre el contenido de proteína, color, firmeza y aceptabilidad general de nuggets de pollo. Tesis pregrado*. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de <https://core.ac.uk/download/pdf/51279493.pdf>
- Parra, J. (2015). Características fisicoquímicas y microbiológicas de yogur a partir de colorante de remolacha (Beta vulgaris L.) encapsulado. *Alimentech Ciencia y tecnología Alimentaria* , 20 - 27.

- Pintor, Y. (29 de Enero de 2015). *¿Sabías de qué están hechos los nuggets de pollo?* Obtenido de Sitio Web de : <https://mejorconsalud.com/sabias-de-que-estan-hechos-los-nuggets-de-pollo/>
- Polizer, Y. J., Pompeu, D., Hirano, M. H., De Alvarenga Freire, M. T., y Trinidad, M. A. (2015). Desarrollo y evaluación de nuggets de pollo con reemplazo parcial de carne y grasa por fibra de guisante. *Revista Brasileña de Tecnología de Alimentos*, Versión en línea ISSN 1981-6723 [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1981-67232015000100062&lang=es](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232015000100062&lang=es).
- Ramírez, D. (5 de Septiembre de 2018). *Aprende acerca de la Soya*. Obtenido de Sitio Web de Gastronomía: <https://ecuador.gastronomia.com/noticia/8261/aprende-acerca-de-la-soya>
- Ramos, B. (2020). *“Obtención de colorante natural a partir de la remolacha forrajera (Beta vulgaris L. ssp. Vulgaris var crassa) para teñido de fibra de ovino”*. Tesis pregrado. Pano: Universidad Nacional del Altiplano.
- Reglamento de Registro y Control Sanitario. (21 de Febrero de 2013). *Reglamento de Registro y Control Sanitario*. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de Reglamento de Registro y Control Sanitario: <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/REGLAMENTO-DE-REGISTRO-Y-CONTROL-SANITARIO-DE-ALIMENTOS.pdf>
- Ridner, E. (2015). *Soja, propiedades nutricionales y su impacto en la salud*. Buenos Aires, Argentina: Grupo Q S.A.:Sociedad Argentina de Nutrición.
- Rodríguez, F. (27 de Enero de 2014). *Beneficios de la carne de soja* . Obtenido de Sitio de Web de Ecoosfera: <https://ecoosfera.com/2014/01/que-tan-saludable-es-la-soya-7-cosas-que-debes-saber-de-esta-proteina/>

- Salabert, E. (14 de Agosto de 2019). *Soja: el regalo de los dioses*. Obtenido de Sitio de web de Revsita de salud y bienestar: <https://www.webconsultas.com/dieta-y-nutricion/dieta-equilibrada/alimentos-funcionales/la-soja/que-es-3331>
- Salazar, A. (2016). *Implementación del Método Kjeldahl para la determinación de proteína para diferentes matrices en el laboratorio ECUACHEMLAB CÍA. LTDA*. Ambato.
- Schuch, A., Da Silva, A., Kalschne, D., Silva Buzanello, R., Corso, M., y Canan , C. (2019). Los atributos de empaquetado de nuggets de pollo afectan la intención de compra del consumidor. *Ciencia y tecnología de alimentos*, Versión en línea ISSN 1678-457X [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612019000500152&lang=es](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612019000500152&lang=es).
- Somolinos, E. (1 de Noviembre de 2018). *¿En qué me ayuda comer Remolacha?* Obtenido de Sitio Web de Aucal Business School: <https://www.aucal.edu/blog/dietetica-nutricion/en-que-me-ayuda-comer-remolacha/>
- Torrenegra Alarcón, M., Villalobos Lagares, O., Castellar Abello, E., León Méndez, G., y Granados Conde, C. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante de las pulpas de *Rubus glaucus* B, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1 - 8.
- Torres, N., y Tovar, A. (2017). La historia del uso de la soja, su valor nutricional y su efecto en la salud. *Salud pública de México*, 246-254.
- Unidos Por Los Derechos Humanos . (14 de octubre de 2020). *Artículo 25 de la Declaración Universal de los Derechos Humanos*. (Unidos Por Los Derechos Humanos) Recuperado el 14 de octubre de 2020, de Unidos Por Los Derechos Humanos: <https://www.unidosporlosderechoshumanos.mx/>

course/lesson/articles-19-25/read-article-25.html#:~:text=Toda%20persona%20tiene%20derecho%20a,de%20desempleo%2C%20enfermedad%2C%20invalidez%2C

Valencia, R. (2016). Origen, taxonomía y morfología de la soya. *Agrosavia, Corporación Colombiana de investigación agropecuaria*, 59 - 64. Recuperado el 14 de octubre de 2020

Valencia, R. (2016). *Soya (glycine Max (l.) Merrill" Alternativa Para Los Sistemas de Produccion*. Villacencio, Colombia: Editora Guadalupe DC.

Valencia, R., y Garzón, V. (2014). *Potencialidades de la Soya y usos en la alimentacion humana y animal*. Villavicencio, Meta, Colombia: Litografía La Bastilla.

Vergara Diaz, N., Orellana Intriago, F., Vizqueta Tomalá, V., Mata Lopez, D., Bernal Paredes, D., y San Andres Reyes, P. (1 de Noviembre de 2016). El cultivo de soya y su importancia para el Ecuador. *INNOVA Research Journal*, 78. Recuperado el 14 de octubre de 2020, de <https://revistas.uide.edu.ec/index.php/innova/article/view/110/1499>

## 9. Anexos

### 9.1 Anexo 1. Escala hedónica

Fecha: \_\_\_\_\_

#### Instrucciones para la escala hedónica

De acuerdo a la escala hedónica de 4 puntos, califique los parámetros de los siguientes atributos: Color, Olor, Sabor y Textura que se presentan en la siguiente muestra:

Escala de Evaluación	
1	No me gusta
2	Ni me gusta ni me disgusta
3	Me gusta
4	Me gusta muchísimo

	Color	Olor	Sabor	Textura
2304				

	Color	Olor	Sabor	Textura
1006				

	Color	Olor	Sabor	Textura
0717				

Observaciones:

¡Gracias por su colaboración!

---

Figura 12. Ficha de evaluación sensorial con escala de 4 puntos.  
Banchón, 2020

## 9.2 Anexo 2. Evidencias fotográficas



Figura 13. Preparación y mezcla de ingredientes para los *nuggets*  
Banchón, 2020



Figura 14. Codificación de los tres tratamientos  
Banchón, 2020



Figura 15. Empacado de los tratamientos para degustación a panelistas Banchón, 2020



Figura 16. Ejecución del análisis sensorial Banchón, 2020



Figura 17. Degustación de los *nuggets* para los panelistas Banchón, 2020



Figura 18. Degustación y evaluación de los panelistas Banchón, 2020



Figura 19. Degustación y evaluación de los panelistas Banchón, 2020



Figura 20. Degustación y evaluación de los panelistas Banchón, 2020

### 9.3 Anexo 3. Resultados de análisis de varianza evaluación de atributos

#### RESULT.COLOR

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RESULT.COLOR	90	0,04	0,02	27,71

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,02	2	1,01	1,71	0,1874
TRATAMIENTOS	2,02	2	1,01	1,71	0,1874
Error	51,53	87	0,59		
Total	53,56	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,47384

Error: 0,5923 gl: 87

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	2,57	30	0,14 A
T2	2,87	30	0,14 A
T3	2,90	30	0,14 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Figura 21. Resultados *Infostat* de color  
Banchón, 2020

#### RESULT.OLOR

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RESULT.OLOR	90	0,06	0,03	24,81

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,49	2	1,24	2,54	0,0849
TRATAMIENTOS	2,49	2	1,24	2,54	0,0849
Error	42,67	87	0,49		
Total	45,16	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,43115

Error: 0,4904 gl: 87

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	2,60	30	0,13 A
T2	2,87	30	0,13 A
T3	3,00	30	0,13 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Figura 22. Resultados *Infostat* de olor  
Banchón, 2020

### RESULT. SABOR

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RESULT.SABOR	90	0,13	0,11	29,06

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,62	2	4,31	6,41	0,0025
TRATAMIENTOS	8,62	2	4,31	6,41	0,0025
Error	58,53	87	0,67		
Total	67,16	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,50500

Error: 0,6728 gl: 87

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1	2,40	30	0,15	A
T3	2,93	30	0,15	B
T2	3,13	30	0,15	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Figura 23. Resultados *Infostat* de sabor  
Banchón, 2020

### RESULT. TEXTURA

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RESULT.TEXTURA	90	0,02	0,00	25,43

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,80	2	0,40	0,74	0,4821
TRATAMIENTOS	0,80	2	0,40	0,74	0,4821
Error	47,30	87	0,54		
Total	48,10	89			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,45396

Error: 0,5437 gl: 87

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1	2,77	30	0,13	A
T3	2,97	30	0,13	A
T2	2,97	30	0,13	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Figura 24. Resultados *Infostat* de textura  
Banchón, 2020

## 9.4 Anexo 4. Informe de Resultados Bromatológicos



**LABORATORIO LASA**  
LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

### INFORME DE RESULTADOS

INF.LASA 11-09-20-2544  
ORDEN DE TRABAJO No. 20-2967

INFORMACIÓN DEL CLIENTE			
SOLICITADO POR: BANCION GARCIA KELLY MICHELLE		DIRECCIÓN: 16 Y DOMINGO SABIDO	
TELÉFONO/FAX: 044605722	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO	PROCEDENCIA: GUAYAQUIL	
IDENTIFICACIÓN: NUGGETS DE SOYA CON PULPA DE REMOLACHA		CÓDIGO INICIAL: MI - FE: 01/09/2020	

*Información suministrada por el cliente*

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: --	INGRESO AL LABORATORIO: 04/09/2020	
FECHA DE ANÁLISIS: 04-11/09/2020	FECHA DE ENTREGA: 11/09/2020	NÚMERO DE MUESTRAS: Una (1)	
CÓDIGO DE MUESTRA: 20-8870		REALIZACIÓN DE ENSAYOS: LABORATORIO	

### ANÁLISIS FÍSICO - QUÍMICO

ITEM	PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	<sup>(1)</sup> VALORES DE REFERENCIA	INCERTIDUMBRE U (k=2)	MÉTODO DE ENSAYO
1	GRASA	%	2,90	Máx. 2	-	<sup>b</sup> PEELASA.FQ.10b GRAVIMÉTRICO *
2	HUMEDAD	%	64,5	Máx. 9	-	<sup>b</sup> PEELASA.FQ.10a GRAVIMÉTRICO *
3	PROTEÍNA (E 6,25)	%	45,0	Mín 46,5	-	<sup>b</sup> PEELASA.FQ.11 KJELDAHL *

<sup>(1)</sup> Valores de referencia tomado de Especificación del cliente - Harina de soja - Desgrasada o Hi-Pro.  
Los ensayos marcados con \* NO están incluidos en el alcance de acreditación del SAE  
Los ensayos marcados con (b) NO están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.



DR. MARCO GUJARDO  
GERENTE DE LABORATORIO

Prohibida la reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.  
LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio.  
Los criterios de conformidad serán emitidos solamente si el cliente lo solicita por escrito.  
El laboratorio se compromete con la imparcialidad y Confidencialidad de la información y los resultados (la aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al texto y declarada en [www.laboratoriolasa.com](http://www.laboratoriolasa.com))

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 / 2269-012  
Juan Ignacio Pareja OES-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 2290-815 • Celular: 099 9236 287  
e-mail: [info@laboratoriolasa.com](mailto:info@laboratoriolasa.com) • web: [www.laboratoriolasa.com](http://www.laboratoriolasa.com) • Quito - Ecuador



Figura 25. Resultados otorgados por laboratorio acreditado Lasa, 2020

## 9.5 Anexo 5. Informe de Resultados Microbiológicos



**LABORATORIO LASA**  
LABORATORIO DE ANALISIS DE ALIMENTOS  
Y PRODUCTOS PROCESADOS

LABORATORIO DE  
ENSAYO ACREDITADO  
POR EL SAE CON  
ACREDITACIÓN  
N° SAE LEN 06-002




ACCREDITED  
CERT #5224.01  
CERT #5224.02

### INFORME DE RESULTADOS

NF.LASA 14/09/2020 -4958  
ORDEN DE TRABAJO N° 20-2967

DATOS DEL CLIENTE	
SOLICITANTE: BANCHON GARCIA KELLY MICHELLE	DIRECCIÓN: 16 Y DOMINGO SABIO
TELÉFONO: 044605722	TIPO DE MUESTRA: ALIMENTO

INFORMACIÓN SUMINISTRADA POR EL CLIENTE	
IDENTIFICACIÓN: NUGGETS DE SOYA CON PULPA DE REMOLACHA F.ELAB: 01/09/2020 200g	PROCEDENCIA: GUAYAQUIL

DATOS DEL LABORATORIO			
MUESTREO POR: SOLICITANTE	FECHA DE MUESTREO: -	NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)	
FECHA DE RECEPCIÓN: 04/09/2020	FECHA DE ANÁLISIS: 04 AL 11/09/2020	FECHA DE ENTREGA: 14/09/2020	
CÓD. MUESTRA: 20-8870	REALIZACIÓN DEL ENSAYO: LABORATORIO		

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	VALORES DE REFERENCIA	INCERTIDUMBRE %U (K=2)	MÉTODOS DE ENSAYO
COLIFORMES FECALES	nmp/g	<3	<3	-	PEE/LASA/MB/09 b BAM CAP 4 Ed 2017 (b)*
RECuento EN PETRIFILM ESCHERICHIA COLI	ufc/g	<10	-	± 10	PEE/LASA/MB/20 AOAC 991.14 Ed 20, 2016 (a)

Los ensayos marcados con (a) están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.  
 Los ensayos marcados con (b) no están incluidos en el alcance de acreditación de A2LA.  
 Los ensayos marcados con (\*) están fuera del alcance de acreditación de SAE.  
 \*Valores de referencia tomados de Especificaciones del cliente.  
 NOTA: El resultado obtenido cumple con el valor de referencia.

Firmado digitalmente por Marco Guijarro  
 Nombre de conocimiento (DN): cn=Marco Guijarro, o=Laboratorio LASA, ou=Gerencia, email=marco\_guijarro@laboratoriolas.com, c=EC  
 Fecha: 2020.09.14 14:50:59 -05'00'

**Marco Guijarro**  
**Dr. Marco Guijarro Ruales**  
**GERENTE DE LABORATORIO**

Prohibida la reproducción parcial por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.  
 Lasa se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida por el laboratorio.  
 El laboratorio se compromete con la imparcialidad y confiabilidad de la información y los resultados.  
 La aceptación de este informe implica la aceptación de la política relativa al tema, y declarada en [www.laboratoriolas.com](http://www.laboratoriolas.com).  
 Los criterios de conformidad serán emitidos solamente al cliente lo solicita por escrito. Pág. 3 de 3

Av. de la Prensa N53-113 y Gonzalo Gallo • Teléfonos: 2469- 814 /2269-012  
 Juan Ignacio Pareja OE5-97 y Simón Cárdenas • Teléfono: 290-815 • Celular: 099 9236 287  
 e-mail: info@laboratoriolas.com • web: www.laboratoriolas.com • Quito - Ecuador






Figura 26. Resultados otorgados por laboratorio acreditado Lasa, 2020

## 9.6 Anexo 6. Método Oficial de la AOAC para la soya

### 4.2.11

#### AOAC Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds

Block Digestion Method Using Copper Catalyst  
and Steam Distillation into Boric Acid  
First Action 2001

[Applicable to the determination of 0.5–50% Kjeldahl N (3–300% equivalent crude protein) in forage, animal feed and pet food, grain, and oilseeds, and applicable to the same matrices as 976.05 (4.2.05), 976.06 (4.2.06), 984.13 (4.2.09), 988.05 (4.2.03), and 990.03 (4.2.07); the method does not measure oxidized forms of N or heterocyclic N compounds.]

See Tables 2001.11A and B for the results of the interlaboratory study, expressed on a protein basis (N × 6.25), supporting acceptance of the method.

#### A. Principle

The material is digested in  $H_2SO_4$  to convert the protein N to  $(NH_4)_2SO_4$  at a boiling point elevated by the addition of  $K_2SO_4$  with a Cu catalyst to enhance the reaction rate. Ammonia is liberated by alkaline steam distillation and quantified titrimetrically with standardized acid. Aluminum block heaters increase the efficiency of the digestion.

The digest must contain residual  $H_2SO_4$  to retain the  $NH_4$ . Water is added manually or automatically to the digest to avoid mixing concentrated alkali with concentrated acid and to prevent the digest from solidifying. Concentrated NaOH is added to neutralize the acid and make the digest basic, and the liberated  $NH_3$  is distilled into a boric acid solution and titrated with a stronger standardized acid, HCl, to a colorimetric endpoint. The same endpoint detection system (e.g., indicator, wavelength) must be used for the standardization of the HCl and for the analyte.

The analyte is referred to as “crude” protein because the method determines N, a component of all proteins. In addition, N from sources other than true protein is also determined. (Additional diges-

tion procedures must be used in order to include N from nitrate.) The amount of protein in most materials is calculated by multiplying %N by 6.25, because most proteins contain 16% N.

The  $H_2SO_4$  and NaOH used are in concentrated form and are highly corrosive. Wear gloves and eye protection while handling the chemicals. Do not mix concentrated acid and NaOH directly. If chemicals are splashed on the skin or in the eyes, flush with copious amounts of water. Seek medical attention. Do not breathe the sulfur oxide fumes produced during digestion.

#### B. Apparatus

(a) *Digestion block*.—Aluminum alloy block with adjustable temperature device for measuring and controlling block temperature (Tecator Digestion System 20, 1015 Digestor, Foss North America, 7682 Executive Dr, Eden Prairie, MN 55344, USA; +1-952-974-9892, Fax: +1-952-974-9823, info@fosnorthamerica.com, or equivalent).

(b) *Digestion tubes*.—250 mL.

(c) *Distillation units*.—(1) *For steam distillation*.—Foss Tecator 2200, or equivalent, to accept 250 mL digestion tubes and 500 mL titration flasks. (2) *For steam distillation and auto-titration*.—Foss Tecator 2300, or equivalent.

(d) *Titration flask*.—500 mL graduated Erlenmeyer flask (for collection and titration of distillate).

(e) *Fume exhaust manifold*.—With Teflon ring seals, connected to a water aspirator in a hooded sink.

(f) *Weighting paper*.—Low N, Alfic Packers No. 201 (Alfic Packers, Inc., 8001 J St, Ste 10, Omaha, NE 68127, USA), or Fisher 00-898-12A, 3 X3 in. (76 X 76 mm), or equivalent.

(g) *Pipetting dispenser*.—25 mL, adjustable volume, attached to a 5 pint (2.4 L) acid bottle.

#### C. Reagents

(a) *Sulfuric acid*.—Concentrated, 95–98%  $H_2SO_4$ , reagent grade.

Table 2001.11A Interlaboratory study results for the determination of crude protein by block digestion with a copper catalyst and distillation into 4% boric acid

ID	No. of labs <sup>a</sup>	Mean, %	RSD <sub>1</sub> , %	RSD <sub>2</sub> , %	HORRAT
Protein block	10(1)	40.19	0.45	0.78	0.333
Swine pellets	10(1)	37.04	0.47	0.60	0.298
Corn silage	11	7.10	1.84	2.18	0.728
Grass hay	11	7.11	1.94	1.94	0.850
Fish meal	11	64.87	0.73	0.98	0.480
Dog food	11	24.50	0.87	0.91	0.389
Chinchilla food	11	18.01	0.89	0.99	0.383
Albumin	10(1)	79.14	0.40	0.44	0.212
Birdseed	11	13.48	0.88	1.29	0.475
Meal and bone meal	11	50.08	1.00	1.00	0.557
Milk replacer	11	20.78	1.39	1.39	0.590
Soybeans	9(2)	38.76	0.49	0.54	0.236
Sunflower seeds	11	17.43	2.38	2.38	0.918
Legume hay	11	18.81	1.45	1.45	0.585

<sup>a</sup> Each value is the number of laboratories retained after elimination of outliers; each value in parentheses is the number of laboratories removed as outliers.

Figura 27. Técnica para determinar proteína en la soya  
AOAC, 2002

Table 2001.115 Interlaboratory study results for the recovery of nitrogen from standard compounds by block digestion with a copper catalyst and distillation into boric acid

Compound	No. of labs <sup>a</sup>	Theoretical yield, % N	Avg. found, % N	Avg. rec., %	RSD <sub>0</sub> , %	HORRAT
Acetanilid	10(0)	10.26	10.27	100.1	1.20	0.53
Lysine-HCl	10(0)	13.24	13.22	99.8	4.16	1.53
Tryptophan	10(0)	13.72	13.55	98.8	1.04	0.29

<sup>a</sup> Each value is the number of laboratories retained after elimination of outliers; each value in parentheses is the number of laboratories removed as outliers.

(b) *Catalyst*.—7.0 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.8 g CuSO<sub>4</sub> (Commercially available in tablet form as 3.5 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 0.4 g CuSO<sub>4</sub> per tablet.)

(c) *Sodium hydroxide solution*.—40% (w/w) NaOH, low N (±5 µg N/g).

(d) *Methyl red indicator solution*.—Dissolve 100 mg methyl red in 100 mL methanol.

(e) *Bromocresol green indicator solution*.—Dissolve 100 mg bromocresol green in 100 mL methanol.

(f) *Boric acid solution*.—4% (w/v). Dissolve 400 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> in 5–6 L hot deionized water. Mix and add more hot deionized water to a volume of about 9 L. Cool to room temperature, add 100 mL bromocresol green solution and 70 mL methyl red solution, and dilute to a final volume of 10 L. Adjust to obtain a positive blank of 0.05–0.15 mL with 30 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> solution, using 0.1M NaOH (to increase blank) or 0.1M HCl (to decrease blank). Commercially available.

(g) *Boric acid solution*.—1% (w/v). (Optional trapping solution for titrators that automatically begin titration when distillation begins.) Dissolve 100 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> in 5–6 L hot deionized water, mix, and add more hot deionized water to a volume of about 9 L. Cool to room temperature, add 100 mL bromocresol green solution and 70 mL methyl red solution, and dilute to a final volume of 10 L. Commercially available.

(h) *Hydrochloric acid standard solution*.—0.1000M. Prepare as in 936.15 (see A.1.06) or use premade solution of certified specification range 0.0995–0.1005M, and use 0.1000M for calculation. Commercially available.

(i) *Reference standards*.—Ammonium sulfate, tryptophan, lysine-HCl, or glycine *p*-toluenesulfonic acid, for use as standard, 99.9%.  
(j) *Sucrose*.—N-free.

#### D. Preparation of Analytical Sample

Grind dry laboratory sample to fineness of grind (ca 0.7–1 mm), which gives a relative standard deviation (RSD) of ≤2.0% for 10 successive determinations of N in ground mixture of corn grain and soybeans (2 + 1). Fineness required to achieve this precision must be used for all dry mixed feeds and other nonuniform materials. Mix liquids to uniformity.

#### E. Determination

(a) *Digestion*.—Turn on block digester and heat to 420°C. Weigh materials, as indicated below, recording each test portion weight (W) to the nearest mg for weights of ≥1 g, and to the nearest 0.1 mg for weights of <1.0 g. Do not exceed 1.2 g. For materials with 3–25% protein, weigh approximately 1.0 g test portion; with 25–50% protein, approximately 0.5 g test portion; and >50% protein, approximately 0.3 g test portion.

(1) *Dry feed, forage, cereal, grains, oilseeds*.—Weigh 1 g test portion of ground, well-mixed test portion onto a tared, low N weighing

paper. Fold paper around material and drop into a numbered Kjeldahl tube.

(2) *Liquid feed*.—Weigh slightly >1 g test portion of well-mixed analytical sample into a small tared beaker. Quantitatively transfer to a numbered Kjeldahl tube with <20 mL deionized water. Alternatively, weigh slightly >1 g well-mixed test portion into a small tared beaker. Transfer to a numbered Kjeldahl tube and reweigh beaker. The differential weight loss corresponds to the amount of test portion actually transferred to the tube.

(b) *Standards*.—Perform quality control analysis and analysis of standards with each batch. The standards available from Hach Co. (PO Box 389, Loveland, CO 80539, USA; +1-800-227-4224 or +1-970-669-3050), Sigma (St. Louis, MO), J.T. Baker (Phillipsburg, NJ), the National Institute of Standards and Technology (NIST; Gaithersburg, MD) are listed in Table 2001.11C.

The various ammonium salts and glycine *p*-toluenesulfonate serve primarily as a check on distillation efficiency and accuracy in titration steps because they are digested very readily. Lysine and nicotinic acid *p*-toluenesulfonate serve as a check on digestion efficiency because they are difficult to digest.

Include a reagent blank tube containing a folded low N weighing paper with each batch.

(c) *Digestion*.—Add 2 catalyst tablets to each tube. Add 12 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> to each tube, using pipetting dispenser; add 15 mL for high fat materials (>10% fat). Mixtures may be held overnight at this point. If mixture foams, slowly add 3 mL 30–35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Let reaction subside in perchloric acid fume hood or in exhaust system.

Attach heat side shields to tube rack. Place fume manifold tightly on tubes, and turn water aspirator on completely. Place rack of tubes in preheated block. After 10 min, turn water aspirator down until acid fumes are just contained within exhaust hood. A condensation zone should be maintained within the tubes. After bulk of sulfur oxide fumes are produced during initial stages of digestion, reduce vacuum source to prevent loss of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Digest additional 30 min. Total digestion time is approximately 60 min.

Turn digester off. Remove rack of tubes with exhaust still in place, and put in the stand to cool for 10–20 min. Cooling can be increased by using commercial air blower or by placing in hood with hood sash pulled down to increase airflow across tubes. When fuming has stopped, remove manifold, and shut off aspirator. Remove side shields. Let tubes cool. Wearing gloves and eye protection, predilute digests manually before distilling. Carefully add a few milliliters of deionized water to each tube. If spattering occurs, the tubes are too hot. Let cool for a few more minutes. Add water to each tube to a total volume of approximately 30 mL (liquid level should be about half way between the 2 shelves of the tube rack). This is a convenient stopping point.

If digest solidifies, place tube containing diluted digest in block digester, and carefully warm with occasional swirling until salts dis-

Table 2001.11C Standards

Standard	Approximate weight, g	Theoretical yield, % N
Ammonium <i>p</i> -toluenesulfonate (Tech 22779-34)	0.5	7.402
Glycine <i>p</i> -toluenesulfonate (Tech 22750-34)	0.5	5.655
Nicotinic acid <i>p</i> -toluenesulfonate (Tech 22751-34)	0.2	4.743
Lysine monohydrochloride (Sigma L-5525)	0.1	15.34
Acetanilide (Baker A055-05)	0.3	10.35
Tryptophan (Sigma T 5552)	0.2	12.72
Ammonium salts		
Diammonium hydrogen phosphate (100% assay)	0.2	21.21
Ammonium chloride (100% assay)	0.2	26.15
Ammonium sulfate (100% assay)	0.2	21.2
Ammonium dihydrogen phosphate (NIST 200)	0.2	12.15
Citrus leaves (NIST 1572)	1.0	2.55
Urea (NIST 2141)	0.1	45.53

solvent. If distilling unit equipped with steam addition for equilibration is used, the manual dilution steps can be omitted. About 70 mL deionized water is then automatically added during the distillation cycle.

(c) *Dilution*.—Place 40% NaOH in alkali tank of distillation unit. Adjust volume dispensed to 50 mL. Attach digestion tube containing diluted digest to distillation unit, or use automatic dilution feature, if available. Place graduated 500 mL Erlenmeyer titration flask containing 30 mL  $H_3BO_3$  solution with indicator on receiving platform, and immerse tube from condenser below surface of  $H_3BO_3$  solution. (When an automatic titration system is used that begins ti-

tration immediately after distillation starts, 1%  $H_3BO_3$  may be substituted.) Steam distill until  $\approx 150$  mL distillate is collected ( $\approx 180$  mL total volume). Remove receiving flask. Titrate  $H_3BO_3$  receiving solution with standard 0.1000M HCl to violet endpoint (just before the solution goes back to pink). Lighted stir plate may aid visualization of endpoint. Record milliliters of HCl to at least the nearest 0.05 mL.

This is done automatically by using a steam distiller with automatic titration. Follow the manufacturer's instructions for operation of the specific distiller or distiller/titrator.

#### F. Verification of Nitrogen Recovery

Run N recoveries to check accuracy of procedure and equipment.

(a) *Nitrogen loss*.—Use 0.12 g  $(NH_4)_2SO_4$  and 0.67 g sucrose per flask. Add all other reagents as in E, and distill under same conditions as in E. Recoveries must be  $\geq 99\%$ .

(b) *Distillation and titration efficiency*.—Distill 0.12 g  $(NH_4)_2SO_4$ , omitting digestion. Recoveries must be  $\geq 99.5\%$ .

(c) *Digestion efficiency*.—Use 0.3 g acetanilide or 0.18 g tryptophan, with 0.67 g sucrose per flask. Add all other reagents as stated in E. Digest and distill under same conditions as used for a determination. Recoveries must be  $\geq 98\%$ .

#### G. Calculations

$$\text{Kjeldahl nitrogen, \%} = \frac{(V_a - V_b) \times M \times 14.01}{W \times 10}$$

$$\text{Crude protein, \%} = \% \text{ Kjeldahl N} \times F$$

where  $V_a$  = volume (mL) of standardized acid used to titrate a test;  $V_b$  = volume (mL) of standardized acid used to titrate reagent blank;  $M$  = molarity of standard HCl; 14.01 = atomic weight of N;  $W$  = weight (g) of test portion or standard; 10 = factor to convert mg/g to percent; and  $F$  = factor to convert N to protein.

F factors are 5.70 for wheat, 6.38 for dairy products, and 6.25 for other feed materials.

Reference: *J. AOAC Int.* (future issue).

Figura 29. Técnica para determinar proteína en la soya  
AOAC,2002

## 9.7 Anexo 7. Norma técnica para determinación de Humedad

CDU: 633.1-543.812			AG 05.04-301
<b>Norma Técnica Ecuatoriana</b>	<b>GRANOS Y CEREALES. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD. (METODO DE RUTINA)</b>	<b>INEN 1 235</b>	1987-01
<b>1. OBJETO</b>			
1.1 Esta norma establece el método de rutina para la determinación del contenido de humedad en granos y cereales.			
<b>2. ALCANCE</b>			
2.1 Este método se aplica a los productos siguientes: trigo, arroz, cebada, mijo, granos de avena, granos molidos, semolina y/o harina de trigo.			
2.2 Este método no es aplicable al maíz en grano.			
<b>3. DEFINICION</b>			
3.1 <b>Humedad en granos y cereales.</b> Es la cantidad de agua contenida en una masa de granos y se expresa en porcentaje.			
<b>4. APARATOS</b>			
4.1 <b>Balanza analítica.</b> Sensible al 0,1 mg			
4.2 <b>Aparato para reducir la presión</b> entre 1,3 a 2,6 kPa (13 a 26 mba o sea 10 a 20 mm Hg), por ejemplo, una bomba de agua.			
4.3 <b>Molino.</b> Construido de un material que no absorba humedad, fácil de limpiar y que presenta el menor espacio muerto posible. Debe permitir una trituration uniforme sin provocar calentamiento sensible, que evite al máximo el contacto con el aire exterior y que sea regulable para que pueda obtenerse el tamaño de partícula deseado.			
4.4 <b>Tamices de ensayo.</b> No. 12 (1,70 mm), No. 18 (1,00 mm) y No. 35 (0,5 mm) o (500 um) Norma INEN 1 515.			
4.5 <b>Cápsula de metal.</b> No corrosible o de vidrio, provisto de tapa que ajuste bien y cuya superficie útil permita repartir la muestra a razón de 0,3 g/cm <sup>2</sup> como máximo.			

Figura 30. Método para determinar humedad en granos y cereales INEN, 2013

## 6.2 Productos que necesitan trituración

### 6.2.1 Sin acondicionamiento

- La cápsula metálica y su tapa calentar a 130 – 133° C durante 30 minutos, enfriar en el desecador y pesar.
- Triturar la muestra (ver 4.3).
- En la cápsula pesar con aproximación al 0,1mg 5 g de la muestra triturada y colocar en la estufa, juntamente con la tapa de la misma.
- Proceder como en los incisos d, e y f del numeral 6.1.

### 6.2.2 Con acondicionamiento

- La cápsula metálica y su tapa, calentar a 130 – 130° C durante 30 minutos, enfriar en el desecador y pesar.
- Pesar con aproximación al 0,1 mg , 5g de la muestra.
- Acondicionar la muestra según el inciso b) del numeral 5.2 y luego pesar con exactitud la muestra acondicionada.
- Triturar la muestra (ver 4.3).
- En la cápsula, pesar con aproximación al 0,1 mg la mayor cantidad posible de muestra triturada; colocar en la estufa, juntamente con la tapa de la misma.
- Proceder como en los incisos d, e y f del numeral 6.1.

## 7. CALCULOS

7.1 El contenido de la humedad en la muestra de granos y cereales, se expresa en porcentaje en masa, aproximado el resultado a 0,05 por 100 g de muestra y se obtiene de acuerdo a las fórmulas siguientes:

- Cuando se parte de una muestra que no necesita trituración:

$$H = (m_o - m_s) \times \frac{100}{m_o}$$

Siendo:

H = humedad en porcentaje de masa  
 $m_o$  = masa de la muestra inicial, en gramos  
 $m_s$  = masa de la muestra seca, en gramos

- Cuando se parte de una muestra que necesita trituración: sin acondicionamiento.

$$H = (m_i - m_s) \times \frac{100}{m_i}$$

Siendo:

H = humedad en porcentaje de masa  
 $m_i$  = masa de la muestra triturada, en gramos  
 $m_s$  = masa de la muestra seca, en gramos

Figura 31. Método para determinar humedad en granos y cereales  
 INEN, 2013

**4.6 Estufa.** Con regulador de temperatura, ajustada a 130° - 133° C y que alcance 131° C en aproximadamente 30 minutos, cuando tenga en su interior el número máximo de muestras de ensayo que se pueda secar simultáneamente.

**4.7 Desecador.** Conteniendo anhídrido fosfórico (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) o sulfato de calcio anhidro (CaSO<sub>4</sub>), granulado e impregnado con cloruro de cobalto como indicador, o cualquier otro deshidratante adecuado.

## 5. PREPARACION Y ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA

### 5.1 Preparación de la muestra

- a) *Productos que no necesitan trituración.* Los productos cuyas partículas son de dimensiones inferiores o iguales a 1,70 mm, de los cuales menos del 10% en masa son superiores a 1,00 mm y más del 50% en masa son inferiores a 0,5 mm, no necesitan ser triturados.
- b) *Productos que necesitan trituración.* Si la muestra no reúne las características granulométricas citadas anteriormente, es necesario triturarla sin o con acondicionamiento previo según su contenido de humedad.

### 5.2 Acondicionamiento de la muestra

- a) *Productos que no necesitan acondicionamiento.* Los productos cuya humedad se encuentra entre 7 y 17% no necesitan acondicionamiento para triturarlos, porque durante dicha operación su contenido de humedad no sufre variación apreciable.
- b) *Productos que necesitan acondicionamiento.* Si la humedad del producto antes de la trituración es inferior al 7%, se humedece la muestra tomada para el análisis, colocándola en una atmósfera adecuada para elevar su humedad entre el 7 y el 17%, si es superior a 17%, se seca en una estufa a 130° C durante 7 a 10 min, dejándola luego enfriar durante 2h00 como mínimo. De ser posible, la humedad debe quedar entre 9% y un 15%.

## 6. PROCEDIMIENTO CON ESTUFA

### 6.1 Productos que no necesitan trituración

- a) La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada,
- b) La cápsula metálica con su tapa se calienta a 130° - 133° C durante unos 30 minutos, se enfría en el desecador y se pesa.
- c) En la cápsula, pesar con aproximación al 0,1 mg aproximadamente 5 g de la muestra y colocar en la estufa, juntamente con la tapa de la misma.
- d) Llevar la temperatura de la estufa a 130 - 133° C manteniéndola durante 2 horas, tiempo que se cuenta a partir del momento en que la estufa alcanza los 130° C.
- e) Antes de sacar la cápsula de la estufa, colocar la tapa, trasladar al desecador y pesar tan pronto haya alcanzado la temperatura ambiente, aproximadamente entre 30 y 45 minutos, después de colocarse en el desecador.
- f) Calentar de nuevo la cápsula con su contenido durante 2 horas; dejar enfriar en el desecador y pesar. Repetir el procedimiento enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

Figura 32. Método para determinar humedad en granos y cereales  
INEN, 2013

## 9.8 Anexo 8. Método oficial de la AOAC para determinar grasa en alimentos

41.1.28A

### AOAC Official Method 996.06 Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods

Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method  
First Action 1996  
Revised 2001

(Applicable to determination of fat in foods.)

*Caution:* Boron trifluoride may be fatal if inhaled.

See Tables 996.06A–C for the results of the interlaboratory study supporting acceptance of the method.

#### A. Principle

Fat and fatty acids are extracted from food by hydrolytic methods (acidic hydrolysis for most products, alkaline hydrolysis for dairy products, and combination for cheese). Pyrogallol acid is added to minimize oxidative degradation of fatty acids during analysis. Triglyceride, triundecanoic ( $C_{11:0}$ ), is added as internal standard. Fat is extracted into ether, then methylated to fatty acid methyl esters (FAMES) using  $BF_3$  in methanol. FAMES are quantitatively measured by capillary gas chromatography (GC) against  $C_{11:0}$  internal standard. Total fat is calculated as sum of individual fatty acids expressed as triglyceride equivalents. Saturated and monounsaturated fats are calculated as sum of respective fatty acids. Monounsaturated fat includes only *cis* form.

#### B. Apparatus

(a) *Gas chromatograph (GC)*.—Equipped with hydrogen flame ionization detector, capillary column, split mode injector, oven temperature programming sufficient to implement a hold-ramp-hold sequence. Operating conditions: temperature ( $^{\circ}C$ ): injector, 225; detector, 285; initial temp, 100 (hold 4 min); ramp,  $3^{\circ}C/min$ ; final temp 240; hold 15 min; carrier gas, helium; flow rate, 0.75 mL/min; linear velocity, 18 cm/s; split ratio, 200:1.

(b) *Capillary column*.—Separating the FAME pair of adjacent peaks of  $C_{18:3}$  and  $C_{20:1}$  and the FAME trio of adjacent peaks of  $C_{22:1}$ ,  $C_{20:3}$ , and  $C_{20:4}$  with a resolution of 1.0 or greater. SP2560 100 m  $\times$  0.25 mm with 0.20  $\mu m$  film is suitable.

(c) *Mojonnier flasks*.

(d) *Stoppers*.—Synthetic rubber or cork.

(e) *Mojonnier centrifuge basket*.

(f) *Hengar micro boiling grundles*.

(g) *Baskets*.—Aluminum and plastic.

(h) *Shaker water bath*.—Maintaining  $70$ – $80^{\circ}C$ .

(i) *Steam bath*.—Supporting common glassware.

(j) *Water bath*.—With nitrogen stream supply, maintaining  $40 \pm 5^{\circ}C$ .

(k) *Wrist action shaker*.—Designed for Mojonnier centrifuge baskets.

(l) *Mojonnier motor driven centrifuge*.—Optional; maintaining  $600 \times g$ .

(m) *Gravity convection oven*.—Maintaining  $100 \pm 2^{\circ}C$ .

(n) *Vortex mixer*.

(o) *Gas dispersion tubes*.—25 mm, porosity "A," extra coarse, 175  $\mu m$ .

(p) *Three dram vials*.—About 11 mL.

(q) *Phenolic closed top caps*.—With polyvinyl liner, to fit vials.

(r) *Teflon/silicone septa*.—To fit vials.

#### C. Reagents

(a) *Pyrogallol acid*.

(b) *Hydrochloric acid*.—12M and 8.3M. To make 8.3M HCl, add 250 mL 12M HCl to 110 mL  $H_2O$ . Mix well. Store at room temperature ( $20$ – $25^{\circ}C$ ).

(c) *Ammonium hydroxide*.—58% (w/w).

(d) *Diethyl ether*.—Purity appropriate for fat extraction.

(e) *Petroleum ether*.—Anhydrous.

(f) *Ethanol*.—95% (v/v).

(g) *Toluene*.—Nanograde.

(h) *Chloroform*.

(i) *Sodium sulfate*.—Anhydrous.

(j) *Boron trifluoride reagent*.—7%  $BF_3$  (w/w) in methanol, made from commercially available 14%  $BF_3$  solution. Prepare in the hood.

(k) *Diethyl ether-petroleum ether mixture*.—1 + 1 (v/v).

(l) *Triglyceride internal standard solution*.— $C_{11:0}$ -triundecanoic, 5.00 mg/mL in  $CHCl_3$ . Accurately weigh 2.50 g  $C_{11:0}$ -triundecanoic into 500 mL volumetric flask. Add ca 400 mL  $CHCl_3$  and mix until dissolved. Dilute to volume with  $CHCl_3$ . Invert flask at least 10 additional times. Triglyceride internal stan-

Table 996.06A Interlaboratory study results for determination of total fat in food by hydrolytic extraction—gas chromatography

Sample <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	$s_x$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>x</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	No. of labs excluded
Wheat-based cereal	1.96	0.208	0.260	0.582	0.728	10.6	13.3	—
Peanut butter	46.3	0.86	2.37	2.41	6.64	1.85	5.12	2/10
Fish sticks	11.2	0.354	0.541	0.991	1.51	3.14	4.80	2/10
Parmesan cheese	26.5	0.540	4.17	1.51	11.7	2.04	15.8	—
Chocolate cake (baked)	13.3	0.929	1.95	2.60	5.46	7.00	14.7	—
Fruit snack	3.92	0.087	0.146	0.244	0.409	2.22	3.74	1/10
Ground beef	21.9	1.11	1.82	3.11	5.10	5.06	8.32	1/10
Yogurt	1.46	0.131	0.222	0.367	0.622	8.98	15.2	—

<sup>a</sup> Blind duplicates.

<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_x$ .

<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .

<sup>d</sup> Outliers by either Cochran or Grubbs test.

Figura 33. Técnica para determinar grasas en alimentos AOAC, 2002

**Table 996.06A. Interlaboratory study results for determination of total fat in food by hydrolytic extraction—gas chromatography**

Product <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	No. of labs/ outliers	$s_r$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>r</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	HorRat
Wheat-based cereal	1.96	—	0.208	0.260	0.582	0.728	10.6	13.3	3.69
Peanut butter	46.3	10/2	0.86	2.37	2.41	6.64	1.85	5.12	2.28
Fish sticks	11.2	10/2	0.354	0.541	0.991	1.51	3.14	4.80	1.73
Parmesan cheese	26.5	—	0.540	4.17	1.51	11.7	2.04	15.8	6.47
Chocolate cake (baked)	13.3	—	0.929	1.95	2.60	5.46	7.00	14.7	5.43
Fruit snack	3.92	10/1	0.087	0.146	0.244	0.409	2.22	3.74	1.15
Ground beef	21.9	10/1	1.11	1.82	3.11	5.10	5.06	8.32	3.31
Yogurt	1.46	—	0.131	0.222	0.367	0.622	8.98	15.2	4.03

<sup>a</sup> Blind duplicates.<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_r$ .<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .**D. Extraction of Fat**

Finely grind and homogenize test samples prior to extraction of fat.

[Note: With matrixes of unknown composition, it may be necessary to analyze test portion without addition of internal standard to ensure against interferences. Should interfering peak be found, the area of C<sub>11</sub> internal standard peak must be corrected before performing calculations. Use 2.0 mL chloroform instead of internal standard solution.]

(a) *Foods excluding dairy products and cheese.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(I). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 10.0 mL 8.3M HCl and mix well. Place flask into basket in shaking water bath at 70°–80°C set at moderate agitation speed. Maintain 40 min. Mix contents of flask on Vortex mixer every 10 min to incorporate particulates adhering to sides of flask into solution. After digestion, remove flask from bath and allow to cool to room temperature (20°–25°C). Add enough ethanol to fill bottom reservoir of flask and mix gently.

(b) *Dairy products.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(I). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 4.0 mL H<sub>2</sub>O and mix well. Add 2.0 mL NH<sub>4</sub>OH, C(c), and mix well. Place flask into basket in shaking water bath at 70°–80°C set at moderate agitation speed. Maintain 10 min. Mix contents of flask on Vortex mixer every 5 min to incorporate particulates adhering to sides of flask into solution. After digestion, remove flask from water bath and add a few drops of phenolphthalein. Keep solution basic (pink) with addition of ammonium hydroxide. Add enough ethanol to fill bottom reservoir of flask and mix gently.

(c) *Cheese.*—Accurately weigh ground and homogenized test portion (containing ca 100–200 mg fat) into labeled Mojonnier flask. Force material into flask as far as possible. Add ca 100 mg pyrogalllic acid, C(a), and 2.00 mL triglyceride internal standard solution, C(I). Add a few boiling granules to flask. Add 2.0 mL ethanol and mix well until entire test portion is in solution. Add 4.0 mL H<sub>2</sub>O and mix well. Add 2.0 mL NH<sub>4</sub>OH, C(c), and mix well.

**Table 996.06B. Interlaboratory study results for determination of saturated fat in food stuffs by hydrolytic extraction—gas chromatography**

Product <sup>a</sup>	$\bar{x}$ , %	No. of labs/ outliers	$s_r$	$s_R$	$r^b$	$R^c$	RSD <sub>r</sub> , %	RSD <sub>R</sub> , %	HorRat
Wheat-based cereal	0.493	10/0	0.0391	0.0522	0.109	0.146	7.92	10.6	2.39
Peanut butter	8.72	10/1	0.257	1.81	0.720	5.07	2.95	20.7	7.18
Fish sticks	3.00	10/1	0.223	0.572	0.624	1.60	7.44	19.1	5.64
Parmesan cheese	17.4	—	0.311	2.46	0.871	6.89	1.79	14.1	5.42
Chocolate cake (baked)	3.56	—	0.171	0.304	0.479	0.851	4.81	8.55	2.59
Fruit snack	1.27	10/2	0.0242	0.0362	0.0678	0.101	1.90	2.83	0.74
Ground beef	9.98	10/1	0.636	1.39	1.78	3.89	6.38	13.9	4.92
Yogurt	0.986	—	0.119	0.170	0.333	0.476	12.1	17.2	4.30

<sup>a</sup> Blind duplicates.<sup>b</sup>  $r = 2.8 \times s_r$ .<sup>c</sup>  $R = 2.8 \times s_R$ .

Table 996.06D Retention time of fatty acids and methyl ester (FAME)

Fatty acid	Retention time, min	Relative retention times (to 11:0 int. std.)
4:0 Butyric	10.49	0.46
6:0 Caproic	12.36	0.54
8:0 Caprylic	15.69	0.68
10:0 Capric	20.39	0.89
11:0 Undecanoic	22.99	1.00
12:0 Lauric	25.58	1.11
13:0 Tridecanoic	28.15	1.22
14:0 Myristic	30.65	1.33
14:1 Myristoleic	32.63	1.42
14:1 <i>trans</i> -Myristoleic	32.01	1.39
15:0 Pentadecanoic	33.04	1.44
15:1 Pentadecenoic	34.98	1.52
16:0 Palmitic	35.41	1.54
16:1 <i>trans</i> -Palmitoleic	36.39	1.58
16:1 Palmitoleic	36.88	1.60
17:0 Margaric	37.54	1.63
17:1 Margaroleic	38.92	1.69
18:0 Stearic	39.78	1.73
18:1 <i>trans</i> -6-Petroleic	40.50	1.76
18:1 <i>trans</i> -Elaidic	40.61	1.77
18:1 <i>trans</i> -11-Vaccenic	40.72	1.77
18:1 Petroleic	40.90	1.78
18:1 Oleic	40.99	1.78
18:1 Vaccenic	41.18	1.79
18:1 Octadecenoic	41.54	1.81
18:2 <i>trans</i> -Linoleic	41.69	1.81
18:2 <i>trans</i> -9-Linoleic	42.11	1.83
18:2 <i>trans</i> -12-Linoleic	42.53	1.85
18:2 Linoleic	42.87	1.86
20:0 Arachidic	43.75	1.90
18:3 <i>g</i> -Linolenic	44.25	1.92
20:1 Eicosenic cis 5	44.42	1.93
20:1 Eicosenic <i>trans</i> 11	44.45	1.93
20:1 Eicosenic cis 8	44.67	1.94
20:1 Eicosenic cis 11	44.82	1.95
20:1 Eicosenic cis 13	44.99	1.96
18:3 Linolenic	45.02	1.96
18:2 Linoleic—conjugated	45.35	1.97
18:2 Linoleic—conjugated	45.40	1.97
21:0 Heneicosanoic	45.69	1.98
18:2 Linoleic—conjugated	46.18	2.01
18:4 Octadecatetraenoic	46.39	2.02
20:2 Eicosadienoic	46.65	2.03
22:0 Behenic	47.46	2.06
20:3 <i>g</i> -Eicosatrienoic	47.94	2.09
22:1 Cololeic	48.27	2.10
22:1 Erudic	48.50	2.11
20:3 Eicosatrienoic	48.68	2.12
20:4 Arachidonic	48.94	2.13
23:0 Tricosanoic	49.22	2.14
22:2 Docosadienoic	50.17	2.18
24:0 Lignoceric	50.79	2.21
20:5 Eicosapentaenoic	50.96	2.22
24:1 Nervonic	51.92	2.26
22:3 Docosatrienoic	51.98	2.26
22:4 Docosatetraenoic	52.29	2.27
22:5 Docosapentaenoic	54.75	2.38
22:6 Docosahexanoic	55.82	2.43

Table 996.06E Factors ( $F_{100}$ ) for conversion of FAMES to triglyceride equivalents

Fatty acid	$F_{100}^a$	TotFAME ( $F_{100}^b$ )
4:0 Butyric	0.8527	0.9858
6:0 Caproic	0.8923	0.9897
8:0 Caprylic	0.9114	0.9915
10:0 Capric	0.9247	0.9928
11:0 Undecanoic	0.9300	0.9933
12:0 Lauric	0.9346	0.9937
13:0 Tridecanoic	0.9386	0.9941
14:0 Myristic	0.9421	0.9945
14:1 Tetradecenoic	0.9417	0.9944
15:0 Pentadecanoic	0.9453	0.9948
15:1 Pentadecenoic	0.9449	0.9947
16:0 Palmitic	0.9481	0.9950
16:1 Hexadecenoic	0.9477	0.9950
17:0 Margaric	0.9507	0.9953
17:1 Margaroleic	0.9503	0.9952
18:0 Stearic	0.9530	0.9955
18:1 Octadecenoic	0.9527	0.9955
18:2 Octadecenoic	0.9524	0.9954
18:3 Linolenic	0.9520	0.9954
18:4 Octadecatetraenoic	0.9517	0.9954
20:0 Arachidic	0.9570	0.9959
20:1 Eicosenic	0.9568	0.9959
20:2 Eicosadienoic	0.9565	0.9958
20:3 Eicosatrienoic	0.9562	0.9958
20:4 Arachidonic	0.9560	0.9958
20:5 Eicosapentaenoic	0.9557	0.9958
21:0 Heneicosanoic	0.9598	0.9961
22:0 Behenic	0.9604	0.9962
22:1 Docosanoic	0.9602	0.9962
22:2 Docosadienoic	0.9600	0.9962
22:3 Docosatrienoic	0.9598	0.9961
22:4 Docosatetraenoic	0.9595	0.9961
22:5 Docosapentaenoic	0.9593	0.9961
22:6 Docosahexanoic	0.9590	0.9961
23:0 Tricosanoic	0.9620	0.9964
24:0 Lignoceric	0.9663	0.9965
24:1 Nervonic	0.9632	0.9965

<sup>a</sup>  $F_{100}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to corresponding fatty acids.

<sup>b</sup>  $F_{100}$  is the conversion factor for conversion of FAMES to triglycerides for total fatty acids.

Figura 35. Técnica para determinar grasas en alimentos  
AOAC, 2002

(b) Calculate amount of individual (triglycerides) ( $W_{TGI}$ ) in test sample as follows:

$$W_{FAMEi} = \frac{P_i \times W_{C11:0} \times 1.0067}{P_{C11:0} \times R_i}$$

$$W_{TGI} = W_{FAMEi} \times f_{TGI}$$

where  $P_i$  = peak area of fatty acid  $i$  in test portion;  $W_{C11:0}$  = weight of  $C_{11:0}$  internal standard added to test portion, g; 1.0067 = conversion of internal standard from triglyceride to FAME;  $P_{C11:0}$  = peak area of  $C_{11:0}$  internal standard in test portion; and  $f_{TGI}$  = conversion factor for FAMEs to triglycerides for individual fatty acids (see Table 996.06E).

(Note: If procedure is followed exactly,  $W_{C11:0}$  should be 0.010 g.)

(c) Calculate amount of total fat in test sample (sum of all fatty acids; expressed as triglycerides [including *cis* and *trans* forms of monounsaturated acids]) as follows:

$$\text{Total fat, \%} = (\sum W_{TGI} / W_{\text{test portion}})$$

where  $W_{\text{test sample}}$  = weight of test portion, g.

(d) Calculate weight of each fatty acid ( $W_i$ ) as follows:

$$W_i = W_{FAMEi} \times f_{FAi}$$

where  $f_{FAi}$  = conversion factors for conversion of FAMEs to their corresponding fatty acids (see Table 996.06E).

(e) Calculate percent of saturated fat in test sample (w/w; expressed as saturated fatty acids; sum of  $C_{4:0}$ ,  $C_{6:0}$ ,  $C_{8:0}$ , etc.) as follows:

$$\text{Saturated fat, \%} = (\sum \text{saturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

(f) Calculate amount of monounsaturated fat in test sample (w/w; expressed as sum of only *cis* form of monounsaturated fatty acids [ $C_{16:1}$ ,  $C_{17:1}$ ,  $C_{18:1}$  *cis*,  $C_{20:1}$ , etc.] as follows:

$$\text{Monounsaturated fat, \%} = (\sum \text{monounsaturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

$$\text{Polyunsaturated fat, \%} = (\sum \text{polyunsaturated } W / W_{\text{test portion}}) \times 100\%$$

(Note: Test samples containing hydrogenated fat will yield complicated chromatograms due to large number of isomers formed during hydrogenation process. One general indication of hydrogenation is presence of  $C_{18:1}$  *trans* peak(s). For hydrogenated fat chromatograms, use the following guidelines to calculate FAME peak areas: *trans* peaks elute prior to *cis*, therefore, include all peaks between  $C_{18:1}$  *cis* and  $C_{18:2}$  *cis*, *cis* in calculation of  $C_{18:2}$  peak area. Often  $C_{18:1}$  *trans* "peak" consists of broad series of peaks [due to positional isomers from hydrogenation]; include all of these in  $C_{18:1}$  *trans* peak area.)

Reference: *J. AOAC Int.* 80, 555(1997); 82, 1146(1999).

Revised: March 2002

Figura 36. Técnica para determinar grasas en alimentos  
AOAC, 2002

9.9 Anexos 9. Control Microbiológico de los alimentos (*Coliforme fecales*)

INEN		AL 01.05-304
C.O.U. 663.1		
<b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</b>	<b>CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS: DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MAS PROBABLE</b>	<b>INEN 1 529-6 1990-02</b>
<b>1. OBJETO</b>		
1.1 Esta norma establece la técnica del número más probable para la determinación de microorganismos coliformes.		
<b>2. TERMINOLOGIA</b>		
2.1 <b>Coliformes (coli aerógenos).</b> Bacterias de forma bacilar, Gram negativas, aerobias y anaerobias facultativas móviles e inmóviles, no esporuladas que en presencia de sales biliares u otros agentes selectivos equivalentes fermentan la lactosa con producción de ácido y gas cuando se incuban a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ los productos refrigerados y a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ los productos que se mantienen a temperatura ambiente y se utiliza el medio y método descrito. Este grupo es utilizado como indicador del grado de higiene.		
2.2 <b>Recuento de coliformes.</b> Es la determinación del número de coliformes viables por gramo o $\text{cm}^3$ de muestra de alimento.		
<b>3. RESUMEN</b>		
3.1 El método se basa en la determinación del número más probable (NMP) por la técnica de dilución en tubos, utilizando el medio líquido selectivo caldo verde brillante bilis-lactosa o similar para el ensayo presuntivo y los tubos que presentan gas son confirmados en agar Eosina azul de metileno (E M B). La temperatura de incubación para el ensayo presuntivo y confirmativo es $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , para productos refrigerados y $35 \pm 1^\circ\text{C}$ para productos que se mantienen a temperatura ambiente.		
<b>4. EQUIPO Y MATERIAL DE VIDRIO</b>		
4.1 Equipo usual en un laboratorio microbiológico. En particular		
4.1.1 Pipetas serológicas de punta ancha de 1, 5 y $10 \text{ cm}^3$ graduadas en 1/10 de unidad.		
4.1.2 Cajas petri		
4.1.3 Tubos de 150 x 16 mm y de 125 x 12 mm		
4.1.4 Tubos Durham de 50 x 6 mm		
4.1.5 Erlenmeyer de 500 y $1\ 000 \text{ cm}^3$		
(Continúa)		

Figura 37. Norma técnica para determinación de *Coliforme fecales* INEN, 1990

4.1.6 Frascos de boca ancha de 250, 500 y 1 000 cm<sup>3</sup> con tapa de rosca autoclavable.

4.1.7 Asa de inoculación

4.1.8 Gradillas

4.1.9 Balanza de capacidad no inferior a 2 500 g y de 0,1 g de sensibilidad

4.1.10 Incubador regulable, rango de temperatura de 25 - 70 ± 1 °C

4.1.11 Autoclave

4.1.12 pH-metro

### 5. MEDIOS DE CULTIVO Y DILUYENTE

5.1 Caldo verde brillante bils-lactosa (BGBL); ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1529-1

5.2 Agar eosina azul de metileno (EMB), ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

5.3 Solución de Peptona al 0,1% ver preparación diluyentes en la Norma INEN 1 529-1 .

### 6. PREPARACION DE LA MUESTRA

6.1 Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la Norma INEN 1 529-2.

### 7. PROCEDIMIENTO

7.1 Inmediatamente después de realizadas las diluciones con una pipeta estéril, transferir 1 cm<sup>3</sup> de la dilución 10<sup>-1</sup> a cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> de caldo BGBL o similar (5.1) (ver esquema 1).

7.2 Con otra nueva pipeta estéril, transferir 1 cm<sup>3</sup> de la dilución 10<sup>-2</sup> en cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm<sup>3</sup> del medio. Proceder de igual manera con otras diluciones.

7.3 Incubar los tubos a 30 ± 1 °C para productos refrigerados y 35 ± 1 °C para productos que se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas.

7.4 Transcurridas las 48 horas anotar en cada dilución como presuntos positivos todos los tubos que presenten crecimiento con producción suficiente de gas como para llenar el fondo cóncavo del tubo Durham

(Continua)

Figura 38. Norma técnica para determinación de *Coliformes fecales* INEN, 1990

es decir, el menisco llegaría hasta donde las paredes del tubo se hacen paralelas. También se considera como presunto positivo si el tubo Durham contiene menos gas del indicado, pero al golpear delicadamente al tubo de cultivo hay desprendimiento de burbujas. Solo la turbidez no es indicativo de una prueba positiva.

7.5 Agitar cada uno de los tubos presuntamente positivos y con un asa de inoculación a partir de cada uno de ellos sembrar por estría en la superficie de placas individuales secas de Agar EMB (5.2), identificar las placas.

7.6 Invertir las placas e incubarlas a  $30 \pm 1$  °C para productos refrigerados y  $35 \pm 1$  °C para productos que se mantienen a temperatura ambiente por  $24 \pm 2$  horas.

7.7 Si al término del período de incubación hay desarrollo de colonias lactosa positivas las cuales son negras o poseen centro oscuro con periferias transparentes incoloras o bien colonias mucoides de color rosa naranja, confirman la presencia de coliformes.

7.8 De cada dilución anotar el número de tubos positivos confirmados de coliformes.

#### 8. SELECCION DE DILUCIONES

8.1 Elegir la dilución más alta en la que la presencia de coliformes es confirmada en tres tubos y las dos diluciones superiores más próximas. Por ejemplo, si las diluciones  $10^{-1}$  y  $10^{-2}$  presentan resultados positivos confirmados en los tres tubos, la  $10^{-3}$  presenta un tubo y 1 a  $10^{-4}$  ninguno, anotar los resultados de la siguiente manera:

$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
3/3	1/3	3/3	0/3

Las diluciones elegidas serán la  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  cuya relación de tubos positivos es 3-1-0 que según la Tabla 1 le corresponde un NMP de 43.

8.2 Si ninguna de las diluciones presenta tres tubos positivos confirmados seleccionar las tres diluciones más altas con algún tubo positivo. Por ejemplo, se tiene los siguientes datos:

$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
2/3	2/3	1/3	1/3

Las diluciones que deben ser seleccionadas son las  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , dando una combinación de tubos positivos de 2-1-1 que según la Tabla 1 le corresponde un NMP de 20.

(Continúa)

1985-076

Figura 39. Norma técnica para determinación de *Coliformes fecales* INEN, 1990

9. CALCULOS
<p><b>9.1</b> Cuando las tres diluciones decimales sucesivas son las <math>10^{-1}</math>, <math>10^{-2}</math> y <math>10^{-3}</math> y se ha inoculado 3 alicuotas de <math>1 \text{ cm}^3</math> de cada una de éstas; anotar la relación de tubos positivos confirmados y ver en la Tabla 1 el respectivo NMP/g ó <math>\text{cm}^3</math>.</p>
<p><b>9.2</b> Para calcular el NMP/g ó <math>\text{cm}^3</math> cuando se inocula tres alicuotas de <math>1 \text{ cm}^3</math> de más de tres diluciones decimales sucesivas, multiplicar el NMP por el factor adecuado: 10, 100, 1 000, etc. Por ejemplo, si los tubos seleccionados corresponden a las diluciones <math>10^{-3}</math>, <math>10^{-4}</math> y <math>10^{-5}</math>, multiplicar por 100, multiplicar por 1 000 si las diluciones seleccionadas son <math>10^{-4}</math>, <math>10^{-5}</math> y <math>10^{-6}</math> y así sucesivamente.</p> <p>Completando los ejemplos de los literales 8.1 y 8.2 tenemos respectivamente: NMP de 430 coliformes/g ó <math>\text{cm}^3</math> (<math>43 \times 10</math>); NMP de 200 coliformes/g ó <math>\text{cm}^3</math> (<math>20 \times 10</math>).</p>
<p><b>9.3</b> Para el caso de productos con baja carga microbiana se puede utilizar soluciones más concentradas. En este caso, dividir el NMP para el factor adecuado. Por ejemplo, si al inocular 3 alicuotas de <math>10 \text{ cm}^3</math> de la dilución <math>10^{-1}</math>, 3 alicuotas de <math>1 \text{ cm}^3</math> de la <math>10^{-2}</math> y 3 alicuotas de <math>1 \text{ cm}^3</math> de la <math>10^{-3}</math> se obtiene una relación de tubos positivos confirmados de 3-2-1, a esta relación le corresponde un NMP de 150 que dividido para 10 se obtiene un NMP de 15 coliformes/g ó <math>\text{cm}^3</math> de muestra.</p>
<p><b>9.4</b> Mayores detalles ver en la Norma INEN 1 529-4.</p>
10. ERRORES DE METODO
<p><b>10.1</b> El NMP es realmente una estimación del número de bacterias existentes en cualquier muestra, y esta estimación está sujeta a errores inherentes al método, aunque esto no invalida la idoneidad de la prueba para detectar la contaminación.</p>
<p><b>10.2</b> Las combinaciones de tubos positivos de las categorías 3-4 y las que no figuran en la Tabla 1, son muy poco probables y no pueden servir de base para decidir, devolver y/o reprocesar el producto.</p>
<p><b>10.3</b> Cuando frecuentemente se obtengan combinaciones improbables, revisar cuidadosamente el método y eliminar todas las probables causas de error (mezcla deficiente de la muestra y/o diluciones, presencia de inhibidores en los alimentos, etc.).</p>
11. INFORME DE RESULTADOS
<p><b>11.1 Reportar:</b> NMP de coliformes/g ó <math>\text{cm}^3</math> de muestra.</p>
<p><b>11.2 Indicar el método de ensayo.</b> Mencionar cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido en el resultado. Incluir todos los detalles de identificación de la muestra.</p>
(Continua)

Figura 40. Norma técnica para determinación de *Coliformes fecales* INEN, 1990

TABLA 1. Índice del NMP de bacterias cuando se utiliza tres alicuotas de 1 cm<sup>3</sup> por dilución.

NUMERO DE TUBOS POSITIVOS EN CADA DILUCION			NMP POR GRAMO O cm <sup>3</sup>	LIMITES DE CONFIANZA DEL 95%		CATEGORIA
DILUCION 10 <sup>-1</sup>	DILUCION 10 <sup>-2</sup>	DILUCION 10 <sup>-3</sup>		INFERIOR	SUPERIOR	
0	0	0	0	-	-	-
0	0	1	3	0,5	9	3
0	1	0	3	0,5	13	2
1	0	0	4	0,5	20	1
1	0	1	7	1	21	3
1	1	0	7	1	23	2
1	1	1	11	3	36	4
1	2	0	11	3	36	3
2	0	0	9	1	36	1
2	0	1	14	3	37	3
2	1	0	15	3	44	2
2	1	1	20	7	89	4
2	2	0	21	4	47	3
2	2	1	28	10	150	4
3	0	0	23	4	120	1
3	0	1	39	7	130	2
3	0	2	64	15	380	4
3	1	0	43	7	210	1
3	1	1	75	14	230	2
3	1	2	120	30	380	3
3	2	0	93	15	380	1
3	2	1	150	30	440	2
3	2	2	210	35	470	3
3	3	0	240	36	1 300	1
3	3	1	460	71	2 400	1
3	3	2	1 100	150	4 800	1

(Continua)

Figura 41. Norma técnica para determinación de *Coliformes fecales* INEN, 1990



## APENDICE Z

### Z.1 NORMAS A CONSULTAR

INEN 52	Reglas para redondear números
INEN 1 529-1	Control microbiológico de los alimentos. Preparación de medios de cultivo.
INEN 1529-2	Control microbiológico de los alimentos. Preparación de muestras.
INEN 1 529-4	Control microbiológico de los alimentos. Recuento microbiológico.

### Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Internacional ISO 4831 *Microbiology General Guidance for the enumeration of Coliforms. Most probable number Technique at 30°C*. Primera edición. Ginebra, 1978.

I.C.M.S.F *Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas del análisis microbiológico*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

FAO - FOOD AND NUTRITION PAPER 14/4 *Manual of food quality control 4. Microbiological analysis*, Roma, 1979.

Food and Drug Administration Bureau of foods División of Microbiology. *Bacteriological Analytical Manual* 5a Ed. 1978.

Centro Nacional de Alimentación y nutrición. *Método de examen microbiológico para alimentos y bebidas Normas recomendadas*. Manual Práctico, Madrid, 1976.

International Dairy Federation, FIL-IDF-73 *Milk and Milk Products count of Coliform Bacteria*. International Dairy Federation. Bruselas, 1974.

Mosset, D.A., Moreno García, B. *Microbiología de los alimentos*. Edit. Acribia, Zaragoza, España 1982.

Harrigan W. F, McLance, M.E. *Métodos de laboratorio en microbiología de los alimentos y productos lácteos*. León, España, 1979.

Figura 43. Norma técnica para determinación de *Coliformes fecales* INEN, 1990



## 9.10 Anexo 10. Método para determinación de *Escherichia coli*



Quito - Ecuador

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 1529-7:2013**

**Primera revisión**

---

### **CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DE RECUENTO DE COLONIAS**

**Primera edición**

MICROBIOLOGICAL CONTROL OF FOODS. DETERMINATION COLIFORM. BY THE TECHNIQUE OF COLONY COUNT

First edition

---

DESCRIPTORES: Microbiología de los alimentos, análisis, detección de coliformes  
AL 01.05-305  
CDU: 663.1  
ICS: 07.100.20

Figura 45. Norma técnica para determinación de *E. coli*  
INEN, 2013

CDU: 663.1  
ICE: 07.100.30



AL 01.05-305

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	CONTROL DE MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DE RECuento DE COLONIAS	NTE INEN 1529-7:2013 Primera revisión 2013-09
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Este método de ensayo establece la técnica de recuento de colonias en un medio sólido.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. ALCANCE</b></p> <p>2.1 Este método es indicado para productos que contienen una alta carga de coliformes y coliformes psicrotrofos no específicos.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. DEFINICIONES</b></p> <p>3.1 Para efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>3.1.1 Coliformes. (coliaerógenos). Bacterias de forma bacilar, Gram negativas, aerobias y anaerobias facultativas, móviles e inmóviles, no esporuladas que forman colonias características agar Cristal Violeta neutro bills (V R B) o similar cuando se incuban a <math>30 \pm 1^\circ\text{C}</math> los productos refrigerados y a <math>30 \pm 1^\circ\text{C}</math> los productos que se mantienen a temperatura ambiente y se utiliza el medio y método descrito. Este grupo es utilizado como indicador del grado de higiene.</p> <p>3.1.2 Recuento de coliformes. Es la determinación del número de coliformes viables por gramo o <math>\text{cm}^3</math> de muestra de alimento.</p> <p style="text-align: center;"><b>4. MÉTODO DE ENSAYO FORMA TRADICIONAL</b></p> <p><b>4.1 Resumen</b></p> <p>4.1.1 Este método utiliza la técnica del recuento en placa por siembra en profundidad en agar Cristal Violeta-rojo neutro bills (V R B) o similar y una temperatura de incubación de <math>30 \pm 1^\circ\text{C}</math> para productos refrigerados y <math>30 \pm 1^\circ\text{C}</math> para productos que se mantienen a temperatura ambiente, por <math>24 \pm 2\text{h}</math>.</p> <p><b>4.2 Equipos</b></p> <p>4.2.1 Equipo usual en un laboratorio microbiológico. En particular:</p> <p>4.2.1.1 Autoclave</p> <p>4.2.1.2 Incubador regulable, rango de temperatura de <math>(25-70)^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}</math>.</p> <p>4.2.1.3 Balanza de capacidad no inferior a 2500 g y de 0,1 g de sensibilidad</p> <p>4.2.1.4 pH-metro</p> <p><b>4.3 Materiales y medios de cultivo</b></p> <p>4.3.1 Materiales</p> <p>4.3.1.1 Pipetas serológicas de punta ancha de <math>1,5 \text{ cm}^3</math> y <math>10 \text{ cm}^3</math> graduadas en 1/10 de unidad.</p> <p>4.3.1.2 Cajas Petri</p> <p>4.3.1.3 Cuenta colonias</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p>		

Figura 46. Norma técnica para determinación de *E. coli*  
INEN, 2013

4.3.1.4 Frascos de boca ancha de 250 cm<sup>3</sup>, 500 cm<sup>3</sup> y 1000 cm<sup>3</sup> con tapa de rosca autoclavable.

4.3.1.5 Erlenmeyer de 500 y 100 cm<sup>3</sup>

4.3.2 Medios de cultivo y diluyente

4.3.2.1 Agar Cristal Violeta-Rojo neutro bills (V R B) ver preparación agares en la norma NTE INEN 1529-1.

4.3.2.2 Solución peptona al 0,1% ver preparación diluyentes en la norma NTE INEN 1529-1.

4.4 Preparación de la muestra

4.4.1 Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la norma NTE INEN 1529-2.

4.5 Procedimiento método por siembra en placa

4.5.1 Utilizando una sola pipeta estéril pipetear por duplicado alícuotas de 1 cm<sup>3</sup> de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.

4.5.2 Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, 5 veces en dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj 5 veces. Repetir este proceso pero en sentido contrario.

4.5.3 Como control de esterilidad del medio, verter la cantidad de agar en la placa sin inóculo.

4.5.4 Dejar reposar las placas para que solidifique el agar. Luego verter en la superficie otros 6 cm<sup>3</sup> de agar todavía fundido y dejar solidificar.

4.5.5 Invertir las placas e incubarlas a 30°C ± 1°C para productos refrigerados 35°C ± 1°C para productos que se mantienen a temperatura ambiente, por solo 24h ± 2 horas.

4.5.6 Pasado el tiempo de incubación seleccionar las placas que se presenten 30 – 150 colonias y examinar con la luz transmitida. Contar todas las colonias de 1 – 2 mm de diámetro (mínimo de 0,5mm) de color rojo amoratado rodeadas por halo rojizo.

4.5.7 Para el control de rutina en plata, en general, no es necesario realizar ensayos confirmatorios. Pero cuando sea necesario, especialmente con productos que contengan otros azúcares que la lactosa, proceder como a continuación se indica.

4.5.8 Seleccionar un número de colonias equivalentes a la raíz cuadrada de total de las colonias típicas

4.5.9 A cada una de estas colonias inocularlas en tubos individuales que contengan 10 cm<sup>3</sup> de caldo BGBL de concentración simple y un tubo Durham.

4.5.10 Incubar a 30°C ± 1°C, para productos refrigerados y a 35°C ± 1°C, para productos que se mantienen a temperatura ambiente, durante 24h – 48 h.

4.6 Cálculos

4.6.1 Si transcurridas las 48 horas hay presencia de gas en los tubos confirma la presencia de coliformes. De aquí redactar todo el procedimiento de la norma actual, siguiendo el orden del numeral añadido

4.6.2 Para el cálculo basarse en el número de colonias confirmadas en relación al número de colonias sospechosas.

4.7 Informe de resultados

4.7.1 Cuando las dos placas de la dilución elegida presentan un número de colonias comprendido entre 30 – 300, contar las colonias de ambas placas, sacar la media aritmética de los dos valores y multiplicar por el respectivo factor de dilución.

Figura 47. Norma técnica para determinación de *E. coli*  
INEN, 2013

4.7.2 Cuando las placas correspondientes a la dilución elegida contiene un número de colonias algo menos de 30 o algo más de 300, contar todas las colonias en ambas placas y reportar como 11.2.

4.7.3 En todo caso, reportar como recuento de coliformes/ig ó cm<sup>3</sup> utilizando solo dos cifras significativas que corresponderán al 1ero y 2do dígito (comenzando por la izquierda) del número de colonias. El redondeo de los números debe hacerse según la norma NTE INEN 52 (Reglas para redondear números).

4.7.4 Mayores detalles se establecen en la norma NTE INEN 1529-4 (Control microbiológico de alimentos. Recuento microbiológico).

## 5. MÉTODO DE ENSAYO POR MEMBRANA DE FILTRACIÓN PARA AGUAS

### 5.1 Resumen

5.1.1 Método de filtración de membrana. Esta parte de la norma describe un método de referencia (prueba estándar) para la detección y enumeración de *Escherichia coli* y bacterias coliformes en el agua para consumo humano. La prueba estándar se basa en la filtración por membrana, posterior cultivo en un medio de agar diferencial y el cálculo del número de organismos presentes en la muestra. La prueba estándar tiene una baja selectividad. Debido a la baja selectividad, el crecimiento bacteriano puede interferir con la enumeración fiable de bacterias coliformes y *E. coli*, en caso de existir otro tipo de flora bacteriana, debido a ello este método es adecuado solo para análisis de agua potable.

### 5.2 Materiales

5.2.1 Equipo para la filtración de membrana

5.2.2 Pinzas con puntas redondeadas

5.2.3 Almohadillas filtrantes, con un diámetro mínimo de 47 mm.

### 5.3 Preparación de la muestra

5.3.1 Preparación de la muestra: Para la preparación de la muestra, la filtración y la inoculación en medios de aislamiento, siga las instrucciones dadas en la NTE INEN 1529-2 (Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico).

### 5.4 Procedimiento

5.4.1 Iniciar el examen de preferencia inmediatamente después de tomar las muestras. Si las muestras se mantienen a temperatura ambiente (en la oscuridad, no más de 25 ° C), este examen deberá comenzar dentro de las 6 horas después de tomar la muestra. En circunstancias excepcionales, las muestras pueden mantenerse en 5°C ± 3°C durante un máximo de 24 h antes de él examen. Filtración: Filtro de 100 ml (o volúmenes más altos, por ejemplo, 250 ml de agua embotellada) de la muestra a estudiar utilizando un filtro de membrana. Coloque el filtro en el respectivo medio de agar, asegurándose de que no quede aire atrapado debajo.

5.4.2 Incubación y diferenciación de prueba estándar: Después de la filtración colocar la lámina sobre la placa de agar lactosa TTC y se incuba a 36°C ± 2°C durante 21 h ± 3 h

5.4.3 Incubación y diferenciación, la prueba rápida. Después de la filtración, Colocar la membrana en medio TSA y se incuba a 36°C ± 2°C durante 4 h a 5 h.

### 5.5 Cálculos para método de membrana filtrante

5.5.1 A partir de los números de colonias características contadas sobre la membrana y teniendo en cuenta los resultados de las pruebas de confirmación realizada, calcular el número de *E. coli*, bacterias coliformes y, si es necesario, bacterias lactosa positiva presentes en 100 ml de la muestra. (Para ambos casos).

(Continúa)

Figura 48. Norma técnica para determinación de *E. coli* INEN, 2013

5.5.2 A partir de entonces, colocar la lámina sobre medio TBA e incubar a  $44,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 19 h a 20 h. Si se desea, los dos medios de agar se pueden combinar en una doble capa de placa. En ese caso, colocar la membrana sobre una placa de capa recién preparada que consta de doble TSA y TBA e incubar a  $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 4 h a 5 h seguido de incubación a  $44,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  durante 19 h a 20 h. (Ver nota 1).

5.5.3 Después de la incubación, colocar la lámina sobre una almohadilla de filtro saturado con el reactivo de Indol e irradiar con una lámpara ultravioleta durante 10 min a 30 min dependiendo del desarrollo de color. Todas las colonias rojas en el filtro de membrana se cuentan como *E. coli*. (ver nota 2).

5.5.4 El número de microorganismos se calcula multiplicando el número "n" de colonias de coliformes por el respectivo factor de dilución (f).

$$\frac{\text{Coliformes}}{g} \text{ o } \text{cm}^3 = n \times f \text{ (UFC)} \quad (1)$$

En donde:

- n* = número de colonias típicas.
- f* = factor de dilución.
- UFC* = unidades formadoras de colonia.

### 5.6 Errores de método

5.6.1 La diferencia entre los resultados de las placas duplicados de una dilución no debe de exceder de 15% del valor inferior. Caso contrario repetir el ensayo.

## 6. INFORME DE RESULTADOS

6.1 Si las placas examinadas no contienen colonias, expresar los resultados de la siguiente forma. Recuento estimado de coliformes (-) 1,0 multiplicado por el respectivo factor de la dilución: ejemplo: si en las placas correspondientes a la dilución a la  $10^{-1}$  no hubo desarrollo de colonias típicas el recuento se expresara así: Recuento estimado de coliformes/g ó  $\text{cm}^3$  -1,0 x  $10^1$  U.F.C. (Ver nota 3).

NOTA 1 La prolongación del tiempo de incubación a  $44\text{ h} \pm 2\text{ h}$  puede resultar en una mayor sensibilidad de la prueba y puede ser especialmente útil para las placas que no muestran colonias típicas después de 21 h a 23 h.

NOTA 2 reactivo disponible comercialmente en base acuosa puede dar resultados más claros y más rápidos sin la necesidad de UV irradiación.

NOTA 3 Distribución desigual de colonias o la presencia de alto recuento de fondo puede interferir con la diferenciación de las indol-positivas colonias debido a la difusión del color de las colonias adyacentes.

(Continúa)

Figura 49. Norma técnica para determinación de *E. coli*  
INEN, 2013

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

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 52	<i>Reglas para redondear números.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-1	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de medios de cultivo.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2	<i>Control microbiológico de los alimentos. Preparación de muestras.</i>

**Z.2 BASES DE ESTUDIO**

Norma Internacional ISO 4832 *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony count technique.* Ginebra, 2005.

Norma Internacional ISO 9308-1 *Water quality – Detection and enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria – Part 1: Membrane filtration method.* International. Ginebra, 2000.

Figura 50. Norma técnica para determinación de *E. coli* INEN, 2013