



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

**CAPACIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DEL ACEITE
ESENCIAL DE MORINGA (*Moringa oleifera*) Y SU
EFECTO SENSORIAL EN SALCHICHAS DE POLLO**
TRABAJO EXPERIMENTAL

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

AUTOR
COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO

TUTOR
MORÁN BAJAÑA JOAQUÍN TEODORO

MILAGRO – ECUADOR

2021



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

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **MORÁN BAJAÑA JOAQUÍN TEODORO**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **CAPACIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE MORINGA (*Moringa oleífera*) Y SU EFECTO SENSORIAL EN SALCHICHAS DE POLLO**, realizado por el estudiante **COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO**; con cédula de identidad **N°1207019256** de la carrera **INGENIERÍA AGRÍCOLA AGROINDUSTRIAL**, Unidad Académica Milagro, 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,

PhD. Joaquin Moran Bajaña
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACION

Guayaquil, 14 de Diciembre del 2021



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: “**CAPACIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE MORINGA (*Moringa oleífera*) Y SU EFECTO SENSORIAL EN SALCHICHAS DE POLLO**”, realizado por el estudiante **COELLO CHIGUANO NÉSTOR FRANCISCO**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

PhD. Gustavo Martínez Valenzuela
PRESIDENTE

PhD. Freddy Gavilánez Luna
EXAMINADOR PRINCIPAL

Blgo. Oswaldo Santander Villao
EXAMINADOR PRINCIPAL

PhD. Joaquín Moran Bajaña
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 14 de Diciembre del 2021

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a:

A mi familia, en especial a mi madre quien con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer a las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mi director de tesis, mi pareja y todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que me abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Agradecimiento

El presente trabajo agradezco a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas.

A mi madre por ser mi pilar fundamental y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron.

Agradezco a los todos docentes que con su sabiduría, conocimiento y apoyo, motivaron a desarrollarme como persona y profesional en la Universidad Agraria del Ecuador.

Finalmente, quiero expresar mi más grande y sincero agradecimiento al Dr. Joaquín Teodoro Moran Bajaña por la paciencia, sus conocimientos y su gran trayectoria y orientación para guiarme en el desarrollo de esta investigación y permitirme concluir con una etapa de mi vida.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo **COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO**, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “**CAPACIDAD ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE MORINGA (*Moringa oleífera*) Y SU EFECTO SENSORIAL EN SALCHICHAS DE POLLO** para optar el título de **INGENIERO 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 autor(a) 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, Diciembre 14 del 2021

COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO
C.I. 1207019256

Índice general

APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Resumen	12
Abstract.....	13
1. Introducción	14
1.1. Antecedentes del problema.....	14
1.2. Planteamiento y formulación del problema	15
1.2.1. Planteamiento del problema	15
1.2.2. Formulación del problema	16
1.3. Justificación de la investigación.....	16
1.4. Delimitación de la investigación	17
1.5. Objetivo general	17
1.6. Objetivos específicos.....	17
1.7. Hipótesis	18
2. Marco teórico.....	19
2.1. Estado del arte.....	19
2.2. Bases teóricas	22
2.2.1 Los aceites esenciales	22
2.2.2 Métodos de extracción de los aceites esenciales.....	24
2.2.3 La moringa.....	26
2.2.4 Embutidos.....	28

2.2.5 Interpretación de antibiogramas.....	29
2.3. Marco legal.....	29
2.3.1 Otras regulaciones y normativas.....	32
3. Material y métodos	33
3.1. Enfoque de la investigación	33
3.1.1. Tipo de investigación	33
3.1.2. Diseño de investigación	33
3.2. Metodología	34
3.2.1. Variables	34
3.2.2 Tratamientos.....	34
3.2.3 Diseño experimental	35
3.2.4 Recolección de datos	35
3.2.5 Análisis estadístico.....	43
4. Resultados.....	44
4.1 Establecimiento de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> del aceite esencial de moringa.....	44
4.2 Análisis del efecto sensorial del aceite esencial de moringa que presentó mayor poder de inhibición en las salchichas de pollo	46
4.3 Determinación de la vida útil de la salchicha de pollo con aceites esenciales de moringa y testigo para evaluar la diferencia	46
5. Discusión	48
6. Conclusiones.....	51
7. Recomendaciones	52
8. Bibliografía	53
9. Anexos	67

9.1 Anexo 1. Preparando los materiales para los análisis microbiológicos .	66
9.2 Anexo 2. Procesando las materias primas para elaborar las salchichas de pollo.....	67
9.3 Anexo 3. Elaboración de la salchicha de pollo en el laboratorio de procesamiento de alimentos de la UAE, en Milagro	68
9.4 Anexo 4. Evaluación sensorial de la salchicha de pollo con aceite esencial de moringa.....	69
9.5 Anexo 5. Realizando el análisis sensorial de las salchichas de pollo con aceite esencial de moringa.....	70
9.6 Anexo 6. Prueba de inhibición mediante discos empapados con aceite esencial de moringa en el crecimiento bacteriano.....	71
9.7 Anexo 7. Prueba de efectividad del aceite esencial de moringa mediante los halos de inhibición.....	72
9.8 Anexo 8. Resultados del análisis de capacidad antioxidante del aceite esencial de moringa.....	73
9.9 Anexo 9. Resultados del análisis de vida útil de las salchichas de pollo elaboradas con el aceite de moringa como antimicrobiano.....	74

Índice de tablas

Tabla 1. Composición mineral de la moringa	25
Tabla 2. Composición de vitaminas de la moringa comparada con otros alimentos.....	26
Tabla 3. Composición de la biomasa fresca de la moringa	26
Tabla 4. Distribución de los tratamientos y repeticiones para el análisis microbiológico.....	32
Tabla 5. Formulación de la salchicha tipo Frankfurt.....	38
Tabla 6. Tabla hedónica para la evaluación sensorial de la salchicha de pollo con aceite esencial	41
Tabla 7. Análisis de varianza de los resultados microbiológicos.....	43
Tabla 8. Coeficiente de variación y coeficiente de determinación de los halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de <i>E. coli</i> bajo condiciones de laboratorio.....	44
Tabla 9. Análisis de varianza de la variable halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de <i>E. coli</i> bajo condiciones de laboratorio	44
Tabla 10. Comparación de medias de los halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de <i>E. coli</i> bajo condiciones de laboratorio.....	45
Tabla 11. Promedios de las cualidades sensoriales y comparación estadística de los tratamientos con y sin aceite esencial de moringa.....	46
Tabla 12. Resultados de vida útil de las salchichas de pollo con aceite esencial de moringa (<i>Moringa oleifera</i>) expresado en UFC/g del tratamiento sensorialmente mejor calificado.....	46

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo de la obtención de los aceites esenciales de la moringa (<i>Moringa oleifera</i> Lam).....	34
Figura 2. Diagrama de preparación de las salchichas de pollo	37
Figura 3. Diámetro promedio de los halos de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> a nivel <i>in vitro</i>.....	42

Resumen

Los aceites esenciales pueden ser utilizados para evitar la oxidación de la carne en los embutidos y como barrera para los microorganismos contaminantes. Se planteó una investigación cuyo objetivo fue evaluar la capacidad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de moringa (*Moringa oleifera*) y el efecto sensorial de su utilización en salchichas de pollo. En un diseño completamente al azar con tres tratamientos (10, 15 y 20 μ L de aceite esencial de moringa) y cuatro repeticiones se analizó el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial en cepas control de la colección ATCC de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, la actividad antioxidante y el efecto sensorial en salchichas de pollo, así como la vida útil de las mismas. Como testigo se utilizó discos de amoxicilina y ciprofloxacina. Para las pruebas *in vitro* se utilizaron 36 cajas de Petri como unidades experimentales. Los resultados arrojaron significancia para los halos inhibitorios para *E. coli* alcanzando 21,25 mm. Se detectó significancia para el sabor. No se observó crecimiento microbiano hasta los 30 días. Se acepta parcialmente la primera hipótesis “los aceites esenciales extraídos de moringa no influyen en las propiedades sensoriales de las salchichas de pollo”. Se acepta totalmente la segunda hipótesis: “Los aceites esenciales extraídos de moringa son capaces de inhibir microorganismos patógenos a nivel *in vitro*.”

Palabras claves: antioxidante, *Escherichia coli*, halo, inhibición, oxidación, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Essential oils can be used to prevent the oxidation of meat in sausages and as a barrier for contaminating microorganisms. An investigation was proposed whose objective was: To evaluate the *in vitro* antimicrobial capacity of moringa essential oil (*Moringa oleifera*) and the sensory effect of its use in chicken sausages. In a completely randomized design with three treatments 10, 15 and 20 µL of moringa essential oil and four repetitions, where the *in vitro* antimicrobial effect of the essential oil was analyzed in control strains of the ATCC collection of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, the antioxidant activity and sensory effect in chicken sausages as well as their shelf life. Amoxicillin and ciprofloxacin discs were used as a control. For the *in vitro* tests, 36 Petri dishes were used as experimental units. The results showed significance for the inhibitory halos for *E. coli* reaching 21.25 mm. Significance for taste was detected. No microbial growth was observed until 30 days. The first hypothesis is partially accepted "the essential oils extracted from moringa do not influence the sensory properties of chicken sausages". The second hypothesis is fully accepted: "Essential oils extracted from moringa are capable of inhibiting pathogenic microorganisms at the *in vitro* level."

Keywords: antioxidant, *Escherichia coli*, halo, inhibition, oxidation, *Staphylococcus aureus*.

1. Introducción

1.1. Antecedentes del problema

Se ha marcado una tendencia en la industria de los alimentos en lo relacionado con el uso de sustancias antimicrobianas y antioxidantes de origen natural con fines de conservación. Algunos autores como Martín *et al.* (2013) enfatizan el uso de aceites esenciales de la *Moringa oleífera* y de otras plantas, los cuales pueden ser utilizados en diversos procesos de conservación de ciertos alimentos y en otras áreas industriales como los cosméticos, la medicina, etc.

Según reportes de prensa, hasta el 2017 y por iniciativa privada, la superficie de siembra de moringa en el país fue de 400 hectáreas con una producción de 21 toneladas de biomasa, equivalente a siete toneladas de materia seca (Zambrano, 2017).

La industria de embutidos y productos cárnicos es sujeto de muchas presiones de parte de los sectores gubernamentales por el uso de conservantes químicos con consecuencias cuestionables para la salud de los consumidores.

Según reportan Alarcón *et al.* (2015), desde la antigüedad el hombre ha venido empleando los aceites esenciales que incluso los extraía de las plantas, mediante destilación de manera rudimentaria en ollas de barro, de acuerdo con los hallazgos arqueológicos que evidencian esta actividad.

La industria espera la provisión de alternativas viables, de fácil manejo y disponibilidad frente al gran desafío de reemplazar los conservantes químicos que hasta el momento han sido eficientes en términos de evitar la contaminación de los productos alimenticios en general, pero en especial de los embutidos, aunque su uso ha sido fuertemente rebatido en la comunidad científica, de hecho la Organización Mundial de la Salud emitió un comunicado sobre los peligros

relacionados con el cáncer colorrectal por el consumo de estos productos (González *et al.*, 2010).

El propósito del presente trabajo consistió en determinar la capacidad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de la moringa y los probables efectos sensoriales de varias concentraciones en una salchicha de pollo.

1.2. Planteamiento y formulación del problema

1.2.1. Planteamiento del problema

Se ha publicado sobre los riesgos de contraer cáncer por consumo de embutidos y la OMS (Organización Mundial de la Salud), de manera ambigua en ciertos casos y escuetos en otros, le atribuye al uso de sales nitrito el peso del peligro para la salud de los consumidores de estos productos. Estas sales se emplean para darle el color característico a los embutidos y paralelamente para inhibir el crecimiento de microorganismos como el *Clostridium botulinum*, entre otros.

Algunos reportes que datan del 3000 a. C. dan cuenta que ya se empleaban los aceites esenciales como fuentes aromáticas y como inhibidores de microorganismos en alimentos, incluso para conservarlos por más tiempo del considerado normal en ese entonces (Gálvez *et al.*, 2010)

Frente a esta posición, los aceites esenciales, constituyen en un desafío para analizar su uso como medio para evitar la oxidación de la carne en los embutidos y como una barrera para evitar el crecimiento de microorganismos relacionados con este producto, por lo que habría que determinar los efectos sensoriales y nutricionales que pueden incidir en su empleo, además es necesario establecer los límites de las concentraciones a utilizarse.

1.2.2. Formulación del problema

¿El aceite esencial de moringa permitirá mantener la vida útil de las salchichas de pollo sin alterar sus características organolépticas?

1.3. Justificación de la investigación

Reemplazar el uso de los conservantes tradicionalmente utilizados en la elaboración de embutidos, por otros menos perjudiciales para la salud de los consumidores, constituye un gran desafío para la industria alimenticia, por lo que los resultados esperados en la presente investigación podrían servir de referencia para este sector de la producción.

Los aceites esenciales presentan características útiles como antimicrobianas y como antioxidantes que pueden ser consideradas para su utilización en determinados alimentos, a partir de este conocimiento se requiere conocer su alcance dentro de la actividad de la producción de alimentos.

Los embutidos, y particularmente las salchichas, son alimentos de gran demanda por las diversas razones de preferencia dentro del público consumidor, su gran limitante la constituyen el contenido de sales de nitritos que poseen un alto poder dañino para la salud humana, por lo que su reemplazo con sustancias orgánicas amigables constituye un desafío al mismo tiempo que una necesidad.

La moringa es una planta de cuyas hojas puede obtenerse aceites esenciales que de acuerdo a algunos informes científicos podrían tener propiedades antioxidantes y antimicrobianas de gran utilidad para su uso en la conservación de alimentos como en la salud humana. En efecto, algunos informes resaltan las bondades desinflamantes de los componentes de la moringa, así como su acción como antioxidante. El consumo de infusiones de sus hojas se orienta hacia la prevención de enfermedades de tipo catastrófico.

Es necesario, y por lo tanto, se justifica conocer la utilidad de los aceites esenciales provenientes de la moringa la cual es abundante en la zona de Milagro y su uso en embutidos tal como la salchicha de pollo para proveer a la industria de una alternativa adecuada y oportuna. Se colige entonces que la utilidad práctica de los resultados esperados va a servir para la industria alimenticia, para los productores artesanales, para los consumidores de salchichas y para los productores de la moringa quienes podrán encontrar nuevos destinos de la planta, así como nuevos usos. Adicionalmente, la Universidad Agraria del Ecuador posee los equipos e instalaciones adecuadas para llevar a cabo esta investigación.

1.4. Delimitación de la investigación

Espacio: La investigación se efectuó en los laboratorios de la Universidad Agraria del Ecuador en los campus “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz”, tanto en Milagro como en Guayaquil.

Tiempo: El ensayo tuvo una duración de 9 meses (Febrero a Diciembre del 2020 y de Enero a Marzo del 2021).

1.5. Objetivo general

Evaluar la capacidad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de moringa (*Moringa oleífera*) y el efecto sensorial de su utilización en salchichas de pollo

1.6. Objetivos específicos

- Establecer la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de moringa
- Analizar el efecto sensorial del aceite esencial de moringa que presentó mayor poder de inhibición en las salchichas de pollo

- Determinar la vida útil de la salchicha de pollo con aceites esenciales de moringa y testigo para evaluar la diferencia

1.7. Hipótesis

Los aceites esenciales extraídos de moringa no influyen en las propiedades sensoriales de las salchichas de pollo.

Los aceites esenciales extraídos de moringa son capaces de inhibir microorganismos patógenos a nivel *in vitro*.

2. Marco teórico

2.1. Estado del arte

Lara (2018), en un ensayo desarrollado en la Universidad Central del Ecuador en Quito, evaluó el efecto antimicrobiano del extracto de las hojas y semilla de guanábana (*Annona muricata*) en concentraciones de 5%, 15% y 25% sobre cepas de *Streptococcus mutans*, *in vitro*. Los extractos se obtuvieron por el método soxhlet, utilizando alcohol como solvente. Para preparar las concentraciones bajo estudio se empleó la fórmula de dilución, utilizando dos controles, uno positivo con clorhexidina al 0.12% y un negativo con suero fisiológico. La cepa de *S. mutans* fue reactivada por 24 horas a 35 +/- 2°C, tras lo cual se procedió a sembrar un inóculo de la bacteria correspondiente a la escala 0.5 Mc Farland en 14 cajas Petri con agar sangre de cordero al 2%, posteriormente se aplicó la técnica Kirby- Bauer en la que se colocaron los discos de papel filtro, embebidos con 20 uL de los extractos. Las cajas Petri fueron incubadas a 35 +/- 2 °C en una atmósfera de CO₂ al 5% y se procedió a la medición de los halos de inhibición a las 48 horas. En los resultados se observó que el efecto antimicrobiano por la presencia de halos de inhibición en la hoja de guanábana al 5% fue de 6 mm, del 15% fue de 7 mm y del 25% fue de 8,7 mm, mientras que el extracto de la semilla de la guanábana sobre la bacteria *S. mutans*, el 5% y el 15% fue de 6 mm, en cuanto al 25% del extracto de la semilla de la guanábana fue de 6,6 mm.

En un estudio desarrollado por Chero (2018) en los laboratorios de la Universidad Señor del Sipán en Chiclayo, Perú se planteó como objetivo comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de *Moringa oleifera* sobre *S. mutans* ATCC 35668. El experimento se

distribuyó en 6 grupos, con tres tratamientos (76 mg/mL, 38 mg/mL y 19 mg/mL) y 8 repeticiones evaluando la sensibilidad bacteriana mediante el método de difusión en pozo. Se reactivó la cepa en caldo nutritivo y se inoculó en cultivo Agar Cerebro Corazón. Se obtuvo halos promedios de inhibición de 17,96 y 15,27 mm para las concentraciones de 76 mg/ml y 38mg/ml; sin embargo, los extractos acuosos no presentaron halos de inhibición. La investigadora concluyó que los extractos hidroetanólicos de 76mg/ml y 38mg/ml tienen efecto antibacteriano sobre *S. mutans* ATCC 35668.

Marrero *et al.* (2014), en una investigación llevada a cabo en el Centro Nacional de Investigaciones Científicas en Cuba, determinaron la composición de ácidos grasos en el aceite de las semillas de las plantas de *M. oleífera* que crecen en La Habana. Para lograrlo, se empleó como método de extracción al solvente hexano en un baño ultrasónico, al que luego se filtró y evaporó. Los ácidos grasos obtenidos de los aceites fueron determinados como ésteres metílicos por cromatografía de gases con una columna capilar BPX-70. Se identificó al oleico (C18:1; 73,1%), palmítico (C16:0; 7,4%) y docosanoico (C22:0; 5,8%), mientras que otros 19 ácidos grasos entre C12:0, C14:0, C15:0, C17:0, C18:1 (n-10), C18:2, C18:3, C20:0, C20:1, C21:0, C22:1, C23:0, C24:0, C25:0, C26:0, C27:0 y C28:0, se encontraron en menores proporciones, los autores no indican las cantidades. Estos investigadores resaltan que es el primer reporte de la presencia de los ácidos C15:0, C27:0 y C28:0 en esta especie, y el primero que identifica los ácidos C12:0, C14:0, C17:0, C18:3, C20:0, C23:0, C25:0 y C26:0 en la especie *M. oleífera* que crece en la isla de Cuba.

Ramos *et al.* (2010) realizaron una investigación en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional en Mexico, ellos hacen

referencia al uso de cubiertas a base de quitosano y col compuestos como almidón de maíz a los que se les añadió aceites esenciales provenientes de romero, salvia, mejorana, etc., La película o cubierta comestible consiste en una capa delgada que se pre-forma o forma directamente sobre la superficie de los productos vegetales como una envoltura protectora en alimentos con excelentes resultados antibacterianos y antifúngicos. Los alimentos con mejor performance fueron manzanas y otras frutas.

Sánchez (2012) desarrolló un ensayo en la Universidad Autónoma de Nuevo León en México. Evaluó el efecto de extractos de plantas y de dos compuestos aislados sobre la integridad de la membrana, el pH citoplásmico, el potencial de membrana y sobre la síntesis de ATP, en dos cepas de *Vibrium cholerae* y dos cepas de *Clostridium perfringens*. Los resultados preliminares de la actividad antimicrobiana revelan que los extractos seleccionados afectaron significativamente la integridad de la membrana, disminuyeron el pH citoplásmico, modificaron el potencial de membrana y disminuyeron la síntesis de ATP celular. Para obtener los resultados en el aislamiento y purificación de compuestos con actividad antimicrobiana se emplearon técnicas como cromatografía en capa preparativa, en columna y HPLC mediante las cuales se obtuvieron dos compuestos puros, uno aislado del extracto de huizache, el cual fue caracterizado metil galato y el otro aislado del extracto de nopal, el cual no ha podido ser caracterizado completamente, sin embargo se sabe que al igual que el metil galato también es de naturaleza fenólica. Los resultados obtenidos al evaluar el modo de acción de los compuestos aislados fueron similares al de los extractos metanólicos afectando significativamente la integridad de la membrana,

disminuyendo el pH citoplásmico, modificando el potencial de membrana y disminuyendo la síntesis de ATP celular.

En otro estudio como el reportado por Velázquez del Valle *et al.* (2008), en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos en México, se analizaron diversas estrategias de control de *Rhizopus stolonifer* en productos de la postcosecha. Se informó que el uso de aceites de preparados de *Moringa oleífera*, en condiciones *in vitro*, presentaron un efecto fungicida sobre el crecimiento micelial de *R. stolonifer* y afectaron la formación de sus esporas, Ésos fueron excelentes resultados en el control de este moho muy común de encontrarse en melones, tomates y col, vegetales posteriores a la cosecha.

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Los aceites esenciales

Pabón *et al.* (2013) destacan la actividad antibacteriana de aceites esenciales de las hojas de *Hibiscus cannabinus* en sus 3 variedades (Everglades, Tainung y Whittten) y *Jatropha curcas* en Colombia donde se evaluó esa capacidad en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a nivel de laboratorio y la actividad antioxidante por el método autobiográfico utilizando como agentes reveladores 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y β -caroteno.

Diversos autores han reportado la actividad bactericida de los aceites esenciales. Se le atribuye esta actividad a la composición de los aceites volátiles de cada planta, a la configuración estructural de los componentes constituyentes de los aceites, a sus grupos funcionales y a posibles interacciones sinérgicas entre sus componentes (Dorman y Deans, como se citó en Ramos *et al.*, 2010).

Jaramillo *et al.* (2014), reportan la extracción de aceites esenciales de *Ocimum micranthum* Willd, cuyo objetivo era determinar la composición química volátil del

aceite esencial y evaluar *in vitro* las actividades antifúngica, repelente, insecticida y antioxidante. La infusión de esta planta es usada para enfermedades de tipo gastrointestinal como úlceras, gastritis, fiebre intestinal, inflamación; disentería, vómito, dolor de estómago y vermífugo. Los resultados revelan que los aceites esenciales encontrados fueron el eugenol (60,37%), seguido de eucaliptol (12,09%), cis b-terpineol (4,25%) y a-terpineol (4,43%), a-cadineno (1,27%).

Bosquez *et al.* (como se citó en Pérez *et al.*, 2010), añaden que la hidrofobicidad de los aceites esenciales les permite incorporarse a los lípidos de la membrana bacteriana, ocasionando trastornos en su estructura y permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y col compuestos.

Del Águila y Oroche (2016) evaluaron la capacidad antimicrobiana *in vitro* del extracto etanólico de la hoja de *Manihot esculenta* Crantz (yuca), por los Métodos de macrodilución y difusión en disco. Los resultados obtenidos en esta investigación no encontraron efecto antibacteriano en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922 a concentraciones menores a 12 mg^{-1} y 6 mg^{-1} respectivamente.

Lema (2018) identificó la presencia de quinonas, alcaloides, chalconas, auronas, saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides que son metabolitos con actividad antimicrobiana en el extracto de *Melissa officinalis* (toronjil). En la investigación se resalta que *Proteus* spp, resultó con una sensibilidad intermedia al extracto a las concentraciones de 75% y 100%. Además, evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* en *Proteus* spp, concluyendo que a una concentración del 100% el toronjil presenta un halo de inhibición de 20 mm utilizando el método de difusión en agar.

Roldán (2010) analizó en el laboratorio siete aceites esenciales provenientes de tomillo, salvia, orégano, albahaca, hierbabuena, menta y romero frente a patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurim*, *Lactobacillus acidophilus* *Bifidobacterium brevis*. Los resultados indicaron que los aceites esenciales (AE) pueden ser usados como promotores naturales de crecimiento en la producción aviar en reemplazo de los antibióticos.

Reyes *et al.* (2012) realizaron una revisión de los diversos usos que se le da a los aceites esenciales encontrando que los vapores de estos han demostrado tanta eficacia en el control de microorganismos patógenos.

Canett *et al.* (2014) advierten de la existencia de posibles efectos tóxicos de las distintas partes anatómicas de la moringa. Estos autores informan de posibles daños hepáticos, renales, hipertrofia de bazo y timo, alteración en los parámetros hematológicos, genotoxicidad y efectos anticonceptivos, dependientes de la dosis y del tiempo de consumo.

Asimismo, se adiciona que entre las sustancias tóxicas encontradas se resaltan los alcaloides moringina, moringinina y spirochin y el fitoquímico bencil isotiocianato, presentes principalmente en la raíz y corteza. No obstante, los investigadores subrayan que las hojas son posiblemente las más seguras para su consumo (Canett *et al.*, 2014).

2.2.2 Métodos de extracción de los aceites esenciales

Marrero *et al.* (2014) explican una metodología de extracción de los ácidos grasos de frutos maduros frescos (vainas) de *Moringa oleífera*, los cuales fueron recolectados y se secaron a 40 °C en una estufa con recirculación de aire durante 3 días y posteriormente fueron molidas. Las muestras conseguidas se sometieron durante 2 h con 500 mL a hexano en un equipo de ultrasonido a 35

KHz (Bioblok Scientific, Alemania). Los extractos se secaron al vacío a 60 °C para eliminar el hexano y se determinó los rendimientos de extracción. Los extractos lipídicos secos se caracterizaron organolépticamente. La determinación de los ácidos grasos (AG) individuales (n=3 por lote) se realizó por cromatografía de gases (CG) con un equipo 7890A (Agilent, EUA) acoplado a sistema de cómputo, con detector FID e hidrógeno como gas portador.

Pabón *et al.* (2013) detallan un métodos para obtener aceites esenciales con capacidad antimicrobiana y antioxidante proveniente de las hojas de cuatro especies agroforestales del Orinoco colombiano las cuales fueron sometidas a extracción por soxhlet, y microondas con solventes de diferente polaridad como éter de petróleo, diclorometano y etanol (EP, CH₂Cl₂ y EtOH).

Alberca y Huanca (2015), en un análisis empleando cromatografía de gases del aceite virgen de la moringa encontraron la siguiente composición: ácido oleico (Cis-9) (73.58%), ácido bohémico (6.73%), ácido palmítico (5.5%), ácido esteárico (4.07%), ácido araquidónico (3.61%), ácido eicosanoico (Cis-11) (2.19%), ácido eláidico (Trans-9) (1.76%), ácido palmitoleico (Cis-9) (0.92%), ácido lignocérico (0.82%) y ácido linoleico (Cis-9,12) (0.77%).

Recientemente, Fernández (2018) determinó mediante el perfil de ácidos grasos que en el aceite de moringa predomina el ácido oleico (72%) seguido por ácidos grasos saturados como el ácido palmítico (6%), bohémico (6%), esteárico (4%) y araquídico (2%) resaltando que el aceite se extrajo con prensa-*expeller*.

Guaycha *et al.* (2017) desarrollaron un estudio toxicológico y farmacognóstico del tallo, raíz y hojas de la moringa. Determinaron la humedad residual y cenizas para el tallo (8,38% y 6,68%, respectivamente), raíz (9,74% y 8,34%, en su orden) y hojas (12,63% y 9,76%, respectivamente). Se calcularon las sustancias

solubles en etanol al 30%, 50% y 70%. Asimismo se reveló que los estudios farmacognósticos estuvieron en concordancia con lo establecido en la literatura y el de sustancias solubles permitió seleccionar el etanol al 30% como mejor disolvente extractivo. Este extracto hidroalcohólico con *Moringa oleifera* Lam., a dosis límite, no produjo mortalidad ni indicadores de toxicidad.

2.2.3 La moringa

Foidl *et al.* (como se citó en Pérez *et al.*, 2010), señalan que la planta de *Moringa oleifera* es la especie más conocida del género *Moringa*. Es un árbol originario del sur del Himalaya, el nordeste de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán. Se encuentra disperso en una gran parte del planeta, y en América Central fue introducida en los años 1920 como planta ornamental y para cercas vivas.

Canett *et al.* (2014) resaltan que La *Moringa oleifera* es un árbol o arbusto perennifolio de crecimiento rápido, con copas abiertas y follaje pináceo que forma parte de la familia de las Moringáceas junto a otras 12 variedades típicas de los climas áridos del trópico, específicamente del sur del Himalaya, al norte de la India y su composición se presenta a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición mineral de la moringa

Productividad	Extracción de nutrientes (kg/ha/año)								
	Ca	P	Mg	K	Na	Cu	Zn	Mn	Fe
130	1612	338	429	1924	24,70	0,680	3,1	4,6	45,7
100	1240	260	330	1480	19,00	0,530	2,4	3,5	35,2
80	992	208	264	1184	15,20	0,420	1,9	2,8	28,1
60	744	156	198	888	11,40	0,310	1,4	2,1	21,1
40	496	104	132	592	7,60	0,210	0,9	1,4	14,0
20	548	52	66	296	3,80	0,100	0,4	0,7	7,0

Fuente: Pérez *et al.*, (2010)

Adedapo *et al.* (Como se citó en Canett *et al.*, 2014), añaden que crece fácilmente por reproducción asexual por estacas aun en condiciones de sequía y

puede alcanzar hasta los cuatro metros de alto en un año bajo pobres atenciones hortícolas, generando beneficios tanto para los productores como para el ecosistema.

La moringa es cultivada principalmente en lugares con climas tropicales secos en varias regiones del mundo. Crece en altitudes que van desde 0 hasta los 1800 m, con precipitaciones de 500 a 1500 mm al año. Se distribuye en países como Pakistán, Grecia, Egipto, China, Nigeria, Etiopía, Mozambique, Ghana, Argentina, Colombia, Venezuela, Cuba, Nicaragua, Guatemala y México, entre otros lugares. El clima tropical seco tiene la característica de coincidir con el registro de personas con mala nutrición, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura Dirección de Estadística (Estrada *et al.*, 2016).

Pérez *et al.*, (2010), exhibe en la Tabla 2 la composición de vitaminas y minerales en la moringa en comparación con otros alimentos y en la Tabla 3 la composición de la biomasa fresca de la moringa.

Tabla 2. Composición de vitaminas de la moringa comparada con otros alimentos

Nutriente	Moringa	Otros alimentos
Vitamina A (mg)	1130	Zanahoria-315
Vitamina C (mg)	220	Naranja-30
Calcio (mg)	440	Leche de vaca-120
Potasio (mg)	259	Plátano-88
Proteína (mg)	6700	Leche de vaca 3200

Fuente: (Pérez *et al.*, 2010)

Cabrera (2014), encontró un mayor contenido de flavonoides que de alcaloides en extracto hidroalcohólico de moringa comprobando que existe relación significativa entre la concentración de los metabolitos secundarios con la edad y el estado de madurez de la planta de *Moringa oleífera*.

Tabla 3. Composición de la biomasa fresca de la moringa

Densidad (plantas/ha)	Biomasa fresca (t/ha/corte)	Materia seca (t/ha/corte)	Proteína total (t/ha/corte)	Pérdidas de plantas en la poda (5)
95	196	2,6	368	0
350	297	4,1	582	0
900	526	5,0	9,6	0
1 millón	78	8,3	1,5	1
4 millones	974	126,0	2,4	20
16 millones	259	34,0	6,4	30

Fuente: (Pérez *et al.*, 2010)

2.2.4 Embutidos

De acuerdo con la NTE INEN 1 338:2010 Segunda Revisión se establece la definición del producto de origen cárnico denominado salchicha tal como a continuación se indica:

Salchicha. Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, crudas, cocidas, maduradas, ahumadas o no (INEN, 2012).

Torres *et al.* (2011) informan que reportes epidemiológicos ubican los productos cárnicos como una causa importante de enfermedades transmitidas por alimentos. *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* son patógenos identificados como los principales microorganismos de impacto para la salud pública.

De La Vega y López (2012) analizaron el uso de la cáscara de ciruela y su aplicación a una salchicha de cerdo evaluando la concentración de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante *in vitro* de un extracto etanólico de cáscara

de ciruela. Se encontró una concentración de 84% de polifenoles en la cáscara deshidratada de ciruela, y un porcentaje de actividad antioxidante del 65.77%.

2.2.5 Interpretación de antibiogramas

Las categorías interpretativas de los antibiogramas de acuerdo con Del Águila y Oroche (2016) son:

Sensible: un microorganismo es sensible a un determinado antimicrobiano cuando el agente antimicrobiano puede alcanzar niveles plasmáticos iguales, por lo menos a la concentración mínima inhibitoria (C.M.I.) en el lugar de la infección.

Resistente: un microorganismo es resistente a un agente antimicrobiano cuando la concentración máxima de antimicrobiano que se puede localizar en el lugar de la infección no es suficiente para eliminar el microorganismo, es decir la concentración de agente antimicrobiano necesario para destruir el microorganismo no se puede elevar por más efectos tóxicos secundarios. La concentración de antimicrobiano es menos a la C.M.I. necesaria para destruir el microorganismo.

Sensibilidad intermedia: es cuando el microorganismo no es afectado por dosis normales de agente antimicrobiano dadas a intervalos normales, pero si se produce una acumulación en el lugar de la infección sin llegar a dosis que produzcan efectos tóxicos, se puede eliminar el microorganismo.

2.3. Marco legal

Ley Orgánica Del Régimen De La Soberanía Alimentaria

TÍTULO I: Principios Generales

Artículo 1. Finalidad.- Esta Ley tiene por objeto establecer los mecanismos mediante los cuales el Estado cumpla con su obligación y objetivo estratégico de garantizar a las personas, comunidades y pueblos la autosuficiencia de alimentos sanos, nutritivos y culturalmente apropiados de forma permanente.

El régimen de la soberanía alimentaria se constituye por el conjunto de normas conexas, destinadas a establecer en forma soberana las políticas públicas

agroalimentarias para fomentar la producción suficiente y la adecuada conservación, intercambio, transformación, comercialización y consumo de alimentos sanos, nutritivos, preferentemente provenientes de la pequeña, la micro, pequeña y mediana producción campesina, de las organizaciones económicas populares y de la pesca artesanal así como microempresa y artesanía; respetando y protegiendo la agro biodiversidad, los conocimientos y formas de producción tradicionales y ancestrales, bajo los principios de equidad, solidaridad, inclusión, sustentabilidad social y ambiental.

El Estado a través de los niveles de gobierno nacional y subnacionales implementará las políticas públicas referentes al régimen de soberanía alimentaria en función del Sistema Nacional de Competencias establecidas en la Constitución de la República y la Ley. Artículo 3. Deberes del Estado.- Para el ejercicio de la soberanía alimentaria, además de las responsabilidades establecidas en el Art. 281 de la Constitución el Estado, deberá:

- a. Fomentar la producción sostenible y sustentable de alimentos, reorientando el modelo de desarrollo agroalimentario, que en el enfoque multisectorial de esta ley hace referencia a los recursos alimentarios provenientes de la agricultura, actividad pecuaria, pesca, acuicultura y de la recolección de productos de medios ecológicos naturales;
- b. Establecer incentivos a la utilización productiva de la tierra, desincentivos para la falta de aprovechamiento o acaparamiento de tierras productivas y col mecanismos de redistribución de la tierra;
- c. Impulsar, en el marco de la economía social y solidaria, la asociación de los microempresarios, microempresa o micro, pequeños y medianos productores para su participación en mejores condiciones en el proceso de producción, almacenamiento, transformación, conservación y comercialización de alimentos;
- d. Incentivar el consumo de alimentos sanos, nutritivos de origen agroecológico y orgánico, evitando en lo posible la expansión del monocultivo y la utilización de cultivos agroalimentarios en la producción de biocombustibles, priorizando siempre el consumo alimenticio nacional;
- e. Adoptar políticas fiscales, tributarias, arancelarias y otras que protejan al sector agroalimentario nacional para evitar la dependencia en la provisión alimentaria; y,
- f. Promover la participación social y la deliberación pública en forma paritaria entre hombres y mujeres en la elaboración de leyes y en la formulación e implementación de políticas relativas a la soberanía alimentaria.

TÍTULO III: Producción y Comercialización Agroalimentaria

CAPÍTULO I.- Fomento a la producción

Artículo 12. Principios generales del fomento.- Los incentivos estatales estarán dirigidos a los pequeños y medianos productores, responderán a los principios de inclusión económica, social y territorial, solidaridad, equidad, interculturalidad, protección de los saberes ancestrales, imparcialidad, rendición de cuentas, equidad de género, no discriminación, sustentabilidad, temporalidad, justificación técnica, razonabilidad, definición de metas, evaluación periódica de sus resultados y viabilidad social, técnica y económica.

Artículo 13. Fomento a la micro, pequeña y mediana producción.- Para fomentar a los microempresarios, microempresa o micro, pequeña y mediana

producción agroalimentaria, de acuerdo con los derechos de la naturaleza, el Estado:

a) Otorgará crédito público preferencial para mejorar e incrementar la producción y fortalecerá las cajas de ahorro y sistemas crediticios solidarios, para lo cual creará un fondo de reactivación productiva que será canalizado a través de estas cajas de ahorro;

b) Subsidiará total o parcialmente el aseguramiento de cosechas y de ganado mayor y menor para los microempresarios, microempresa o micro, pequeños y medianos productores, de acuerdo al Art. 285 numeral 2 de la Constitución de la República;

c) Regulará, apoyará y fomentará la asociatividad de los microempresarios, microempresa o micro, pequeños y medianos productores, de conformidad con el Art. 319 de la Constitución de la República para la producción, recolección, almacenamiento, conservación, intercambio, transformación, comercialización y consumo de sus productos. El Ministerio del ramo desarrollará programas de capacitación organizacional, técnica y de comercialización, entre otros, para fortalecer a estas organizaciones y propender a su sostenibilidad;

d) Promoverá la reconversión sustentable de procesos productivos convencionales a modelos agroecológicos y la diversificación productiva para el aseguramiento de la soberanía alimentaria;

e) Fomentará las actividades artesanales de pesca, acuicultura y recolección de productos de manglar y establecerá mecanismos de subsidio adecuados;

f) Establecerá mecanismos específicos de apoyo para el desarrollo de pequeñas y medianas agroindustrias rurales;

g) Implementará un programa especial de reactivación del agro enfocado a las jurisdicciones territoriales con menores índices de desarrollo humano;

h) Incentivará de manera progresiva la inversión en infraestructura productiva: centros de acopio y transformación de productos, caminos vecinales; e,

i) Facilitará la producción y distribución de insumos orgánicos y agroquímicos de menor impacto ambiental.

Artículo 14. Fomento de la producción agroecológica y orgánica.- El Estado estimulará la producción agroecológica, orgánica y sustentable, a través de mecanismos de fomento, programas de capacitación, líneas especiales de crédito y mecanismos de comercialización en el mercado interno y externo, entre otros.

En sus programas de compras públicas dará preferencia a las asociaciones de los microempresarios, microempresa o micro, pequeños y medianos productores y a productores agroecológicos (LORSA, 2010, p. 5).

Ñ

2.3.1 Otras regulaciones y normativas

- NTE INEN 1529-2: Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 1999).

- NTE INEN 2392. Hierbas aromáticas. Requisitos. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 2007).

- NTE INEN 1338: Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos. Quito, Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 2012).

- NTE INEN 1338: Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos. Quito, Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN, 2010).

3. Material y métodos

3.1. Enfoque de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación

La investigación planteada fue de laboratorio. El nivel de conocimientos fue exploratorio ya que sus resultados constituyeron una visión aproximada al objeto de estudio “la evaluación de la capacidad inhibitoria y antimicrobiana de los aceites esenciales de la moringa (*Moringa oleifera*) en salchichas de pollo”; además fue descriptiva por que caracterizó el empleo de una planta abundante, de fácil consecución y que constituyó en un hecho importante de ser investigado por las propiedades que presentan algunas sustancias que la conforman, en este caso en particular, sus aceites esenciales los cuales contribuyeron a solucionar un problema para la industria y para los consumidores de embutidos.

3.1.2. Diseño de investigación

La Investigación fue experimental debido a que se realizó la extracción de aceites esenciales de una especie llamada moringa (*Moringa oleifera*). Se evaluó a la moringa para determinar su capacidad *in vitro* de inhibición de microorganismos patógenos para la salud humana en diversas concentraciones y su actividad antioxidante en salchichas de pollo. Además, el tratamiento sobresaliente fue sometido a un análisis sensorial para determinar su nivel de aceptación y estimar el nivel de influencia de los aceites esenciales en sus características organolépticas.

3.2. Metodología

3.2.1. Variables

3.2.1.1 Variable independiente

- Concentraciones de los aceites esenciales de la moringa

3.2.1.2 Variable dependiente

- Actividad antimicrobiana
- Actividad antioxidante
- Efecto sensorial

3.2.2 Tratamientos

En los tratamientos para evaluar la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales se emplearon discos neutros (Oxoid, USA) empapados con aceite esencial de moringa a razón de 10, 15 y 20 μL cada uno. Para efectuar la comparación (testigo) se utilizó discos de amoxicilina y ciprofloxacina (Oxoid, USA), la distribución y el detalle de los tratamientos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución de los tratamientos y repeticiones para el análisis microbiológico

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Ingredientes	Aceites (75%)	Aceites (50%)	Aceites (25%)
Repetición 1	10 μL	15 μL	20 μL
Repetición 2	10 μL	15 μL	20 μL
Repetición 3	10 μL	15 μL	20 μL
Repetición 4	10 μL	15 μL	20 μL

Coello, 2021

3.2.3 Diseño experimental

Se planteó un diseño experimental completamente al azar DCA con tres tratamientos y cuatro repeticiones para el análisis microbiológico de las concentraciones de aceites esenciales y un testigo sin concentración de aceites esenciales.

Para las pruebas *in vitro* se utilizaron 36 unidades experimentales (cajas Petri).

Una vez que se definió la formulación que mejor capacidad antimicrobiana presentó en las pruebas *in vitro*, ésta fue valorada sensorialmente en la salchicha de pollo, para cuyo análisis estadístico se consideró también un diseño completamente al azar, pero bajo el criterio de muestras relacionadas.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1 Recursos

Estufa de temperatura desde +5 °C. hasta 250 °C.

Incubadora BINDER

Balanza digital marca EUROTECH

pHmetro PCE-PH 28L

Rotavapor BUCHI

Microscopio Nikon Eclipse

Agitador magnético analógico Cimarec

Destilador de agua

Medios de cultivo con cepas bacterianas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Agua destilada

Pipetas de vidrio

Cajas Petri de vidrio

Matraces Erlenmeyer de vidrio de 500 ml

Vasos de precipitación de vidrio de 500 ml

Varilla de vidrio

Autoclave Steam

Probetas de vidrio

Termómetro digital

Cutter

Embutidor

Cocina a gas

Ollas de aluminio

Tripa sintética para salchichas tipo Frankfurt

Condimentos

3.2.4.2 Métodos y técnicas

3.2.4.2.1 Extracción de los aceites esenciales

Para la extracción de los aceites esenciales se empleó 400 g de hojas secas de la planta, las cuales fueron maceradas en metanol al 100% por 48 a 72 horas (Guzmán, 2018).

El extracto obtenido se filtró y el material sin diluir fue nuevamente macerado en metanol al 100% para obtener mayor pureza de los diluidos.

El líquido obtenido fue purificado en un rotavapor (BUCHI Rotavapor™ R-100) a presión reducida (aprox. 11 mbar) y 40 °C.

Se estableció una relación volumen/peso.

Los aceites esenciales se envasaron en frascos ámbar sellados hermética y debidamente rotulados.

En la Figura 1 se presenta el diagrama de flujo de la obtención de los aceites esenciales de la moringa (*Moringa oleifera* Lam)

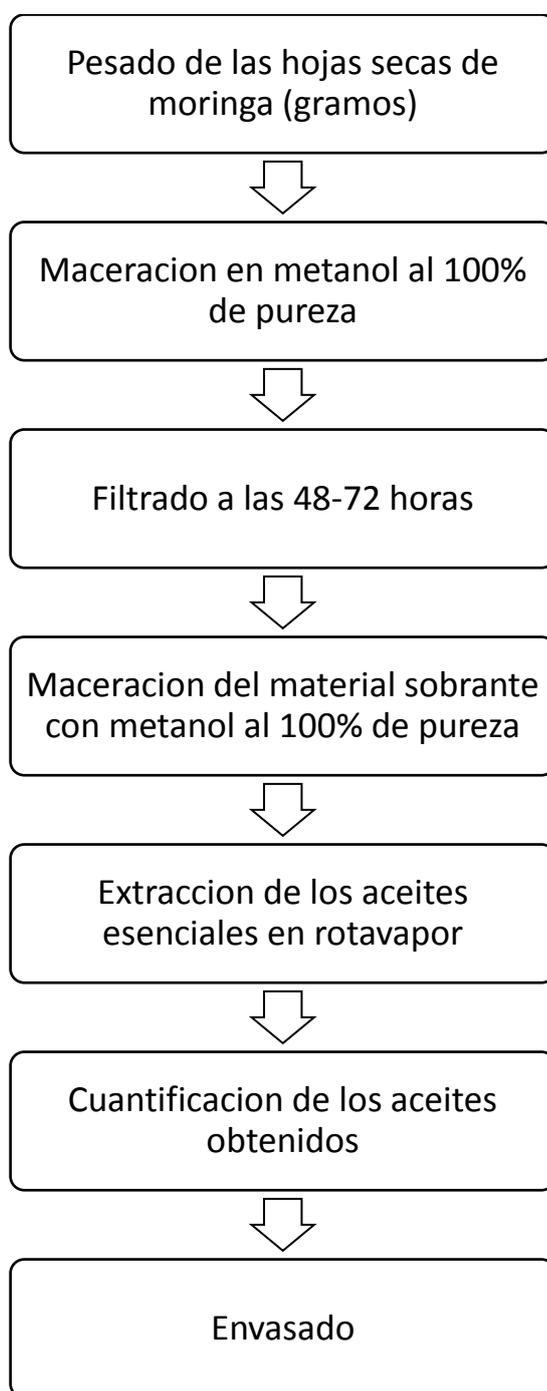


Figura 1. Diagrama de flujo de la obtención de los aceites esenciales de la moringa (*Moringa oleifera* Lam)

Coello, 2021

Descripción del diagrama de flujo de la extracción de los aceites esenciales

Pesado: Se pesó las hojas secas de moringa (400 g de hojas secas)

Los aceites esenciales se envasaron en frascos ámbar sellados hermética y debidamente rotulados.

Macerado: Esta actividad se realizó con metanol al 100% de pureza por 24 a 72 horas

Filtrado: La filtración con papel Whatman Grado 602 h: 2 μm sirvió para separar el líquido obtenido de los demás materiales no deseados

Macerado: El sobrante fue sometido a una segunda maceración para recuperar la mayor parte de aceites

Extracción: Mediante el uso de un rotavapor se procedió a extraer los aceites (BUCHI Rotavapor™ R-100 a presión reducida aprox. 11 mbar y 40 °C)

Cuantificación: Se realizó la cuantificación mediante cálculo inverso al debitar del total los materiales retenidos en el filtro Se estableció una relación volumen/peso.

Envasado: Se almacenó en frascos ámbar y en frio entre 5 a 8 °C

3.2.4.2.2. Pruebas microbiológicas

Para las pruebas microbiológicas *in vitro* se empleó discos (Oxoid, USA) neutros (en blanco) los cuales fueron embebidos en las respectivas concentraciones y colocados en las cajas Petri con las cepas bacterianas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (colección ATCC facilitadas por el INSPI) en agar Mc Conkey sorbitol (Acumedia, USA) y Baird Parker (Acumedia, USA) respectivamente. Se midió el halo de inhibición. Para efectuar la comparación (testigo) se empleó discos de eritromicina, penicilina y

estreptomicina (Oxoid, USA) para ambas bacterias. En 9.1 Anexo 1 se aprecia la preparación de los materiales.

3.2.4.2.3. *Elaboración de salchichas*

La concentración de aceites esenciales que presentó el mejor perfil de inhibición fue aprovechada en la formulación de salchichas de pollo en reemplazo parcial de las sales de nitritos para su evaluación sensorial y de vida útil. En 9.2 Anexo 2 y 9.3 Anexo 3 se presenta el procesamiento de los materiales y la elaboración de las salchichas.

En la Tabla 5 se presenta la formulación de la salchicha tipo Frankfurt en el que se incluyó los aceites esenciales (0.1%).

Tabla 5. Formulación de la salchicha tipo Frankfurt

Ingredientes	Cantidad
Carne de pollo	100%
Hielo	20%
Proteínas	2%
Almidón	3%
Sal	2%
Nitritos	0.0125%
Ácido ascórbico	0.03%
Eritorbato	0.02%
Tripolifosfato	0.42%
Oleoresina (Frankfurt)	0.06%
Canela en polvo	0,01%
Humo líquido	0.002%
Azúcar	0.1%
Aceite esencial	0.1%

Fuente: Macías, 2018

En la Figura 2 se presenta el diagrama de preparación de las salchichas de pollo.

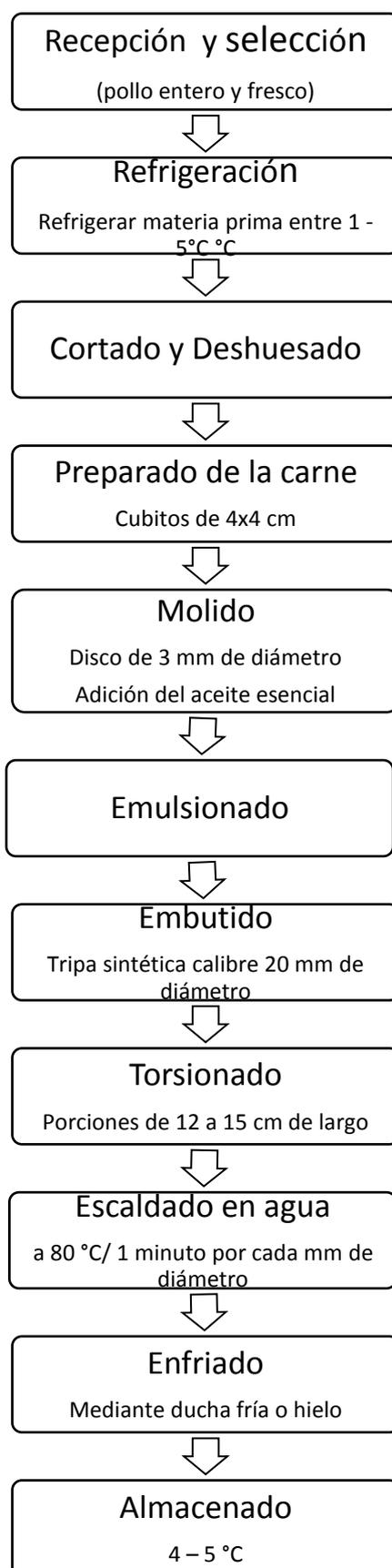


Figura 2. Diagrama de preparación de las salchichas de pollo Coello, 2021

Descripción del diagrama de flujo de elaboración de las salchichas de pollo

Recepción y selección: Se recibió la materia prima para ser procesada en el laboratorio de Biotecnología de Alimentos de la Universidad Agraria del Ecuador campus Dr. Jacobo Bucarám Ortiz, Milagro.

Refrigeración: Se conservó las materias primas cárnicas en la cámara de frío a una temperatura de entre 1°C y 5 °C.

Cortado y Deshuesado: Se realizó los diversos cortes para para obtener las carnes separándola del hueso.

Preparado de la carne: Se cortó en cubitos de 4 x 4 cm, previamente lavados y escurridos con agua limpia.

Molido: Se trituró los cubitos de la carne en un molino con disco de 3 mm de diámetro.

En este punto se agregó los aceites esenciales respectivamente del tratamiento ganador.

Emulsionado: Se realizó esta operación en el cúter, agregando el siguiente orden de ingredientes: carne de pollo, sal, fécula, nitrito y tripolifosfatos, a velocidad lenta hasta obtener una masa gruesa pero homogénea. Se aumentó la velocidad y se incorporó el hielo, se batió hasta obtener una masa fina y bien ligada. Se agregaron los condimentos, el proceso se suspende cuando la emulsión se muestre homogénea.

Embutido: La emulsión fue embutida en fundas sintéticas con un calibre de 20 mm de diámetro.

Torsionado: Las salchichas se torsionaron en cadena, aproximadamente entre 12 a 15 cm de largo.

Fue necesario no dejarlas muy apretadas para que no se revienten durante el escaldado. Además, fue importante la uniformidad de las salchichas.

Escaldado: Se escaldó en agua a 80 °C por 1 minuto por cada mm de diámetro.

Enfriado: La temperatura se redujo mediante una ducha fría o con hielo picado.

Almacenado: La salchicha se almacenó a temperatura de refrigeración entre 4 °C y 5 °C.

Análisis sensorial

Treinta jueces semientrenados evaluaron, mediante una escala hedónica (Tabla 6), el efecto sensorial del tratamiento de los aceites esenciales en las salchichas de pollo frente a un testigo comercial. En 9.4 Anexo 4 y 9.5 Anexo se muestra la realización del análisis sensorial.

Tabla 6. Tabla hedónica para la evaluación sensorial de la salchicha de pollo con aceite esencial

Escala de calificación	Valoración
Me gusta mucho	5
Me gusta	4
Me es indiferente	3
Me disgusta	2
Me disgusta mucho	1

Coello, 2021

Vida útil del producto

Asimismo, se determinó la vida útil del producto a los 21 días bajo condiciones de refrigeración (0 °C a 4 °C) frente a un testigo sin aceites esenciales.

3.2.5 Análisis estadístico

Para valorar estadísticamente la información que se generó en este ensayo en cuanto a la reducción de la carga microbiana se utilizó el análisis de varianza (ANOVA), siempre que se cumpla con el criterio de normalidad y homocedasticidad. Se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

En la prueba sensorial se utilizó la prueba *t de Student*, considerando muestras relacionada. Todas estas pruebas se realizaron al 5% de probabilidad de error tipo 1. En el caso de la ANOVA, el modelo a emplearse fue el que se indica en la Tabla 7.

Tabla 7. Análisis de varianza de los resultados microbiológicos

Fuente de variación	Grados de libertad
Tratamientos (t-1)	3
Error t(r-1)	12
Total tr-1	15

Coello, 2021

4. Resultados

4.1 Establecimiento de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de moringa

En la Tabla 8 se presentan los resultados relacionados con el coeficiente de variación (CV) y determinación ajustada (R^2A_j) de los diámetros de los halos de inhibición ocasionados por los aceites esenciales y los antibióticos en el crecimiento bacteriano de *E. coli*. Se encontró un R^2A_j de 0,93 mientras que el CV calculado fue del 11,57%.

Tabla 8. Coeficiente de variación y coeficiente de determinación de los halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de *E. coli* bajo condiciones de laboratorio

Variable	N	R ²	R ² A _j	CV
H. inhibición (mm)	48	0,94	0,93	11,57

Coello, 2021

En la Tabla 9 se muestra el análisis de varianza de los diámetros de los halos de inhibición como efecto de la acción de los aceites esenciales y los antibióticos en el crecimiento bacteriano de *E. coli*. En la interpretación de estos resultados se detectó significancia para los tratamientos ($p < 0.05$).

Tabla 7. Análisis de varianza de la variable halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de *E. coli* bajo condiciones de laboratorio

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1222,35	5	44,47	122,05	<0,0001
Tratamiento	1222,35	5	244,47	122,05	<0,0001
Error	84,12	42	2,00		
Total	1306,48	47			

Coello, 2021

En la Tabla 10 se observa la comparación de medias de los diámetros de los halos de inhibición bajo efecto de los aceites esenciales y los antibióticos en el crecimiento bacteriano de *E. coli*. En esta variable el T3 con 20 μ l de aceite esencial de la moringa presentó el valor más representativo (21,25 mm) en

términos de inhibición superando a los demás tratamientos, inclusive al que contenía penicilina (T4) mismo que mostró el comportamiento (6,38 mm) más bajo. En 9.6 anexo 6 y 9.7 Anexo 7 se exhiben las placas de Petri donde se observan a simple vista los halos de inhibición.

Tabla 10. Comparación de medias de los halos de inhibición (mm) de los aceites esenciales en cepas de *E. coli* bajo condiciones de laboratorio

Tratamientos	Medias	N	E.E.
T3: 20 μ l	21,25	8	0,50a
T2: 15 μ l	14,88	8	0,50b
T6: Eritromicina	13,75	8	0,50b
T1: 10 μ l	9,25	8	0,50c
T5: Estreptomicina	7,88	8	0,50cd
T4: Penicilina	6,38	8	0,50d

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,11246. Error: 2,0030 gl: 42
 Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Coello, 2021

En la Figura 3 se aprecia gráficamente que desde T3 hasta T6 mostraron los mayores halos de inhibición, contrariamente T1 y T2 presentaron los valores más bajos.

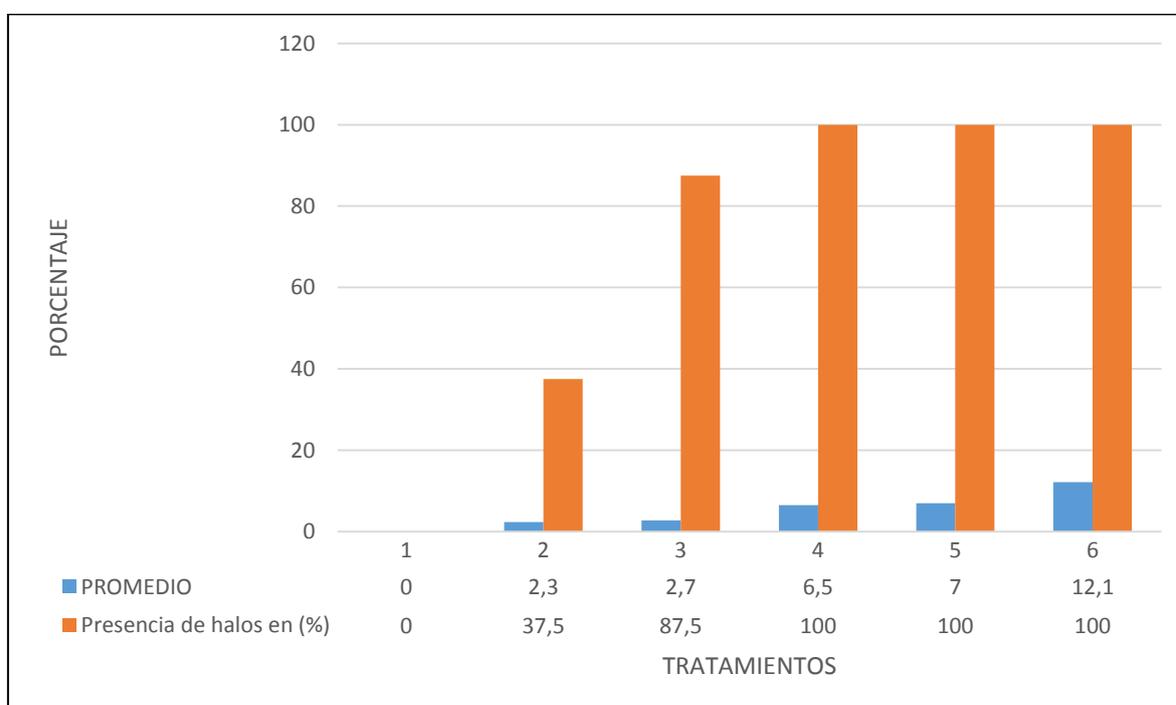


Figura 3. Diámetro promedio de los halos de crecimiento de *Staphylococcus aureus* a nivel *in vitro*

Coello, 2021

4.2 Análisis del efecto sensorial del aceite esencial de moringa que presentó mayor poder de inhibición en las salchichas de pollo

En la Tabla 11 se exhiben las medias comparativas del análisis sensorial entre las muestras con y sin aceite esencial. En esta tabla se destaca que las medias fueron bastante similares entre sí; sin embargo, se detectó diferencia significativa en el análisis debido a que se pudo observar que la variable sabor presentó significancia, contrariamente a las variables color, olor y textura que no presentaron diferencia significativa siendo iguales entre sí.

Tabla 11. Promedios de las cualidades sensoriales y comparación estadística de los tratamientos con y sin aceite esencial de moringa

	Características	Promedio	T	Calc.	P
Color	Con Aceite	3,90			
	Sin Aceite	3,70	0,84		0,4053
Olor	Con Aceite	3,47			
	Sin Aceite	3,33	0,64		0,5256
Sabor	Con Aceite	3,57			
	Sin Aceite	3,93	-2,36		0,0251
Textura	Con Aceite	3,73			
	Sin Aceite	3,67	0,30		0,7634

Coello, 2021

4.3 Determinación de la vida útil de la salchicha de pollo con aceites esenciales de moringa y testigo para evaluar la diferencia

En la Tabla 12 se aprecian los resultados sobre la vida útil desde el día cero (inicio del experimento) hasta los 30 días, del tratamiento sensorialmente mejor calificado el cual no presentó crecimiento bacteriano alguno de *E. coli* ni de *Salmonella* sp, siendo esta última declarada como ausente. En 9.8 Anexo

8 y 9.9 Anexo 9 se exhiben la boleta con los resultados del análisis de la capacidad antioxidante y microbiológico de las salchichas.

Tabla 12. Resultados de vida útil de las salchichas de pollo con aceite esencial de moringa (*Moringa oleifera*) expresado en UFC/g del tratamiento sensorialmente mejor calificado.

Parámetros	Método	Tiempo natural bajo estudio			
		0 días	10 días	20 días	30 días
<i>E. coli</i>	BAM-FDA-CAP #4 2002 REP	<10	<10	<10	<10
<i>Salmonella</i> sp.	BAM-FDA-CAP #5 2007 REP	AUS*.	AUS.	AUS.	AUS.

*/Ausente
UBA, 2021

5. Discusión

Los resultados obtenidos revelan que el tratamiento con mayor concentración de aceite esencial de moringa fue T3 (20 μ l) y presentó el mayor halo de inhibición de 21,25 mm para *E. coli* mientras que *S. aureus* no presentó halos, posiblemente debido a la acción de los contenidos de componentes terpenoides presentes en los aceites esenciales.

Vignola, Serra y Andreatta (2020) observaron diversos diámetros de los halos de inhibición (6 a 19 mm), entre ellos sobresalió en promedio el diámetro de 6,3 mm en cepas de *Lactobacillus plantarum* ES147 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Los aceites esenciales usados fueron limón y eucalipto, los cuales presentaron respuestas estadísticamente significativas.

Rueda *et al.* (2018) encontraron, bajo condiciones *in vitro*, un efecto inhibitorio de concentraciones de 10 μ l y 15 μ l del aceite esencial del orégano de hasta 67.6%, 39.33% y 36.33% para *Ralstonia solanacearum* causante de la pudrición bacteriana en papas.

Borboa *et al.* (2012) analizaron diferentes diluciones de los extractos de aceites esenciales de tomillo y orégano, los cuales mostraron mayor inhibición de crecimiento *in vitro* de la bacteria *Clavibacter michiganensis*, alcanzando diámetros de inhibición de 59.6 mm y 50.3 mm, respectivamente. Además, no presentaron significancia estadística.

Reyes, Palou y López (2012) destacan que los aceites esenciales poseen en su estructura química algunos terpenoides, sesquiterpenos y diterpenos, los cuales a su vez contienen grupos de hidrocarburos, ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres y cetonas que se conforman como grupos funcionales que poseen una importante actividad antimicrobiana.

Al evaluar el efecto sensorial del aceite de moringa en la salchicha de pollo se detectó que si existió significancia en cuanto al sabor aún cuando las demás variables sensoriales presentaron valores estadísticos similares. Esto pudo deberse a la presencia de los compuestos hidrocarburos presentes en el aceite, los que al interactuar con los componentes presentes en la matriz alimentaria se combinaron ocasionando la baja calificación sensorial por parte de los jueces semientrenados, quienes percibieron significativamente el efecto del producto oleico bajo ensayo.

De La Vega y López (2012) observaron que al incorporar la cáscara de ciruela disminuyó la rancidez oxidativa en productos embutidos de origen cárnico con contenido de carne de cerdo, res y pollo. Estos autores le atribuyen este efecto a la presencia de los compuestos antioxidantes en la cáscara de la ciruela, los cuales retrasan la oxidación. Anteriormente, Isaza et al. (como se citó en De La Vega y López, 2012) lograron un efecto similar en salchichas tipo Frankfur en el que se utilizó como antioxidante al extracto de cereza.

La adición de los antioxidantes presentes en la cáscara de ciruela a las salchichas muestra que sí ejercieron un efecto positivo ante el proceso de oxidación de las grasas presentes en las salchichas. Así, este producto es viable para su utilización en la industria de los embutidos cárnicos, ya que además beneficia al consumidor con un aporte significativo de antioxidantes naturales, ya que son las ciruelas una fruta de alto contenido de estos, además de ser económica y estar disponible casi todo el año para su utilización como agente antioxidante para la industria de los productos cárnicos.

El Codex Alimentarius (Alberca y Huanca, 2015) establece un valor de 20 meqO₂/kg de índice de peróxido que incluye a los aceites vegetales de semillas.

El aceite virgen de moringa posee un proceso lento de oxidación lipídica, asumiendo la no formación de hidroperóxidos reactivos al yoduro posteriori a la extracción por prensado en frío.

En el análisis de la vida útil de la salchicha, hasta los 30 días no se detectó contaminación alguna por lo que se deduce que el efecto inhibitorio observado *in vitro* se replicó en el producto alimenticio evaluado.

Torres *et al.* (2011), en un estudio realizado en México, detectaron prevalencias de *Salmonella* spp. del 36% y 48% para chorizos y longaniza, respectivamente. En esta misma investigación se observó prevalencias similares para *S. aureus*.

Carrillo y Reyes (2013) explican que es posible predecir el deterioro que va a sufrir un alimento cuando se correlacionan la característica del alimento, el proceso de elaboración, los microorganismos que en él pueden desarrollarse, así como las reacciones químicas a desencadenarse influenciados por el contenido bromatológico del alimento. También se debe tomar en cuenta las condiciones de almacenamiento y el transporte por todo el canal de distribución.

6. Conclusiones

Los aceites esenciales extraídos de moringa son capaces de inhibir *E. coli* a nivel *in vitro*, tal como se demostró en la medición de los halos de inhibición donde se observó que el aceite esencial a una concentración de 20 μ L fue capaz de evitar el crecimiento del patógeno en el medio de cultivo. Contrariamente no se detectó un comportamiento similar en *S. aureus* donde el aceite bajo estudio no fue competente para la inhibición de este microorganismo.

Los aceites esenciales extraídos de moringa no influyen en las propiedades sensoriales de las salchichas de pollo, excepto en el sabor donde se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados en la variable gustosidad de las salchichas de pollo analizadas.

En cuanto a la actividad antioxidante del aceite esencial de moringa se detectó un valor de 5,53 mg/mL en las muestras analizadas por espectrofotometría. Se notó que las salchichas en cuyo contenido existe el aceite esencial de moringa pueden presentar un efecto antioxidante interesante tanto para el producto como para el consumidor.

En cuanto a la vida útil de la salchicha de pollo con aceite esencial de moringa, no se observó contaminación microbiana hasta los 30 días de evaluada por lo que se concluye que sí posee un efecto inhibitorio en la matriz alimenticia.

Así, se acepta parcialmente la primera hipótesis “los aceites esenciales extraídos de moringa no influyen en las propiedades sensoriales de las salchichas de pollo”.

Se acepta totalmente la segunda hipótesis: “Los aceites esenciales extraídos de moringa son capaces de inhibir microorganismos patógenos a nivel *in vitro*.”

7. Recomendaciones

Evaluar otras concentraciones del aceite esencial de la moringa en la inhibición de *E. coli* a nivel *in vitro*.

Considerar la posibilidad de la utilización del aceite esencial de la moringa como reemplazo de sustancias de origen sintético en la inhibición de microorganismos en alimentos.

Caracterizar el contenido de terpenos presentes en el aceite esencial de moringa.

Realizar el análisis sensorial de matrices alimentarias con aceite esencial de moringa para detectar niveles permitidos sin que haya afectación en las propiedades organolépticas del alimento.

8. Bibliografía

Cueto W., M. (2010). Determinación del efecto inhibitorio del aceite esencial y diferentes extractos de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* tanto in vitro como en plántula de tomate. Coahuila, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Tesis de postgrado. Obtenido de <https://dgb.uanl.mx/bitstream/handle/201504211/16337/20143.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

AGROCALIDAD. (2009). *Instructivo de muestreo para análisis bromatológico. INT-B-09*. Guayaquil, Ecuador: Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario.

Alarcón G., Y., Trejo M., M. A., Corrales S., A., y Pascual B., S. (2015). Desarrollo de un envase activo adicionado con aceites esenciales de cítricos para el control de la podredumbre en fresa. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 222-227.

Alberca T., S., y Huanca V., M. (2015). *Evaluación del índice de estabilidad oxidativa del aceite de Moringa (Moringa oleífera Lam) por el método Rancimat* (tesis de pregrado). Universidad Señor de Sipán. Escuela académico profesional de ingeniería agroindustrial y comercio exterior, Pimentel, Perú.

Andrade L., L., Cabral S., M., Da Silva F., R., Aparecida S., L., Silva L., R., Mentel , R., . . . Barroso C., L. (2013). Structural characterization of

coagulant Moringa oleifera Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International Journal of Biological Macromolecules*, 31-36.

Arnau, J. (2011). Problemas de los embutidos crudos curados. *Eurocarne*(194), 50-65.

Bayona R., M. (2012). Prevalencia de Salmonella y enteroparásitos en alimentos y manipuladores de alimentos de ventas ambulantes y restaurantes en un sector del norte de Bogotá Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 15(2), 267 - 274.

Borboa F., J., Rueda P., E., Acevedo F., E., Ponce M., J., Cruz V., J., Ortega N., M., y Cinco M., F. (2012). Actividad antimicrobiana in vitro de volátiles de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. *XV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. "Celebrando XV años de trayectoria" 1998-2012* (págs. 871-877). Sonora: Universidad de Sonora-México. Obtenido de <https://dagus.unison.mx/publicaciones/congresos/XV%20Congreso%20Internacional%20en%20Ciencias%20Agr%C3%ADcolas/Borboa-Rueda%20Puente%20871-876.pdf>

Cabrera C., J. (2014). *Evaluación del contenido de alcaloides, flavonoides, taninos y aceites esenciales en tres estados de maduración y recolección de la moringa*. Machala. Ecuador: Universidad Técnica de Machala. Unidad Académica De Ciencias Químicas De La Salud. Carrera De Bioquímica y Farmacia. Tesis de pregrado. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/1330/7/CD000243-TESIS.pdf>

- Cáceres M., C., y Díaz A., J. (2005). *Propuesta de tratamiento de aguas de desecho de una industria química de adhesivos utilizando extracto acuoso de la semilla de Moringa oleifera (teberinto) (tesis de pregrado)*. Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador. Obtenido de [https://scholar.google.es/scholar?cluster=9273614851500142238yhl=esyas_sdt=2005ysciodt=0,5yscioq=Propuesta+de+tratamiento+de+aguas+de+desecho+de+una+industria+qu%C3%ADmica+de+adhesivos+utilizando+extracto+acuoso+de+la+semilla+de+Moringa+oleifera+\(teberint](https://scholar.google.es/scholar?cluster=9273614851500142238yhl=esyas_sdt=2005ysciodt=0,5yscioq=Propuesta+de+tratamiento+de+aguas+de+desecho+de+una+industria+qu%C3%ADmica+de+adhesivos+utilizando+extracto+acuoso+de+la+semilla+de+Moringa+oleifera+(teberint)
- Canett R., R., Arvayo M., K., y Ruvalcaba G., N. (2014). Aspectos tóxicos más relevantes de Moringa oleifera y sus posibles daños. *Biotechnica*, XVI(2). Obtenido de <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotechnica/article/view/45>
- Carrillo I., M., y Reyes M., A. (2013). Vida útil de los alimentos. *Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 2(3), 1-25. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5063620>
- Castillo L., R., Portillo L., J., León F., J., Gutiérrez D., R., Angulo E., M., Rangel M., M., y Heredia J., B. (2018). Inclusion of moringa leaf powder (moringa oleifera) in fodder for feeding japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Brazilian Journal of Poultry Science*, 20(1), 15-26. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/rbca/a/SXP3CfDWWQBwJmBNJxvgHDL/?lang=en>
- Chero Ch., V. (2018). *Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de Moringa oleifera sobre Streptococcus mutans ATCC 35668*. Chiclayo: Universidad Señor del Sipán. Facultad de Ciencias de la Salud. Tesis de pregrado. Obtenido de

<https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/5700/Chero%20Chiclayo%20Vanessa%20Rosmery.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

De La Vega. M., A., y López M., I. (2012). Propiedades antioxidantes de la cascara de ciruela aplicados a un embutido cárnico. *Nacameh*, 6(2), 33-39. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4726487>

Del Águila R., C., y Oroche P., M. (2016). *Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de la hoja de Manihot esculenta Crantz (yuca), mediante los métodos de macrodilución y difusión en disco frente a Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli (tesis de pregrado)*. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Iquitos, Perú.

Estrada H., O., Hernández R., O., y Guerrero P., V. (2016). Múltiples formas de aprovechar los beneficios de la moringa. *Tecnociencia*, X(2), 101-108. Obtenido de <https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/577>

Fernández A., M. (2002). *Efecto de la adición de proteasas en el proceso madurativo de los embutidos crudos curados*. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de nutrición y bromatología. Higiene y tecnología de los alimentos. Tesis de postgrado. Obtenido de <https://eprints.ucm.es/id/eprint/3186/>

Fernández S., J. (2018). *Extracción Enzimática del Aceite de Moringa (Moringa Oleifera) con prensa expeller y determinación de su tiempo de vida en un anaquel*. Lima. Perú: Universidad Agraria La Molina. Facultad de Industrias

Alimentarias. Tesis de pregrado. Obtenido de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3132>

Gálvez R., L., Young In, K., Apostolidis, E., y Shetty, K. (2010). Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y potencial inhibidor in vitro contra enzimas clave relevantes para la hiperglucemia e hipertensión de plantas medicinales, hierbas y especias comúnmente utilizadas en América Latina. *Tecnología Bioambiental*, 101(12), 4676-4689. Obtenido de <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/MUPLAM24.pdf>

Gaona M., C. (2018). *Uso de diferentes dosis de semilla de moringa (Moringa oleifera. Lam) en el tratamiento de aguas residuales sanitarias (tesis de pregrado)*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Cohauilla, México.

García T., A., Martínez C., R., y Rodríguez D., I. (2013). *Evaluación de los usos potenciales del Teberinto (Moringa oleífera) como generador de materia prima para la industria química*. San Salvador: Universidad de El Salvador. Facultad de ingeniería y arquitectura. Escuela de ingeniería química e ingeniería de alimentos. Tesis de pregrado. Obtenido de <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/159568>

González J., L., Martínez N., F., Rossi, L., Tornese, M., y Troncoso, A. (2010). Enfermedades transmitidas por los alimentos: análisis del riesgo microbiológico. *Infectología al día*, 27(6), 513-524. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0716-10182010000700004yscript=sci_arttextylng=en

- Guaycha P., N., Jaramillo J., C., Cuenca B., S., Tocto L., J., y Márquez H., I. (2017). Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Revista Ciencia UNEMI*, 10(22), 60 - 68. Obtenido de <https://www.redalyc.org/jatsRepo/5826/582661263006/582661263006.pdf>
- Guevara M., J., y Rovira Q., M. (2012). *Caracterización de tres extractos de Moringa oleifera y evaluación de sus condiciones de infusión en sus características fisicoquímicas*. Zamorano, Honduras: Zamorano. Departamento de agroindustria alimentaria. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1005>
- Guzmán C., M. (2018). *Efecto anti fúngico del aceite esencial de Moringa oleifera Lam. al 25, 50, 100 % frente a la Candida albicans estudio in vitro (tesis de pregrado)*. Universidad Central del Ecuador, Quito. Ecuador. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15855>
- Hernández B., S., Niguelie C., Z., Gómez L., M., y González M., C. (2016). Eficacia de la semilla de Moringa oleifera en el aclaramiento del agua. *Revista Universidad y Ciencia*, 9(14), 31-44. Obtenido de <https://camjol.info/index.php/UYC/article/view/4557>
- INEN. (1999). *NTE INEN 1529-2: Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-2-1R.pdf>

- INEN. (2007). *NTE INEN 2392. Hierbas aromáticas. Requisitos*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2392-1R.pdf>
- INEN. (2012). *NTE INEN 1338: Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos*. Quito, Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-1217-2.pdf>
- Jaramillo C., B., Duarte R., E., y Delgado, W. (2014). Bioactividad del aceite esencial de *Ocimum micranthum* Willd, recolectado en el departamento de Bolívar, Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 185-196. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962014000200007yscript=sci_arttext&lng=pt
- Lara V., T. (2018). *Efecto antimicrobiano del extracto de hoja y semilla de guanábana (Annona muricata) en diferentes concentraciones sobre Streptococcus mutans. Estudio comparativo in vitro (tesis de pregrado)*. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Lema A., A. (2018). *Evaluación de la actividad antimicrobiana "in vitro" del extracto hidroalcohólico de las hojas de Melissa officinalis (toronjil) en Proteus spp.* Ambato, Ecuador: Universidad Regional Autónoma de los Andes. Facultad de ciencias médicas. Programa de maestría en farmacia clínica y hospitalaria. Tesis de Postgrado. Obtenido de <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/UMA/452>

Liñán T., F. (Diciembre de 2010). Moringa oleifera el árbol de la nutrición. *Ciencia y Salud Virtual*, Vol. 2(1), 130-138. Obtenido de <https://revistas.curn.edu.co/index.php/cienciaysalud/article/view/70>

LORSA. (2010). *Ley Orgánica de Régimen de Seguridad Alimentaria*. Quito, Ecuador: Ediciones Nacionales. Gaceta Oficial. Obtenido de <http://www.ruminahui-faenamiento.gob.ec/transparencia2019/documentos/Ley%20Org%C3%A1nica%20del%20R%C3%A9gimen%20de%20la%20Soberan%C3%ADa%20Alimentaria.pdf>

Marco C., A. (2017). *Caracterización de los compuestos aromáticos en embutidos crudos curados y estudio de los factores que afectan a su generación*. Valencia, España: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Tesis de postgrado. Obtenido de <https://roderic.uv.es/handle/10550/15543>

Marrero D., D., Vicente M., R., González C., V., y Gutiérrez A., J. (2014). Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de Moringa oleifera que crece en la Habana, Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 197-204. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200008

Martín, C., Martín, G., García, A., Fernández, T., Hernández, E., y Puls, J. (2013). Potenciales aplicaciones de Moringa oleifera. Una revisión crítica. *Pastos y Forrajes*, 36(2), 137-149. Obtenido de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0864-03942013000200001

Molina S., N. (2017). *Investigación de la adulteración y falsificación de la Moringa oleifera (Moringa) en cápsula y material vegetal seco comercializada en siete mercados en el municipio de San Salvador*. San Juan. El Salvador: Universidad Del El Salvador. Facultad de Química y Farmacia. Tesis de pregrado. Obtenido de <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6541/1/234064.pdf>

Montes A., J., Restrepo F., C., Patiño G., J., y Cano. S., J. (2013). Efecto de la concentración de cultivos iniciadores y dextrosa sobre la calidad de la maduración y vida útil sensorial del pepperoni. *Revista lasallista de investigación*, 10(1), 101-111. Obtenido de <http://repository.lasallista.edu.co:8080/ojs/index.php/rldi/article/view/427>

Ossa, J., Coral, A., y Vanegas, M. (2010). Microbiota de jamones de cerdo cocidos asociada al deterioro por abombamiento del empaque. *MVZ*, 15(2), 2078-2086. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3304984>

Pabón B., L., Vanegas G., J., Rendón F., M., Santos A., R., y Hernández R., P. (2013). Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 57-70. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttextpid=S1028-47962013000100008

- Paniagua, A., y Chora, J. (2016). Elaboración de Aceite de semillas de Moringa Oleífera para diferentes usos. *Revista de Ciencias de la Salud*, 3(9), 36-46. Obtenido de https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_de_la_Salud/vol3num9/Revista_Ciencias_de_la_Salud_V3_N9_5.pdf
- Pérez G., N. (2013). *Comparación sensorial entre una salchicha escaldada elaborada a base de carne de pato (Cairina Moschata) y una salchicha elaborada a base de carne de pollo (Gallus Gallus)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de medicina y veterinaria y zootecnia. Tesis de pregrado. Obtenido de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2211/>
- Pérez, A., Sánchez, T., Armengol , N., y Reyes, F. (2010). Características y potencialidades de Moringa oleifera, Lamark. *Pastos y Forrajes*, 33(4), 1-16. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03942010000400001yscript=sci_arttext&lng=en
- Poma R., L., y Paz C., C. (2017). *Efecto antimicrobiano del extracto de cubio (Tropaeolum tuberosum) frente a Listeria monocytogenes en carne de hamburguesa*. Bogotá, Colombia: Universidad De La Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos. Tesis de pregrado. Obtenido de https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/71/
- Puma I., G., y Núñez S., C. (2018). Desarrollo de hot-dog a base de carne de pollo (Gallus gallus) mediante la ingeniería Kansei tipo II. *Revista La Molina*, 79(1), 201 - 209. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6490049>

- Ramírez R., J., Rosas U., P., Velázquez G., M., Ulloa, J., y Arce R., F. (2011). Bacterias lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente*, 2(7), 1-16. Obtenido de <http://aramara.uan.mx:8080/handle/123456789/436>
- Ramos G., M., Barrera N., L., Bosquez M., E., Alia. T., I., y Estrada C., M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista mexicana de Fitopatología*, 28(1), 44-57. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092010000100005yscript=sci_abstractytling=pt
- Reyes J., F., Palou, E., y López M., A. (2012). Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*, 6(1), 29-39. Obtenido de [https://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf](https://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf)
- Rodríguez S., E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai. Revista de la sociedad, cultura y desarrollo sustentable*, 7(1), 153-170. Obtenido de http://www.uaaim.edu.mx/webraximhai/Ej-19articulosPDF/14-USO%20DE%20AGENTES%20ANTIMICROBIANOS%20%20NATURALE%20EN%20LA%20%20CONSERVACION_Elvia%20Rguez.pdf
- Roldán F., L. (2010). *Evaluación de los aceites esenciales como alternativa al uso de los antibióticos promotores de crecimiento en pollos de engorde*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina

Veterinaria y Zootecnia. Tesis de pregrado. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16487>

Rueda P., E. O., Juvera B., J., Romo L., I., y Holguín P., R. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de orégano y tomillo contra *Ralstonia solanacearum*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas volumen especial número 20*, 1(20), 4251-4262. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v9nspe20/2007-0934-remexca-9-spe20-4251.pdf>

Sánchez G., L. (2012). *Efecto de compuestos fitoquímicos sobre microorganismos de importancia en alimentos*. Cohauilla, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad De Ciencias Biológicas. Tesis de Postgrado. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/3339/1/1080237529.pdf>

Solano M., R. (2012). *Evaluación físico-químico, microbiológica sensorial de una salchicha a base de pollo con vísceras de cerdo y harina de naranja (Citrus Sinensis) y maracuyá (Passiflora Edulis)*. Zamorano, Honduras: Zamorano. Carrera de agroindustria alimentaria. Tesis de Postgrado. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1221/1/AGI-2012-T043.pdf>

Torres V. , M., Navarro H., V., Villaruel L., A., y Olea R., M. (2011). Prevalencia de Salmonella y Staphylococcus aureus en chorizo y longaniza. *Nacameh*, 5(1), 96-107. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4024306>

- Vázquez H., M. (1976). *Determinación de Estafilococos aureus en embutidos como índice de contaminación*. Queretaro, México: Universidad Autónoma de Queretaro. Facultad de ciencias químicas. Químico farmacobiólogo. Tesis pregrado. Obtenido de <http://ri.uaq.mx/handle/123456789/6284>
- Velázquez del Valle, M., Bautista B., S., Hernández L., A., Guerra S., M., y Amora L., E. (2008). Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, agente causal de pudriciones postcosecha en productos agrícolas. *Fitopatología*, 26(1), 49-55. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092008000100008&script=sci_abstract&lng=pt
- Velázquez Z., M., Peón E., I., Zepeda B., R., y Jiménez A., M. (2016). Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): usos potenciales en la agricultura, industria y medicina. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, Vol. XXII(2), 96-116. Obtenido de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience/article/view/3452>
- Vignola, M. B., Serra, M., y Andreatta, A. E. (2020). Actividad antimicrobiana de diversos aceites esenciales en bacterias benéficas, patógenas y alterantes de alimentos. *Revista Tecnología y Ciencia*, 18(37), 92-100. Obtenido de https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/132393/CONICET_Digital_Nro.5714202b-8586-4093-b7d8-f18a7f581ea7_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Villarreal G., A., y Ortega A., K. (2014). Revisión de las características y usos de la planta Moringa oleífera. *Investigación y desarrollo*, 22(2), 309-330. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/268/26832007007.pdf>

Zambrano, L. (12 de enero de 2017). La moringa, una planta que "siembra" negocios. *Expreso*, pág. edición digital. Recuperado el 21 de 11 de 2019, de <https://www.expreso.ec/economia/la-moringa-una-planta-que-siembranegocios-XE1006536>

9. Anexos



**9.1 Anexo 1. Preparando los materiales para los análisis microbiológicos
Coello 2021**



**9.2 Anexo 2. Procesando las materias primas para elaborar las salchichas de pollo
Coello, 2021**



9.3 Anexo 3. Elaboración de la salchicha de pollo en el laboratorio de procesamiento de alimentos de la UAE, en Milagro Coello, 2021



9.4 Anexo 4. Evaluación sensorial de la salchicha de pollo con aceite esencial de moringa
Coello, 2021



9.5 Anexo 5. Realizando el análisis sensorial de las salchichas de pollo con aceite esencial de moringa Coello, 2021



9.6 Anexo 6. Prueba de inhibición mediante discos empapados con aceite esencial de moringa en el crecimiento bacteriano
Coello, 2021



9.7 Anexo 7. Prueba de efectividad del aceite esencial de moringa mediante los halos de inhibición
Coello, 2021



INFORME DE RESULTADOS
IDR 29778-2021

Fecha: 08 de Enero del 2021

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO					
Dirección	Milagro					
Teléfono	0951918782					
Contacto	Sr. Nestor Coello					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Salchicha de Pollo	Cantidad	Aprox. 300 g			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	N/A			
Presentación	Funda plástica	Fecha de recepción	06 de Enero del 2021			
Colecta de muestra	Realizado por Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.3	Humedad (%)	65.0			
Fecha de Inicio de Análisis			07 de Enero del 2021			
Fecha de Finalización del análisis			07 de Enero del 2021			
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Limite de Cuantificación
Salchicha de Pollo con Aceite Esencial de Moringa	UBA-29778-1	Actividad Antioxidante DPPH (IC50)	(DPPH Method) (Espectrofotometria)	5.53 IC50 (Ac Gálico)	mg/mL	-
				1.56 IC50 (Ac Ascórbico)		
Observaciones:						
1. Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.						
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.						
3. Nomenclatura: N.D. = No Detectable; N. A= No Aplica.						
4. La información relacionada con la toma de muestra fue proporcionada por el cliente. El Laboratorio no se responsabiliza de la veracidad de la información que ha sido proporcionada por el cliente y que puede afectar directamente a la validez de los resultados.						

9.8 Anexo 1. Resultados del análisis de capacidad antioxidante del aceite esencial de moringa Coello, 2021



INFORME DE RESULTADOS
IDR 29779-2021

Fecha: 05 de Febrero del 2021

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	COELLO CHIGUANO NESTOR FRANCISCO					
Dirección	Milagro					
Teléfono	0961915762					
Contacto	Sr. Nestor Coello					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Salchicha de Pollo	Cantidad			Aprox. 300 g	
No. de muestras	1 (n=1)	Lote			N/A	
Presentación	Funda plástica	Fecha de recepción			06 de Enero del 2021	
Colecta de muestra	Cliente	Fecha de colecta de muestra			N.A.	
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	18.6	Humedad (%)			55.0	
Fecha de Inicio de Análisis	07 de Enero del 2021					
Fecha de Finalización del análisis	05 de Febrero del 2021					
RESULTADOS						
FICHA DE ESTABILIDAD NATURAL						
Temperatura= 30 ±5 °C			Humedad: 65 ± 5 %			
CODIGO UBA-29779-1						
CODIGO CLIENTE: Salchicha de Pollo con aceite esencial de moringa						
PARAMETROS	METODO	Tiempo Natural: 0 días	Tiempo Natural: 10 días	Tiempo Natural: 20 días	Tiempo Natural: 30 días	Unidad
E. Coli	BAM-FDA CAP. #4 2002 (Recuento en placa)	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Salmonella	BAM-FDA CAP. #5 2007 (Recuento en placa)	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	UFC/g
Observaciones:						
1. Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.						
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.						
3. <10 Ausencia de crecimiento en la menor dilución empleada.						
4. La información relacionada con la toma de muestra fue proporcionada por el cliente. El Laboratorio no se responsabiliza de la veracidad de la información que ha sido proporcionada por el cliente y que puede afectar directamente a la validez de los resultados.						

9.9 Anexo 2. Resultados del análisis de vida útil de las salchichas de pollo elaboradas con el aceite de moringa como antimicrobiano Coello, 2021