ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

"Estudio Higiénico Sanitario de los Embutidos tipo "salchichas" que se expenden en los Mercados Populares de Guayaquil"

TESIS DE GRADO

Previo la obtención del Titulo de:

INGENIERO DE ALIMENTOS

Presentada por:

Maria Fernanda Alzamora Ramírez

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO 2007

AGRADECIMIENTO

A toda las personas que de una o otra forma colaboraron en la realización de este trabajo y especialmente a la Ing. Ana Maria Costa Directora de Tesis, por su incondicional e invaluable ayuda.

DEDICATORIA

A DIOS

A MIS PADRES

A MI ABUELITA FLORA

A MIS HERMANOS

A MI FAMILIA

A MIS AMIGOS

TRIBUNAL DE GRADUACION

_____ _____

Ing. Eduardo Rivadeneira P.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Tecnlga. Ana Maria Costa V.
DIRECTOR DE TESIS

_____

Ing. Luís Miranda S.
VOCAL

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL".

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

_____

Maria Fernanda Alzamora Ramírez

RESUMEN

El objetivo principal de la presente investigación es evaluar la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos en los establecimientos que preparan y sirven dichos productos en nuestra ciudad.

El producto evaluado fue las salchichas tipo vienesa, se tomaron muestras de los cuatro mercados populares de Guayaquil que se los dividirá en tres zonas: Norte, Centro y el Sur; se tomo en consideración las marcas existentes de salchichas y principalmente aquellas de mayor distribución para el consumo masivo. Los criterios utilizados fueron el contaje total *Staphylococcus aureus*, contaje de *Salmonella*, recuentos de *Coliformes totales* y *Escherichia coli*, además de monitoreo de temperatura.

La calidad microbiológica de la mayoría de las salchichas estuvo dentro del grado de calidad rechazable. Menos de la mitad de los alimentos estuvieron fuera de los rangos recomendados de temperatura. Los alimentos expuestos en la zona de peligro demuestran una relación significativa con el número de bacterias de *coliformes totales y escherichia coli* presentes en el alimento.

La necesidad de las autoridades de salud pública deben intensificar los esfuerzos para monitorear las condiciones de higiene y saneamiento en los mercados.

INDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN……I

INDICE GENERAL…….....……III

ABREVIATURAS……..…….. VI

INDICE DE FIGURAS……..……. VII

INDICE DE TABLAS……..……... VIII

INTRODUCCION……1

CAPITULO 1

1. GENERALIDADES.....4

1.1 Materia Prima.....4

1.2 Descripción del producto…… 10

1.3 Descripción del Proceso de Elaboración de salchichas……...12

1.4 Efectos de los Microorganismos sobre Los embutidos……..19

1.4.1 Microorganismos presentes en los embutidos……19

1.4.2 Enfermedades transmitidas por los alimentos……23

1.4.3 Deterioro de los embutidos……..28

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y METODOS.....31

2.1 Diseño Del Experimento…….31

2.1.1 Estudio de población y recolección de datos…….32

2.1.2 Toma de muestras…….35

2.1.3 Monitoreo de Temperaturas…….36

2.1.4 Preparación de las muestras…….37

2.2 Análisis Bacteriológico…….37

2.2.1 Determinación de coliformes totales y Escherichia coli……..38

2.2.2 Determinación de Staphylococcus Aureus…….40

2.2.3 Determinación de Salmonella Microwell ELISA……42

2.2.4 Interpretación del Análisis Microbiológico…….50

2.3 Análisis Estadístico…….52

CAPITULO 3

3. ANALISIS DE RESULTADOS.....56

3.1 Resultados De Los Tipos De Salchichas……..56

3.2 Distribución de las muestras analizadas por mercados……...57

3.3 Resultados Del Monitoreo De Temperaturas……58

3.3.1 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según resultados microbiológicos…….58

3.3.2 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según el establecimiento……..…65

3.4 Resultados Microbiológicos…….……67

3.4.1 Análisis estadístico según criterios microbiológicos……..69

3.4.2 Análisis estadístico para el contaje de coliformes totales según el mercado ……..……71

3.4.3 Análisis estadístico para el contaje de Escherichia Coli según el mercado…….……73

3.4.4 Análisis estadístico para el contaje de Staphylococcus Aureus según el mercado……..….73

3.4.5 Análisis estadístico para el contaje de Salmonella según mercado……..…76

CAPITULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....79

APENDICES

BIBLIOGRAFIA

ABREVIATURAS

AOAC	INTERNATIONAL Official Method of Analysis^{SM}
a_w	Actividad de agua
ºC	Grados centígrados
DI50	Dosis infectiva que produce la enfermedad en el 50 % de la población
DMI	Dosis mínima infectiva
DNA	Acido desoxirribonucleico
DNasa	Desoxirribonucleasa
°F	Grados Fanhereint
g	gramos
h	Horas
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
KG	Kilogramos
min.	Minutos
ml	Militro
NaCl	Cloruro de Sodio
nm	Nanometro
pH	Potencial de hidrogeno
PPG	Pedro Pablo Gómez
TMB	Tetrametilbenzidina
UFC/g	Unidades formadoras de colonias por gramo
ul	Microlitro
VRB	Bilis Rojo Violeta

INDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.1 Máquina Trituradora……...13
Figura 1.2 Mezclado de la carne……..…14
Figura 1.3 Máquina embutidora……..15
Figura 1.4 Diagrama del Proceso de Salchichas……...18
Figura 2.1 Mapa de las Regiones del muestreo…….....32
Figura 2.2 Variedad de salchichas en los distintos mercados de guayaquil……...33
Figura 2.3 Muestra con Coliformes totales y E. coli en petrifilms……..…40
Figura 2.4 Muestra con Staphylococcus aureus en petrifilms…….……..42
Figura 2.5 Reactivos del Test de Microwell Elisa…… 45
Figura 2.6 Muestra con Salmonella en Microwell Elisa……..50
Figura 3.1 Tipos de salchichas analizadas (N=48)……...57
Figura 3.2 Comparación del grado de calidad microbiológica en los 4 criterios microbiológicos……..…….…..68

INDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1 Formulaciones sobre 100kg……11
Tabla 2 Factores que limitan el desarrollo y la resistencia al calor de bacterias procedentes del reservorio animal/humano……..22
Tabla 3 Niveles asignados para cada factor del estudio higiénico sanitario de los embutidos tipo salchicha……...34
Tabla 4 Requisitos microbiológicos en muestra unitaria……51
Tabla 5 Distribución de la muestra por mercado……....57
Tabla 6 Estudiar la asociación de riesgo de temperaturas peligrosas para coliformes totales. Valores observados y valores esperados…… 59
Tabla 7 Estudiar la asociación de riesgo de temperaturas peligrosas para escherichia coli. Valores observados y valores esperados…… 62
Tabla 8 Estudiar la asociación de riesgo de temperaturas peligrosas para staphylococcus aureus. Valores observados y valores esperados……63
Tabla 9 Estudiar la asociación de riesgo de temperaturas peligrosas para salmonella. Valores observados y valores esperados.....64
Tabla 10 Estudiar la asociación de riesgo de temperaturas peligrosas según e tipo de establecimiento. Valores observados y valores esperados. ……..……66
Tabla 11 Datos microbiológicos de las muestras analizadas de acuerdo a la norma INEN para productos càrnicos……68
Tabla 12 Estudiar la asociación del contaje Escherichia coli y la relación con Staphylococcus aureus según el tipo de establecimiento. Valores observados y valores esperados……..70
Tabla 13 Tabla de contingencia para estudiar la asociación del contaje coliformes totales según el mercado. Valores observados y valores esperados……72
Tabla 14 Estudiar la asociación del contaje escherichia coli según el mercado. Valores observados y valores esperado……..74
Tabla 15 estudiar la asociación del contaje staphylococcus aureus según el mercado. Valores observados y valores espera……..75
Tabla 16 Estudiar la asociación del contaje salmonella según el mercado. Valores observados y valores esperados……78

INTRODUCCION

Desde la existencia de la raza humana, los alimentos han sido producidos para satisfacer las necesidades biológicas de la humanidad. En el mundo actual, la cadena de producción y distribución de alimentos es cada vez más larga y en la mayoría de los casos el alimento llega hasta el consumidor luego de haber recorrido una serie de modificaciones y transformaciones.

Cuando los alimentos son contaminados en niveles inadmisibles de agentes patógenos, contaminantes químicos u otros, aumentan los riesgos para la salud de los consumidores y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones. Las enfermedades transmitidas por los alimentos son la causa más importante en la reducción del crecimiento económico. Los datos recopilados durante la última década revelan un aumento en la incidencia de enfermedades causadas por la ingestión de alimentos procesados. El consumidor está gastando más del 50% del dinero destinado a alimentos en comidas fuera del hogar, especialmente en alimentos potencialmente peligrosos como comidas rápidas "*fast foods*" y "*salad bars*" (pavo, pollo, carne molida, salchichas, huevos, frutas y hortalizas).

El adiestramiento del personal en cuanto a la adopción de buenas prácticas contribuye en la reducción de las enfermedades transmitidas por los alimentos, y por ende ayuda a disminuir los riesgos asociados a la salud y la economía del país. Por tales razones, es necesario realizar más estudios que permitan conocer la calidad en términos de su inocuidad en este tipo de productos como las salchichas y su incidencia con las enfermedades causadas por la ingestión de alimentos elaborados.

El objetivo principal de la presente investigación es evaluar la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos en los establecimientos que preparan y sirven dichos productos en nuestra ciudad.

Para dicho propósito se llevaron a cabo los procedimientos microbiológicos de métodos rápidos, “Petrifilm” 3M aprobados por la AOAC como método alterno (8) para identificar Coliformes totales, *E. Coli y Staphylococcus aureus*. Además del recuento de Salmonella mediante Microwell Elisa.

A las muestras de alimentos se les verificara la temperatura para el manejo adecuado de alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos. Estos datos serán utilizados para determinar el efecto del abuso de temperatura y otros factores de riesgo de contaminación en la calidad microbiológica de estos productos. A partir de los datos obtenidos en el

muestreo y análisis microbiológico se efectuara el tratamiento estadístico de X^2 a los resultados obtenidos.

CAPITULO 1

1. GENERALIDADES

1.1. Materia Prima

Las materias primas son aquellas sustancias alimenticias que intervienen en distintas formas en la elaboración de los productos cárnicos, las principales son: carne, grasa, vísceras y despojos, tripas naturales y artificiales, sangre, sustancias curantes y especies.

- **Carne:** es el tejido muscular de los animales que se utiliza como alimento humano en forma directa o procesada. La carne consiste en agua, proteína, grasa, sales, e hidratos de carbono, la composición de las diferentes clases de carne es variable; por esto cada clase de carne tiene su propia

aplicación en los distintos productos cárnicos y determina la calidad de éstos.

El color de la carne depende de la edad del animal por ejemplo, el color de la carne en cerdos jóvenes es rojizo claro, y se utiliza para la elaboración de embutidos escaldados y cocidos.

El color de la carne de cerdos de mediana edad es rojo y su carne se utiliza para toda clase de productos, el color de la carne de animales viejos es rojo oscuro y su carne se utiliza para productos crudos de larga duración.

En cuanto al estado de maduración, algunos productos necesitan utilizar carne sin madurar, como por ejemplo los productos escaldados, para permitir una mejor absorción de agua y se evidencia mejor el sabor particular del producto elaborado.

- **Grasa:** La grasa de los tejidos como la dorsal, la de la pierna, la de la papada, son grasas resistentes al corte, y se destinan a la elaboración de productos.

- **Vísceras Y Despojos:** Se conocen las siguientes partes del animal: corazón, estómago, hígado, lengua, riñones, bazo, carne de la papada, tripa, etc. Se considera despojos también a los pedazos de carne mal desangrada y carne interna del animal (músculos del diafragma y otros.).

- **Tripas artificiales:** son higiénicas, el diámetro uniforme y la ausencia de olores extraños. De acuerdo con las propiedades, se distinguen los siguientes materiales para envolturas.

    I. Celulosa para toda clase de embutidos.

    II. Pergamino especial para embutidos cocidos.

    III. Fibra membrana para toda clase de embutidos.

- **Sangre:** se recoge en el momento de la sangría y es un excelente medio nutritivo para la mayoría de las bacterias que pueden producir alteración, por ello es necesario recogerla en condiciones higiénicas y no debe guardarse por más de tres días en refrigeración, para tiempos más largos de conservación se debe salar o congelar.

ج **Sustancias curantes y aditivos**

- **Sal** común se utiliza ampliamente en la elaboración de embutidos y tiene varios fines, entre ellos: prolongar el poder de conservación, mejorar el sabor de la carne, aumentar el poder de fijación de agua, favorece la penetración de otras sustancias curantes y favorece la emulsificación de los ingredientes.

- **Nitratos y nitritos**, estos favorecen el enrojecimiento y la conservación por su efecto bactericida. Sin embargo, el nitrito es tóxico y para la preparación de productos cárnicos solamente es permitido utilizar una concentración de unos 15 miligramos de nitrito por cada 100 grs. de carne.

- **Fosfatos**, estos productos que son sales de ácidos fosfóricos favorecen la absorción de agua, emulsifican la grasa, disminuyen las pérdidas de proteínas durante la cocción, reduce el encogimiento del producto y tiene una pequeña acción bacteriostática, sin embargo en algunos países no se permite su empleo porque su utilización puede enmascarar defectos de elaboración, normalmente

se permite su utilización en proporción de 0.4% de la masa elaborada.

- **Aglutinantes**, son sustancias que se esponjan al incorporar agua facilitando la capacidad fijadora de agua además mejoran la cohesión de las partículas de los diferentes ingredientes. Es aconsejable que éstos productos tengan un color claro y un sabor y olor neutros.

- **Azúcar**, influye sobre el sabor del producto terminado, pero también desempeña un papel importante en el desarrollo de la microflora del curado, tiene además un efecto de conservación como consecuencia de su conversión en ácidos y disminución de pH.

- **Ácido ascórbico o ascorbatos**: favorecen el enrojecimiento del producto en presencia de nitritos y preserva el color.

- **Glutamato monosódico**: es la sal sódica del ácido glutámico y sirve principalmente para acentuar el sabor de las especias en el producto.

- **Antioxidantes**: impiden la oxidación de la grasa

- **Colorantes**: confieren la tonalidad que se desea al producto.

- **Antibióticos**: ejercen una acción conservadora, sin embargo la legislación de muchos países impiden su utilización.

ح **Especias, condimentos y hierbas**

Normalmente bajo el nombre de especias y condimentos, se conocen las especies naturales o hierbas, y con sustancias aromáticas que confieren olores y sabores especiales.

Debido a que las especias naturales presentan una variación en su contenido de elementos activos, se evitan, usando con frecuencia extractos de aceites esenciales, lo que permite también aumentar la higiene, ya que uno de los grandes problemas de esos productos es su alta contaminación en los productos naturales y por otro lado no contienen sustancias colorantes o enzimáticos que afecten el producto. Las más utilizadas son: pimienta, culantro, nuez moscada, flor de

macis, clavo de olor, jamaica, canela, orégano, cardamomo, laurel, etc. (6).

1.2 Descripción del Producto.

Los embutidos ocupan un gran volumen en la alimentación de la población y en la economía de la industria de la carne, en algunos países el consumo de embutidos asciende a 50% del total de la carne, como por ejemplo Alemania, sin embargo, también existen países que no tienen tradición en el consumo de productos cárnicos.

Los productos que se pueden elaborar en una planta procesadora de embutidos son muy numeroso, esta diversidad se debe a los diferentes procesos y procedimientos a la que puede ser sometida la materia prima y sus agregados para obtener los productos finales

Embutidos escaldados: Son productos que contienen cierta cantidad de agua extraña (agregada) distribuida uniformemente que permanecen en gran proporción en el embutido, a pesar del proceso térmico (escaldado) lo que hace que el embutido sea jugoso y esponjoso. Los embutidos escaldados se elaboran a partir

de carne fresca y se someten a un proceso de cocción (escaldado) en agua caliente a 75-80ºC, por un tiempo que lo determina el grosor de los embutidos. Los principales embutidos escaldados son:

- Salchichas tipo Viena o Frankfurt
- Salchicha tipo Cóctel
- Mortadela

TABLA 1

FORMULACIONES EN BASE A 100 KG

Salchicha tipo Viena		**Salchicha tipo Frankfurt**	
Carne de Res	25 Kg	Carne de Res	70 Kg
Carne de cerdo	75 Kg	Grasa o tocino	30 Kg
Hielo	2 Kg	Hielo	30 Kg
Sal de cura	2 Kg	Sal	2 Kg
Mezcla de curado		Azúcar	0.100 Kg
Condimentos Viena		Cebolla	0.500 Kg
		Mezcla de curado	
		Condimentos de Frankfurt	

Fuente: Maria Fernanda Alzamora R. (2006)

1.3. Descripción del Proceso de Elaboración de Salchichas

A continuación se explica brevemente la tecnología utilizada para el proceso de elaboración de salchichas (11).

Cortado y Molido.- Es un proceso previo de todo proceso de embutido, sobre todo cuando se aplica en la producción la carne congelada en bloque, que necesariamente deberá ser cortada en trozos por máquinas especiales llamadas guillotinas.

Emulsificación o Trituración.- En la mayoría de los embutidos se aplica la trituración de una parte de la masa cárnica o toda como por ejemplo chorizo, salame, etc.; en otros se emulsifican una parte y los otros constituyentes (tocino, carne de cerdo, etc.). Se pican o se muelen solo para garantizar una estructura específica.

Este proceso de emulsión es una destrucción mecánica de las fibras musculares y efectúa una liga o sea una emulsión entre la proteína muscular (miosina), la grasa y el agua.

Se debe controlar la cantidad de grasa en la emulsión, en relación con la fase proteína-agua. Y otro factor a controlar es la temperatura, por encima de 16ºC se desdobla o se rompe la emulsión.

La trituración y la emulsificación se realizan en máquinas especiales llamadas cutter; nombre que procede del inglés “to cut” es decir, cortar, que en realidad son máquinas de cortar y mezclar y cuyo principio de funcionamiento es: un plato o depósito que posee un movimiento rotativo, en el centro un vástago (eje) con un juego de cuchillas (de 2 a 12) en diferentes formas pero generalmente en forma de hoz, que giran a alta velocidad. El plato también se mueve a dos velocidades generalmente de 10 a 50 revoluciones por minuto. Las cuchillas giran a 4000 revoluciones por minuto. Algunas de estas máquinas pueden elaborar productos sin previo troceado o molido de la carne, y también poseen dispositivos automáticos suplementarios para carga y descarga mecánica y controles muy sofisticados.

FIGURA 1.1. MAQUINA TRITURADORA

Mezclado.- Para ciertos productos como chorizo, salame, jamones estructurados, etc., el mezclado es un proceso fundamental para lograr un buen producto. Durante este proceso se añaden todos los componentes, condimentos y aditivos, y se debe lograr una buena mezcla ya que es la base para lograr una masa bien ligada y consistente. Igualmente, durante este proceso se puede elevar la temperatura de la masa, es recomendable que no suba de 10ºC.

FIGURA 1.2.- MEZCLADO DE LA CARNE

Emulsificadores o Molinos Coloidales.- Generalmente cuando se utilizan rellenos cárnicos como pellejos, bembos, tendones, etc., en productos como salchichas, patés, etc., en donde se necesita una buena trituración para lograr una emulsión estable se utilizan molinos coloidales, que permitan una finura que se puede variar.

Embutido y Amarre.- Independientemente de cómo se haya preparado la masa del producto ya sea en la cutter solamente o combinada en ésta y después en la mezcladora o simplemente en la mezcladora, la operación subsiguiente consiste en introducir o embutir esta masa cárnica en las tripas o moles correspondientes y realizar después el amarre final del producto.

Para el amarre de los productos se utilizan varios equipos que se acoplan a las máquinas embutidoras, uno de esos equipos son las clipsadoras que utilizan el alambre metálico para el amarre, otra forma son las máquinas torcedoras que generalmente el sistema está acoplado a la embutidora.

FIGURA 1.3.- MAQUINA EMBUTIDORA

Tratamientos Térmicos.- Una vez embutido y amarrado el producto éstos se disponen en los carros especiales para someterlos a los procesos térmicos. El colgado de los embutidos se debe realizar teniendo cuidado de cumplir con algunas recomendaciones, la separación entre barras evitan que se peguen entre sí o con los marcos metálicos de los carros.

El tratamiento térmico se considera como la fase final del proceso tecnológico de elaboración ya que después de esto el producto está en condiciones y generalmente se incluyen las siguientes operaciones básicas: secado, ahumado, cocinado y enfriamiento.

El secado se realiza a veces en una sala de oreo, antes de someterse a los hornos, en otros se realiza dentro de los hornos con aire caliente. El ahumado se realiza en hornos o cámaras de ahumado de distintos modelos o formas de ahumado. Ahumado directo donde el humo se obtiene de quemas de aserrín o leña por debajo del producto.

El proceso de ahumado básicamente le desarrolla el color al embutido que se realiza después de la desnaturalización de la proteína. Los parámetros generales son: temperatura de ahumado

entre 70 y 80 ºC dependiendo del grosor del embutido por tiempos entre 0.5 y 2 horas.

Cocción.- Existen los productos cocinados a los cuales no se les aplica otro tipo de proceso térmico que la cocción y a los embutidos llamados ahumados y cocinados o escaldados se aplican ambos procesos.

En la práctica los embutidos se sumergen en agua previamente calentada de 80 a 90ºC dependiendo del grosor del producto, y por tiempos de 30 a 150 minutos, pero el parámetro a medir es la temperatura en el centro del producto que debe ser de 68 a 70ºC.

Enfriamiento.- Después del tratamiento térmico, ahumado y/o cocción es necesario enfriar rápidamente para evitar el desarrollo de microorganismos y para evitar las mermas por evaporación de la superficie del producto. Es necesario enfriar rápidamente a temperatura ambiente, para luego pasar a las cámaras o a los locales de empaque.

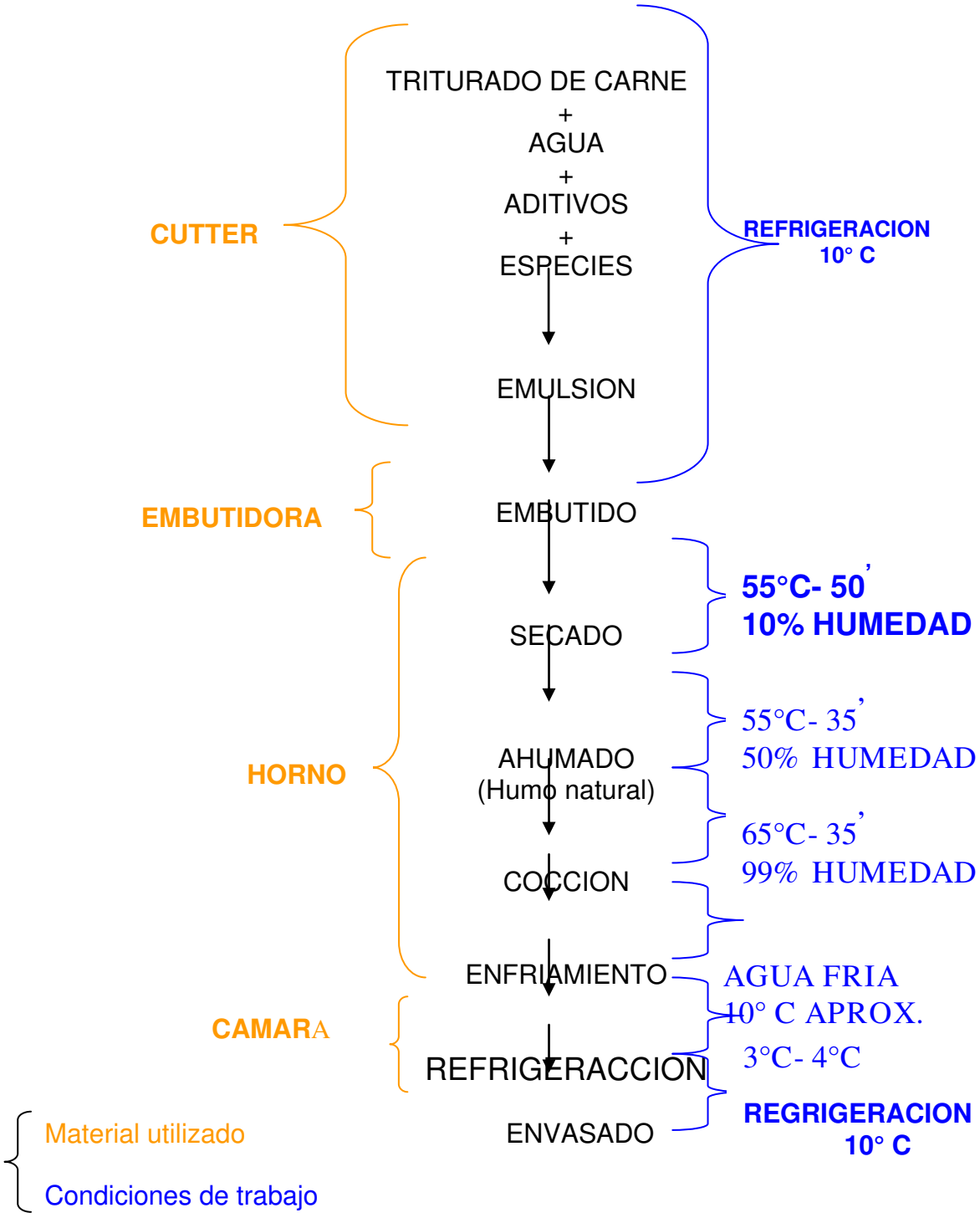


FIGURA 1.4.- DIAGRAMA DEL PROCESO DE SALCHICHAS

1.4. Efectos de los microorganismos sobre los embutidos

Para evitar los efectos de los microorganismos sobre los embutidos se emplean métodos físicos (calentamiento, deshidratación, irradiación, congelación), y sustancias que eliminan microorganismos o evitan su proliferación. Algunos alimentos, como frutas, cebollas, ajos y especias, contienen naturalmente sustancias antimicrobianas. Sin embargo, la mayoría de los alimentos carece de ellas y deben agregarse en forma de aditivos.

1.4.1. Microorganismos presentes en los embutidos

Recuento de Coliformes Totales

Los coliformes son bacilos gram negativos, no esporógenos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae que fermentan la lactosa en 48 horas (son las enterobacterias fermentadoras de la lactosa) con producción de ácido y gas en presencia de sales biliares.

El hábitat natural de los coliformes es el tracto intestinal humano y animal, aunque también se pueden aislar de muestras medioambientales (tierra, polvo, aguas superficiales y vegetales). Así, su procedencia puede ser tanto fecal como

no fecal. Los coliformes son resistentes a condiciones medioambientales adversas, soportan la desecación, pero no condiciones de congelación o refrigeración. Esta última característica hace que su investigación en alimentos congelados no tenga ninguna relevancia. Solamente son útiles como indicadores de la calidad en ciertos tipos de productos terminados o indicativos de la fase de conservación y almacenamiento

Recuento de *Escherichia coli*

E. Coli es el organismo aeróbico más común en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente. Habitante habitual en individuos sanos, no patógena aunque puede haber cepas que causan problemas intestinales serios (mortalidad infantil, serotipo O157:H7). Relación probablemente, simbiótica porque la bacteria proporciona al animal la vitamina K que éste no puede sintetizar.

Se trata de un microorganismo presente en el tracto enterico tanto el hombre como los animales. Debido a su especificidad esta considerado como un buen indicador de contaminación fecal. No puede sobrevivir mucho tiempo en un ambiente

extraenterico, es por ello, que su detección en el alimento indica una contaminación reciente.

Presencia/Ausencia de *Salmonella spp*.

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* e incluye varias especies patógenas para el hombre y los animales. Son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos, móviles por flagelos peritricos. Su temperatura óptima es de 38ºC, y son relativamente termosensibles.

Vinculada a procesos patológicos

Tres divisiones dependiendo de su relación con los animales superiores:

- Bacterias que infectan sólo a humanos (*S. typhi* y *S. paratyphi*)
- Bacterias adaptadas a un huésped animal (*S. gallinarum, S. abortus-equi, S. abortus-ovis, S. cholerasuis*)
- Bacterias que no presentan preferencia de huésped y son patógenas tanto para hombres como para animales

Cuando un alimento está contaminado con salmonelas suele contener también gran cantidad de enterobacterias muy similares. Por ello es necesario realizar un enriquecimiento de la muestra en medios selectivos que propician el crecimiento de *Salmonella* frente a otras bacterias presentes. Por otra parte, como se suele exigir la ausencia de este microorganismo en el alimento, la analítica debe ir enfocada a demostrar que efectivamente no se encuentra en el alimento.

TABLA 2

FACTORES QUE LIMITAN EL DESARROLLO Y LA RESISTENCIA AL CALOR DE BACTERIAS PROCEDENTES DEL RESERVORIO ANIMAL/HUMANO.

Bacterias patógenas	Temperatura (°C)			pH	NaCl (%)	a_w	Resistencia al calor
	mínima	óptima	máxima	mínimo	máximo	mínima	
Salmonella	5	37	45–47	4,0	4–5	0,94	D_{60}=0,2–6,5 min.
E. Coli	5–7	37	44–48	4,4	6	0,95	D_{60}=0,1 min. D_{55}=5 min.
Staphylococcus aureus	7	37	48	4,0	10–15	0,83	D_{60}=0,43–7,9 min.

Fuente: Datos Adaptados a partir de Doyle (1989), Buckle (1989), Varnam Y Evans (1991) Y Farber (1986)

Recuento de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es un microorganismo de forma cocácea que se agrupa en adoptando una disposición de racimos irregulares. Son anaerobios facultativos, aunque crecen mejor en aerobiosis. *S. aureus* es mesofílico, con una temperatura mínima de desarrollo de 10 °C, pero se requieren temperaturas más altas para la producción de toxinas (>15 °C). El *S. aureus* es tolerante a la sal y puede desarrollarse con actividades de agua tan bajas como 0, 86. El mínimo pH para el desarrollo es 4,5.

La presencia de la bacteria contamina los alimentos, principalmente en leche obtenida a partir de vacas con mastitis. El *S. aureus* se encuentra en intestinos, piel, boca, garganta y heridas. Puede contaminarse al alimento a través de manos, nariz o boca (10).

1.4.2 Enfermedades transmitidas por los alimentos

Transmisión.- Hay que diferenciar entre infecciones e intoxicaciones y entre infecciones con DMI (dosis mínima

infectiva) o DI50 (dosis infectiva que produce la enfermedad en el 50 % de la población) bajas o altas.

La DMI varía entre las personas dependiendo de su estado general de salud y de la forma como se ingieren las bacterias (en ciertas condiciones las DMI pueden ser muy baja por lo que es muy necesaria la higiene).

Morbilidad.- Solo se declara un 10 % de las toxiinfecciones (aprox.) por lo que la incidencia real de estas enfermedades no está clara.

Factores que contribuyen a la producción de casos y brotes de enfermedades de etiología microbiana transmitidas por los alimentos:

En general hay un doble fallo:

(1) Contaminación del alimento seguido de (2) abuso de temperatura que permite que los microorganismos proliferen.

Los alimentos afectados con más frecuencia son los animales (90 %) y las fuentes de contaminación suelen estar

en los establecimientos donde fueron servidos más que en las plantas de procesado.

Manifestaciones clínicas más frecuentes y complicaciones de las enfermedades transmitidas por alimentos:

En general son enfermedades breves y de buen pronóstico cursan tras 2 - 10 h. de incubación con síndrome gastrointestinal (dolor intestinal, diarrea, vómitos).

Infecciones alimentarías transmitidas por bacterias:

Salmonelosis.- Producidas por algunos serotipos. Los diferentes serotipos requieren DMI diferentes, aunque hay un gran número de ellos que son patógenos. Los que causan esta enfermedad es la Bacteria *Salmonella*.

Se origina en las bacterias en lácteos, carnes crudas, salchichas, huevos y aves de corral mal cocidos, ostiones, camarones, ancas de rana y almejas, coco, pastas, chocolate y aguas contaminadas.

En cualquier caso, los números iniciales suele ser pequeños y la contaminación aparece si el alimento no es tratado correctamente desde el punto de vista térmico. Las medidas profilácticas se dirigen al control de animales portadores, procesamiento de alimentos (pasteurización) y reducción de las posibilidades de contaminación exógena. Puede ser invasiva o toxigénica.

La incubación inicia en 6 a 12 horas después de la ingesta. Los síntomas son: dolor abdominal, diarrea, nausea, escalofríos, vómitos frecuentes y debilidad. Duran un día más o menos y usualmente son moderados. Si el microorganismo invade la sangre se puede producir una septicemia y en los casos más graves se puede llegar hasta el coma. La mortalidad de los afectados por salmonelosis suele ser menor al 1% siendo la población más vulnerable los ancianos, niños y enfermos.

Se puede prevenir con la cocción perfecta y la refrigeración adecuada de los alimentos, manos y utensilios limpios y desinfectados.

Intoxicaciones alimentarías agudas:

Enfermedades producidas por la presencia en los alimentos de toxinas preformadas de origen bacteriano.

Intoxicación estafilocócica.- Producida por la ingestión de alimentos en los que ha crecido una cepa patógena de *Staphylococcus aureus* productora de enterotoxina termorresistente. Los síntomas son náuseas, vómitos, angustia, cólico abdominal y postración. Los alimentos asociados a la toxiinfección son carnes y derivados, aves, derivados del huevo, pastas, patata, leche cruda, productos lácteos y productos de pastelería

La toxina es producida cuando los alimentos contaminados con la bacteria son dejados demasiado tiempo a temperatura ambiente. Las carnes, aves de corral, atún, salchichas, ensalada de papas y macarrones y pastelería rellena con crema son los ambientes mas propicios para que la bacteria produzca la toxina.

Su incubación inicia entre 30 minutos y 8 horas después de comer y los síntomas de la enfermedad son muy rápidos como diarrea, vómitos nausea, espasmos, cansancio y dolor aguado, suele durar entre 1 y 2 días. Raramente es mortal.

Las medidas profilácticas van encaminadas a disminuir la contaminación y el desarrollo de las bacterias mediante tratamientos térmicos adecuados; la destrucción de las toxinas es muy difícil dada su termorresistencia. La prevención de la producción de toxinas se puede llevar a cabo a través de la refrigeración por lo que el uso de refrigeración y la buena higiene del manipulador de alimentos son las claves.

1.4.3 Deterioro de los embutidos

La alteración de los alimentos consiste en todos aquellos cambios de origen biótico o abiótico que hacen que el alimento no sea adecuado para el consumo.

El deterioro causado por microorganismos es resultado de las relaciones ecológicas entre el alimento y el microorganismo. Para poder predecirlo y controlarlo hay que conocer las características del alimento como medio soporte del crecimiento de microorganismos y los microorganismos que colonizan habitualmente dicho alimento.

En el caso de embutidos, cada uno de los componentes puede proporcionar microorganismos alterantes. En general estos productos se deterioran más por bacterias y levaduras que por hongos.

El deterioro de estos productos puede producirse de tres formas distintas: Producción de Limo, Agriado y Cambio de Color. La formación de limo tiene lugar en la superficie y se debe predominantemente a las bacterias lácticas; el agriado ocurre bajo la superficie y es consecuencia de la actividad de las bacterias lácticas sobre productos que contengan lactosa.

El enverdecimiento producido por peróxidos es debido a bacterias lácticas, y el producto verde no es peligroso desde el punto de vista toxicológico. El enverdecimiento debido a acido sulfhídrico se produce por una reacción con la

hemoglobina causada por *Pseudomonas* o algunas bacterias lácticas (12).

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Diseño del Experimento

Para el estudio higiénico sanitario de los embutidos tipo salchichas, es necesario realizar un diseño experimental que facilite la ejecución del mismo. El diseño de experimentos consiste en la determinación de:

- Las variables que puedan intervenir en el estudio.
- El número de corridas experimentales que se van a realizar
- Los métodos que se van a utilizar.
- Los materiales necesarios.

Todo esto nos ayudará a planificar el experimento con el fin de obtener la cantidad exacta de muestras a analizar.

2.1.1. Estudio de población y recolección de datos

La ciudad de Guayaquil se la dividió en 3 zonas: Norte, Sur y Centro, de los cuales se seleccionaron las de mayor concurrencia de personas a dichos establecimientos que fueron los siguientes: Exclusas, Pedro Pablo Gómez, Central y Sauces 9.

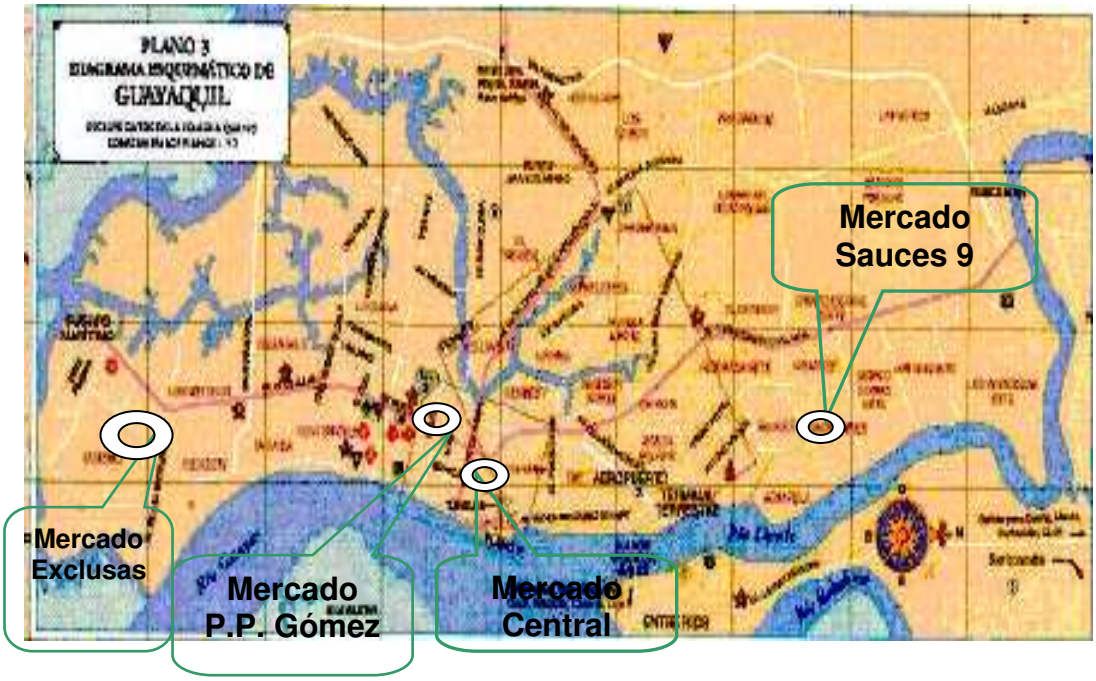
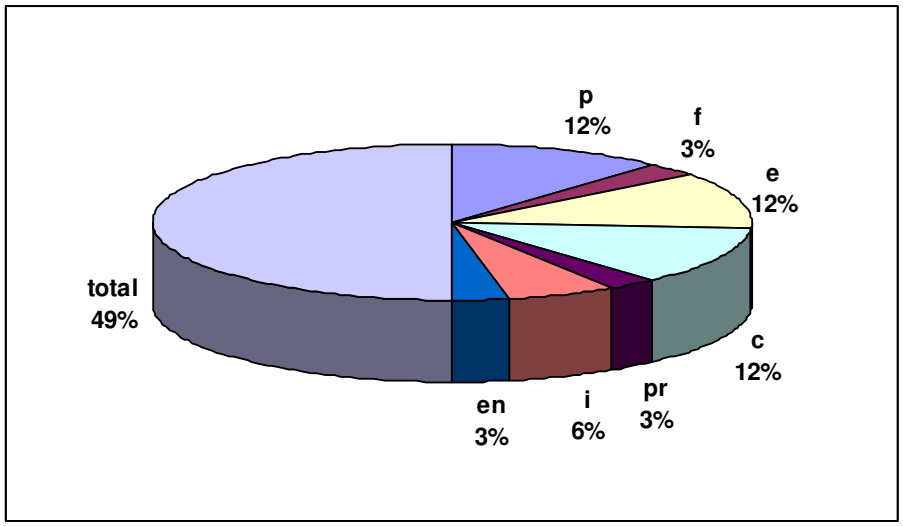


FIGURA 2.1 MAPA DE LAS REGIONES DE MUESTREO, (ZONA CIRCULADA)

Se encontraron 7 diferentes marcas de las cuales son tres las que predominan porque son las de mayor consumo

masivo y las vamos a nombrar de esta manera p, e y c en el figura 2.2.



Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2006)

FIGURA 2.2 VARIEDAD DE SALCHICHAS EN LOS DISTINTOS MERCADOS DE GUAYAQUIL.

La recolección de datos se lo hizo mediante un diseño de experimentos para poder determinar la cantidad de muestra y para eso hay que determinar las variables que son temperatura y carga microbiana presentes en las salchichas. Se realizo el experimento tomando en consideración la temperatura de los establecimientos y tres microorganismos para cada una de ellas.

Cada corrida experimental consiste en mantener la temperatura constante y realizar la cuantificación de los microorganismos en las salchichas en dos o tres diluciones diferentes.

TABLA 3

NIVELES ASIGNADOS PARA CADA FACTOR DEL ESTUDIO HIGIENICO SANITARIO DE LOS EMBUTIDOS TIPO SALCHICHA

	FACTORES				
	TEMP	MICROORGANISMOS (Dilución)			
	°C	COLIFORMES TOTALES	E COLI	SALMONELLA	STAFILOCOCCUS AUREUS
NIVELES	22	10^{-1} 10^{-2}	10^{-1} 10^{-2}	10^{-1} 10^{-2}	10^{-1} 10^{-2}
	23	10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}	10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}	10^{-1} 10^{-2}	10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2006)

Debido a que son 12 corridas experimentales, se trabajo con 12 muestras diferentes. Cada una de las determinaciones se realiza por triplicado. El número de determinaciones será:

$$C^* N * T * D$$

C: Número de corridas

N: Numero de niveles

T: Determinación por triplicado

D: Numero de Diluciones de cada muestra

12 * 3 * 3 * 2 = 216

Es decir que se realizaron 216 determinaciones en el laboratorio de microbiología para lograr este estudio (1).

2.1.2. Toma de muestras

Las salchichas analizadas se encontraban listas para ser compradas y se tomaron dos muestras por cada establecimiento según como se planifico el muestreo mediante el diseño de experimentos. Este periodo fue los meses (Marzo y Abril). El horario de recolección de las salchichas, fue entre las 09:00 a.m. a 11:00 a.m. por ser éste el de mayor afluencia de los consumidores. La cantidad de alimento recolectado fue de aproximadamente 450 g por cada salchicha.

Las muestras se las etiqueto adecuadamente recién tomadas y la etiqueta contenía la máxima información posible como: sitio de la muestra, día, hora y lugar en que se ha realizado la toma de muestras, asegurándose que no

se desprenda durante la manipulación y transporte de la muestra (3).

Para evitar alguna transformación significativa de los parámetros de prueba que fueron objeto de la investigación, las muestras se colocaron por separado en bolsas plásticas estériles selladas (Whirlpak®) debidamente identificadas y se transportaron al laboratorio de microbiología en neveras portátiles con "*cold packs*" para mantener la temperatura a 41°F o menos (≤ 5°C).

2.1.3. Monitoreo de Temperaturas

Se tomó la temperatura a los alimentos en el momento de la visita. El termómetro utilizado fue de tipo bimetálico. Para evitar contaminación cruzada durante la toma de la muestra y entre muestras, el termómetro se desinfectó con alcohol (9).

2.1.4. Preparación de las muestras

Las muestras fueron procesadas en un periodo menor de cuatro horas después de recolectadas. La muestra se la corto en porciones con un cuchillo esterilizado. Recogiendo asépticamente por lo menos 100 g de muestra con un implemento esterilizado y se transfirió a una bolsa de plástico estéril. Se tomaron diferentes muestras de arriba al centro y de otros lugares según se considere necesario. Refrigerar, congelar o mantener a temperatura ambiente según sea el caso (2).

2.2. Análisis Bacteriológico

De las muestras homogenizadas se tomó 1 g y se colocaron en bolsas "*stomacher*" a las que se les añadió 9 ml de Agua de Peptona para hacer la primera dilución (10^{-1}).

Luego, se hicieron diluciones seriadas en tubos de dilución que contenían 9 ml del agua peptona. De la primera dilución se transfirieron 1 ml a uno de los tubos para obtener una dilución 10^{-2} y así sucesivamente la dilución anterior a otro tubo de 9 ml

de diluyente hasta llegar a la dilución 10^{-4}. La enumeración de las bacterias se llevó a cabo según el método utilizado por el Bacteriological analytical manual (2). El aislamiento y la identificación de las bacterias se realizaron empleando métodos rápidos, aprobados por la AOAC como métodos alternos.

2.2.1. Determinación de *Coliformes totales* y *Escherichia coli.*

El conteo de *coliformes totales* y *Escherichia coli* se realizó utilizando "*Petrifilm*" 3M los cuales contienen agar deshidratado de Bilis Rojo Violeta (VRB por sus siglas en inglés), un agente de gelificación soluble en agua fría, un indicador de glucuronidasa para identificar *E. Coli,* y un indicador del tetrazolio para facilitar la visualización de otras bacterias coliformes gram negativas (*no E. Coli*).

De cada una de las diluciones seriadas (10^{-1} – 10^{-4}) se vertió 1 ml de muestra sobre las láminas por triplicado y se colocó en el centro de la lámina inferior. Se distribuyó la muestra uniformemente colocando el disco de dispersión (lado no plano) con una presión ligeramente hacia abajo

desde el centro y se dejó hasta que el medio se solidificó (Apéndice A). Estas láminas se incubaron a ±35 °C (±95°F) por 24±2 horas. Luego de este periodo de incubación utilizando un contador de colonias se enumeró el crecimiento de bacterias. Sólo se reportaron las densidades de láminas que contenían entre 25 - 250 colonias. Aquellas colonias de color azul con presencia de gas se tomaron como indicativo de presencia de *E. Coli*.

Otras colonias de *coliformes* de color rojo y con presencia de gas también se tuvieron en cuenta, por lo tanto, el conteo de *coliformes totales* consistió en la sumatoria de las colonias rojas y azules con presencia de gas en ±24 horas, según el método aprobado por la AOAC para el conteo de este medio (Figura 2.3).

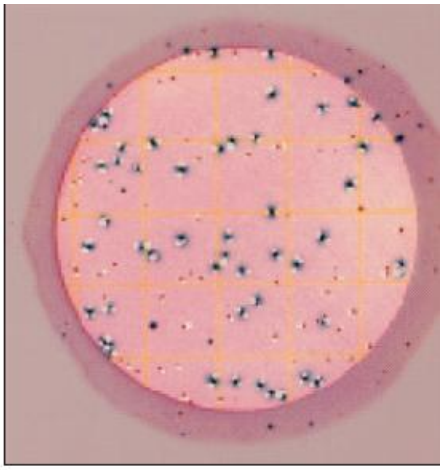


FIGURA 2.3 MUESTRA CON *COLIFORMES TOTALES* Y *E. COLI* EN PETRIFILMS

2.2.2. Determinación de *Staphylococcus Aureus*

El conteo de *Staphylococcus aureus* se realizó utilizando "*Petrifilm*" 3M que tiene un sistema de medio de cultivo listo para las muestras que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio modificado cromogénico Baird-Parker en la placa es selectivo y diferencial para el *Staphylococcus aureus*.

De cada una de las diluciones seriadas (10^{-1} – 10^{-4}) se vertió 1 ml de muestra sobre las láminas por triplicado y se colocó en el centro de la lámina inferior. Se distribuyó la muestra uniformemente colocando el disco de dispersión

(lado no plano) con una presión ligeramente hacia abajo desde el centro y se dejó hasta que el medio se solidificó (Apéndice B). Estas láminas se incubaron a ±35 °C (±95°F) por 24±2 horas. Luego de este periodo de incubación utilizando un contador de colonias se enumeró el crecimiento de bacterias. Sólo se reportaron las densidades de láminas que contenían entre 25 - 250 colonias. Cuando solamente se aprecian colonias rojo-violetas, se toma como indicativo de presencias de *Staphylococcus aureus.*

Si se encuentra carga en el fondo de su prueba de Staphylococcus, el Disco Staph Express Petrifilm se puede utilizar para identificar el *S. aureus* con respecto a todas las colonias sospechosas. El Disco Staph Express Petrifilm se debe utilizar cuando se encuentren presentes colonias diferentes de rojo-violeta; por ejemplo, cuando en la placa se vean colonias negras o azul verdosas.

El Disco Staph Express Petrifilm contiene una tintura y un acido desoxirribonucleico (DNA). El *S. aureus* produce desoxirribonucleasa (DNasa) y la Dnasa reacciona con la

tintura para formar zonas rosadas. Cuando el disco se inserta en la placa, el *S. aureus* (y ocasionalmente el *Staphylococcus Hyicus* y el *Staphylococcus intermedius*) producen una zona rosada. Y a estos se los conoce como *Staphylococcus de coagulasa positiva*, según el método aprobado por la AOAC para el conteo de este medio (Figura 2.4).

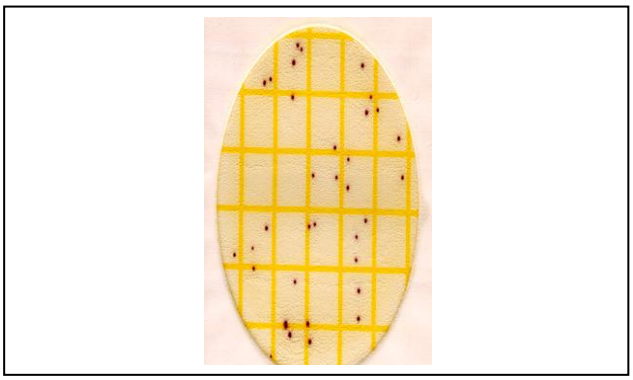


FIGURA 2.4 MUESTRA CON STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN PETRIFILMS

2.2.3. Determinación de *Salmonella* Microwell ELISA

ELISA: El método es similar al radioinmuno ensayo: el antígeno se fija en un soporte sólido, se trata con el antisuero correspondiente y la interacción se detecta mediante una actividad marcadora (peroxidesa) unida al

anticuerpo en cuestión o a un segundo anticuerpo de revelado. *Salmonella* Microwell de ensayo es un ADN sondea - el basado diagnóstico en el formato de conjunto, que permite detección rápida y precisa de Salmonella spp. en alimentos. Los resultados son disponibles en aproximadamente 48 horas. La prueba expone el equivalente de sensibilidad al de la referencia cultural de los procedimientos y es capaz de detectar la presencia de *Salmonella* en una muestra de 25 g cuando los protocolos especificados de enriquecimiento se usan.

Este método es aplicable a la detección de *Salmonella spp.* en una variedad amplia de productos alimentarios, incluyendo la carne, aves de corral, pescado y mariscos, frutas y los vegetales, incita, nueces, enharina, productos de confitura, productos lecheros, condimentos, alimentos favoritos, y alimentos procesados diversos

El método se ha usado para detección de *Salmonella*. Toxinas de *S aureus*, micotoxinas, toxinas de *C. botulinum*, enterotoxinas de *E. Coli*.

Reactivos

- Pruebe fajas: microwells conteniendo anti-*Salmonella* anticuerpos - 96 pocillos de prueba.
- El Control Negativo: contiene 1 ml de una base buferada.
- El Control Positivo: contiene 1 ml de inactivo *Salmonella* LPS antígeno en una base buferada.
- El Conjugado de Enzima: la botella que contiene 11 ml de un monoclonal anti-*Salmonella* anticuerpo conjugó a peroxidasa en un buffer con el profiláctico.
- Cromógeno: la botella que contiene 11 ml del Cromógeno tetrametilbenzidina (TMB).
- Lave solución de concentrado (20X): Dos las botellas que contienen 25 ml de concentrados de buffer y surfactante con el profiláctico.
- Stop solución: la botella que contiene 11 ml de 1 M ácido fosfórico.

FIGURA 2.5 REACTIVOS DEL TEST DE MICROWELL ELISA

Materiales

- La incubadora debe mantener temperaturas de 42° C y 37°C.
- Microelisa lector de plato capaz de leer 450/620-650 nm (optativo).
- Pipeta, 100ul
- Desechable micropipeta
- 1-2 ml tubos con casquetes que permanecerán sellados a 100°C.
- La calefacción, el baño de agua o autoclave para 1-2 ml tubo, manteniendo 100°C.

- Los recipientes apropiados para el almacenaje y eliminación de materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos
- Los datos registran hojas
- Solución desinfectante

Las muestras de prueba pueden ser cultivados por métodos estándares en pre - enriquecimiento y los caldos selectivos usaron para *Salmonella*. Típicamente, estos incluirán pre- enriquecimiento en un agua peptona buferada o el caldo nutritivo, seguido por el enriquecimiento selectivo en uno o caldos más selectivos.

Los caldos selectivos siguientes son compatibles con el SafePath *Salmonella* de ensayo: la selenita - cistine de caldo, Rappaport-Vassiiadis de caldo, Mueller -Kauffrnan de caldo con novobiocin. El SafePath *Salmonella* de ensayo es también compatible con el sistema de medios (Oxoid), que reduce tiempo total de cultivo a 24 horas.

Precaución

- No usar soluciones si se precipitan.
- La excepción: El concentrado de lavado puede precipitarse durante el almacenaje refrigerado pero disolverá solo calentándolo.
- Para evitar la contaminación de pocillos, y de falsos - los positivos resultados, evitan salpicar cuando se agrega o se quita muestras o los reactivos, y lavar los pocillos completamente entre pasos.

Condiciones de almacenamiento: Los reactivos y enfrascadas componentes se almacenan entre 2 - 8° C.

La solución de lavado diluido buffer puede almacenarse a l temperatura ambiente.

Preparación de la muestra

1. Coloco las muestras en un medio de pre-enriquecimiento (Agua de Peptona o caldo nutritivo) por métodos estándares - típicamente en volúmenes de 1 volumen de la muestra en 9 volúmenes de medio

de pre-enriquecimiento (ej. 25 g en 225 mi). Para muestras líquidos con volúmenes más grandes, puede ser preferible para preparar el medio pre - enriquecimiento como 2X, 5X o 1OX concentra y agrega un volumen a la muestra que resulta en una lX de concentración de los medios (6).

2. Incubar a 37°C por 18 a 24 horas (paso de resucitación o pre-enriquecimiento).
3. Transferir 0.5 ml del cultivo pre-enriquecimiento a 10 ml de caldo selectivo de enriquecimiento (Selenito-Cistine)
4. Incubar a 42°C por 16 a 24 horas, si es posible con agitación a 120rpm
5. Transferir 1 ml de cada cultivo selectivo a tubos limpios
6. Calentar los tubos a 100-110°C por 10 minutos, luego enfriar a 20 o 25°C.

Procedimiento

1. Tomar la cantidad de pocillos necesaria, recordar que deberá incluir 2 pocillos para los controles, y colocarlos en el soporte de tirillas.

2. Adicionar 100 microlitros de el control negativo en el pocillo # 1 y 100 microlitros de el control positivo en el pocillo # 2 (Ambos ya están pre-diluidos).
3. Adicionar 100 microlitros del sobrenadante de la muestra en los pocillos apropiados
4. Incube a la temperatura ambiente para 30 minutos, entonces lavado. *
5. Adicionar 2 gotas del Conjugado de Enzimas en todos los pocillos.
6. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos
7. Enguajar cada pocillos solo con agua destilada
8. Adicionar 1 gota de Cromógeno y una gota de substrato en todos los pocillos. Agitar suavemente golpeando el soporte de tirillas.
9. Incube a la temperatura ambiente para 5 minutos.
10. Adicionar 2 gotas de stop solution en cada pocillo. Agitar suavemente golpeando el soporte de tirillas (Apéndice C).
11. Leer los resultados visualmente, si es positivo las muestras deberán presentar un color sustancialmente amarillo pero si es negativo las muestras no tendrán un color distintivamente amarillo. El control negativo así como

algunas muestras podrán presentar un ligero color amarillo (Figura 2.6).

* Cada lavado consiste de descargar los contenidos de los pocillos en un recipiente apropiado con la solución desinfectante (p. ej. 3% lejía en la agua) llenando los pocillos con la solución de lavado diluida buffer (7), sacudiendo fuera los contenidos y se lo realiza el mismo procedimiento tres veces por cada pocillo.

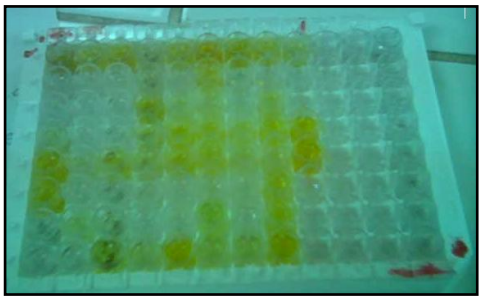


FIGURA 2.6 MUESTRA CON *SALMONELLA* EN MICROWELL ELISA

2.2.4. Interpretación del Análisis Microbiológico

Las muestras fueron analizadas de acuerdo con las normas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con los requisitos microbiológicos, establecidos en la tabla IV para

muestra unitaria y a su vez se clasifica como "Aceptable" y "Rechazable"

TABLA 4

REQUISITOS MICROBIOLOGICOS EN MUESTRA UNITARIA

REQUISITOS	COCIDAS	
	ACEPTABLE	RECHAZABLE
	MAX. UFC/g	MAX. UFC/g
Coliformes totales	<3 *	>3
*Escherichia coli***	<3 *	>3
Staphylococcus aureus	1.0×10^2	$>1.0 \times 10^2$
Salmonella	aus/25g	pres/25g

Fuente: NTE INEN1338-1996

* Indica que el método del numero mas probable NMP (con tres tubos por dilución), no debe dar ningún positivo.

** Coliformes fecales

El propósito de esta norma es ayudar a determinar la calidad bacteriológica de las salchichas para el consumo en el sitio de venta e indicar los niveles de contaminación y si éstos representan un riesgo potencial a la salud (4).

2.3. Análisis Estadístico

Se realizó un test estadístico para evaluar la asociación o independencia entre dos variables, utilizando una prueba estadística de Chi cuadrado (X^2 test). Adicionalmente se comparó el monitoreo de temperatura para los diferentes mercados de la ciudad de Guayaquil y se correlacionó con la calidad microbiológica de las salchichas de los establecimientos.

.

2.3.1 Método estadístico

El análisis estadístico se realizo aplicar la prueba estadística de Chi cuadrado (X^2 test) aplicada a una tabla de contingencia para examinar las relaciones encontradas de una manera detallada para poder determinar la asociación entre las variables analizadas, las diferencias entre las proporciones obtenidas así como la relación entre ellas. Las variables de interés fueron el contaje *coliformes totales*, *Escherichia coli, Salmonella, Stafilococcus Aureus* y la relación con el monitoreo de temperatura.

Para su cómputo es necesario calcular las frecuencias esperadas (aquellas que deberían haberse observado si la hipótesis de independencia fuese cierta), y compararlas con las frecuencias observadas en la realidad. De modo general, para una tabla r x k (r filas y k columnas), se calcula el valor del estadístico X^2 como sigue:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{r} \sum_{j=1}^{k} \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Donde:

- *O ij* denota a las frecuencias observadas. Es el número de casos observados clasificados en la fila i de la columna j.
- *E ij* denota a las frecuencias esperadas o teóricas. Es el número de casos esperados correspondientes a cada fila y columna. Se puede definir como aquella frecuencia que se observaría si ambas variables fuesen independientes.

Así, el estadístico χ^2 mide la diferencia entre el valor que debiera resultar si las dos variables fuesen independientes y el que se ha observado en la realidad. Cuanto mayor sea esa

diferencia (y, por lo tanto, el valor del estadístico), mayor será la relación entre ambas variables. El hecho de que las diferencias entre los valores observados y esperados estén elevadas al cuadrado se (1) convierte cualquier diferencia en positiva. El test χ^2 es así un test no dirigido (test de planteamiento bilateral), que nos indica si existe o no relación entre dos factores pero no en qué sentido se produce tal asociación.

H_0: No hay asociación entre las variables (es decir, el nivel microbiológico y el riesgo peligroso de las temperatura son independientes, no están asociados).

Cuando el tamaño muestral es reducido la utilización de la distribución ji-cuadrado para aproximar las frecuencias puede introducir algún sesgo en los cálculos, de modo que el valor del estadístico tiende χ^2 a ser mayor. En ocasiones se utiliza una corrección para eliminar este sesgo que, para el caso de tablas 2x2 se conoce como la corrección de Yates:

$$\chi^2_Y = \frac{n\left(|ad-bc|-\frac{n}{2}\right)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

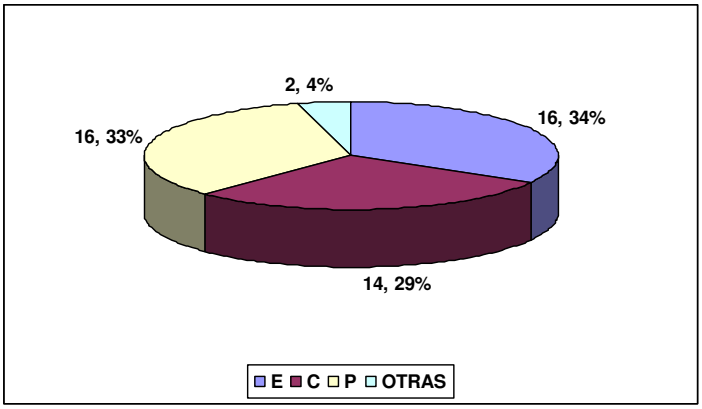
No obstante, conviene mencionar que la utilización de la corrección de Yates no exime de ciertos requerimientos acerca del tamaño muestral necesario para la utilización del estadístico $\chi^2(5)$.

CAPITULO 3

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Resultados De Los Tipos De Salchichas

Se analizaron 48 muestras de alimentos listos para el consumo. Los alimentos seleccionados fueron productos cárnicos, es decir salchichas de res. Sin embargo, donde no se encontraban las salchichas seleccionadas con anterioridad, se seleccionaron unas que no tenían marca en menor proporción los cuales fueron clasificados dentro una sola categoría (Figura 3.1).



Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2006)

FIGURA 3.1 TIPOS DE SALCHICHAS ANALIZADOS (N =48)

3.2 Distribución de las muestras analizadas por mercados

Las 48 muestras de salchichas fueron obtenidas 4 mercados de ciudad de Guayaquil, según el plan de muestreo factorial. La distribución del número de muestras de embutidos analizados por mercado se observa en la Tabla 5.

TABLA 5

DISTRIBUCIÓN DE LA MUESTRA POR MERCADO

MERCADOS	SALCHICHAS	FRECUENCIA (%)
EXCLUSAS	11	22.92
GOMEZ	13	27.08
CENTRAL	12	25.00
SAUCES 9	12	25.00
TOTAL	**48**	**100%**

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2006)

Resultados del Monitoreo de Temperaturas

Se le tomó la temperatura a las 48 muestras de salchichas y se encontró que el 45.83% de los alimentos estaban expuestos a temperaturas dentro de la zona de peligro (≤ 23°C) en el local de expendio, mientras que el 54.17% se encontraban dentro de los rangos recomendados de temperatura (Apéndice D). Estos rangos son: (≤ 5°C) para alimentos fríos en lugar de almacenamiento y (≥ 22°C) para alimentos en local venta o expendio (13).

3.3.1 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según resultados microbiológicos

Se realizó una prueba de Chi cuadrado para analizar los datos obtenidos de los alimentos expuestos a temperaturas dentro de la zona de peligro y su relación con los cuatro criterios microbiológicos. Se encontró relación significativa ($p<0.05$) entre aquellos productos que se encontraban fuera de los rangos seguros de temperatura y la cantidad de bacterias *coliformes totales* y *E. Coli* presentes en el alimento. Es decir, aquellos

alimentos que presentaban las cargas microbianas de contaje total de *coliformes* y *E. Coli* más alto, a su vez se encontraban a temperaturas en la zona de peligro. De un total de treinta y cuatro muestras encontradas dentro del rango de calidad de rechazable para contaje total de coliformes, veinte y nueve estaban en riesgo de temperaturas peligrosas (Tabla 6).

TABLA 6

ESTUDIAR LA ASOCIACION DE RIESGO DE TEMPERATURAS PELIGROSAS PARA *COLIFORMES TOLALES.* VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Coliformes Totales	**Riesgo de temperaturas peligrosas**		
	SI	**NO**	**TOTAL**
Aceptable	2 (9,04)	12 (4,96)	14
Rechazable	29 (21,96)	5 (12,04)	34
TOTAL	31	17	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	21,86	mayor a 99%	Rechazar	Rechazar	Rechazar
Prueba Chi cuadrado (Corrección De Yates)	18,87	mayor a 99%	Rechazar	Rechazar	Rechazar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

De un total de veinte y uno muestras encontradas dentro del rango de calidad de rechazable para contaje total de *E. Coli*, veinte estaban en riesgo de temperaturas peligrosas (Tabla 7).

De igual forma se realizó una prueba de Chi cuadrado para los dos criterios restantes (*Staphylococcus aureus y Salmonella)* y no se encontró relación significativa con los alimentos que estaban expuestos en la zona de peligro ($p>0.05$). En la tabla 8 y 9 se muestra dicho análisis.

Por otra parte, en las tablas 6 a la 8 se observó que tres de los cuatro criterios microbiológicos que formaron parte del estudio presentaron un número alto de muestras con riesgo de temperaturas peligrosas y la carga microbiana también fue elevada, mientras que en el caso de salmonella hubo ausencia de carga.

TABLA 7

ESTUDIAR LA ASOCIACION DE RIESGO DE TEMPERATURAS PELIGROSAS PARA *ESCHERICHIA COLI*. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Escherichia coli	**Riesgo de temperaturas peligrosas**		
	SI	**NO**	**TOTAL**
Aceptable	2 (12,38)	25 (14,63)	27
Rechazable	20 (9,63)	1(11,38)	21
TOTAL	22	26	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	36,70	mayor a 99%	Rechazar	Rechazar	Rechazar
Prueba Chi cuadrado (Corrección De Yates)	33,25	mayor a 99%	Rechazar	Rechazar	Rechazar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

TABLA 8

ESTUDIAR LA ASOCIACION DE RIESGO DE TEMPERATURAS PELIGROSAS PARA *STAPHYILOCOCCUS AUREUS*. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Staphylococcus aureus	**Riesgo de temperaturas peligrosas**		
	SI	**NO**	**TOTAL**
Aceptable	1 (2,25)	2 (0,75)	3
Rechazable	35 (33,75)	10 (11,25)	45
TOTAL	36	12	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	2,96	entre el 90% y el 95%	Rechazar	Aceptar	Aceptar
Prueba Chi cuadrado (Corrección De Yates)	1,07	menor del 90%	Aceptar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

TABLA 9

ESTUDIAR LA ASOCIACION DE RIESGO DE TEMPERATURAS PELIGROSAS PARA *SALMONELLA*. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Salmonella	**Riesgo de temperaturas peligrosas**		
	SI	**NO**	**TOTAL**
Ausencia	21(23,06)	20 (17,94)	41
Presencia	6 (3,94)	1(3,06)	7
TOTAL	27	21	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	2,89	entre el 90% y el 95%	Rechazar	Aceptar	Aceptar
Prueba Chi cuadrado (Corrección De Yates)	1,66	menor del 90%	Aceptar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

La discrepancia de estos datos pudo estar influenciada por otras variables no incluidas en este estudio como son:
(1) el no conocer el tiempo de elaborado el alimento y luego el tiempo que lleva mantenido en la línea de servicio; y
(2) la alta incidencia de otros microorganismos en los medios que rodean los productos cárnicos.

Por otra parte, el control (monitoreado) de las temperaturas en los alimentos potencialmente peligrosos, es una de las medidas de inocuidad más importantes en cada una de las etapas operacionales desde el recibo hasta que los alimentos sean consumidos o descartados.

3.3.2 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según el establecimiento.

Se realizó una prueba de Chi cuadrado para observar la relación existente entre el tipo de establecimiento y las muestras de alimentos que se encontraron en riesgo de temperaturas peligrosas. La Tabla 10 demuestra la existencia de una relación significativa entre estos dos parámetros ($p>0.05$).

TABLA 10

ESTUDIAR LA ASOCIACION DE RIESGO DE TEMPERATURAS PELIGROSAS SEGÚN EL TIPO DE ESTABLECICMIENTO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Mercados	Riesgo de temperaturas peligrosas		
	SI	**NO**	**TOTAL**
EXCLUSAS	12(5,25)	2 (4,5)	14
GOMEZ	2 (8,75)	10(7,50)	12
CENTRAL	2 (4,50)	10(7,50)	12
SAUCES 9	2 (3,75)	8 (6,25)	10
TOTAL	18	30	**48**

Estadístico	Valor	Probabilidad	Hipótesis Nula (Ho)		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	20,12	mayor a 99%	Rechazar	Rechazar	Rechazar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

3.4 Resultados Microbiológicos

En las muestras analizadas se utilizaron cuatro criterios microbiológicos, los cuales fueron: la enumeración de Coliformes totales, el aislamiento de *E. Coli, Staphylococcus aureus y Salmonella*. Las muestras fueron procesadas a través de los métodos rápidos de petrifilms y Microwell Elisa e interpretadas de acuerdo a la norma INEN para productos carnicos.

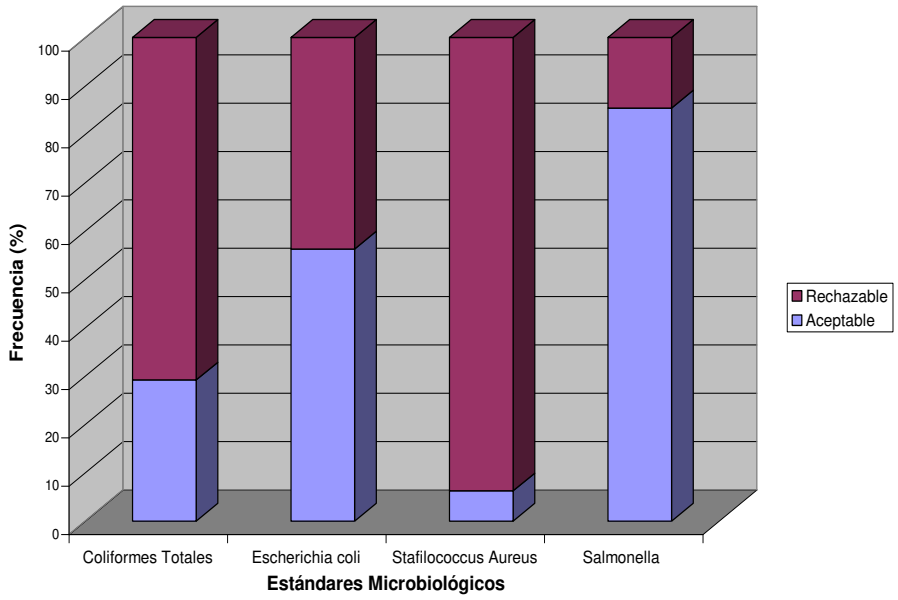
El 29.17%, 56.25%, 85.42% y el 6.25% de muestras analizadas fueron clasificadas como aceptable para *Coliformes totales*, *E. Coli, Staphylococcus aureus y salmonella* respectivamente. El 70.83%, 43.75%, 93.75% y 14.58% de muestras se encontraron en el rango de rechazable para recuento de *Coliformes totales*, Escherichia coli, *Staphylococcus aureus* y *salmonella* respectivamente. La Tabla 11 y Figura 3.2 muestran dichos resultados.

TABLA 11

DATOS MICROBIOLÓGICOS DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS DE ACUERDO A LA NORMA INEN PARA PRODUCTOS CARNICOS.

Parámetro Microbiológico	No. Totales Muestras	No. Muestras (%)	
		Aceptable	Rechazable
Coliformes totales	48	14 (29,17)	34 (70,83)
Escherichia coli	48	27 (56,25)	21 (43,75)
Staphylococcus aureus	48	3 (6,25)	45 (93,75)
Salmonella	48	41 (85,42)	7(14,58)

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. 2007



Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

FIGURA 3.2 COMPARACION DE LOS GRADOS DE CALIDAD MICROBIOLOGICA EN LOS CUATRO CRITERIOS MICROBIOLOGICOS

3.4.1 Análisis estadístico según criterios microbiológicos

Se realizó la prueba de Chi cuadrado para comparar los resultados obtenidos en los criterios microbiológicos (Tabla 12). Los resultados demostraron que no existe una relación entre las muestras de alimento que fueron clasificadas como aceptables y rechazables en los criterios microbiológicos, lo cual significa que los establecimientos que presentaron cargas microbianas altas para *staphylococcus aureus* no tuvieron igual comportamiento de densidad para *escherichia coli*.

TABLA 12

ESTUDIAR LA ASOCIACION DEL CONTAJE *ESCHERICHIA COLI* Y LA RELACION CON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SEGÚN EL TIPO DE ESTABLECICMIENTO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Escherichia coli	***Staphylococcus Aureus***		
	Aceptable	**Rechazable**	**TOTAL**
Aceptable	3(3,83)	20 (19,17)	23
Rechazable	5 (4,17)	20(20,83)	25
TOTAL	8	40	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	0.42	menor del 50%	Aceptar	Aceptar	Aceptar
Prueba Chi cuadrado (Corrección De Yates)	0,07	menor del 25%	Aceptar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

3.4.2 Análisis estadístico para el contaje de *Coliformes totales* según el mercado.

Se analizó el criterio microbiológico de *coliformes totales* y su relación con los cuatro mercados con el mayor número de muestras analizadas. Se encontró en los mercados de las Exclusas y de Sauces 9 que los embutidos tienen una menor calidad ya que su conteo es uno de los más altos para el grado de rechazable comparado con los mercados de Pedro Pablo Gómez (PPG) y Central.

Pedro Pablo Gómez (PPG) presentó un número moderado de *coliformes totales* permitidos, ya que sus grados de calidad fueron encontrados dentro de los límites de aceptabilidad, después del Central. La prueba de Chi cuadrado presentada en la Tabla 13 comprobó dicha relación ($p<0.05$).

TABLA 13

ESTUDIAR LA ASOCIACION DEL CONTAJE *COLIFORMES TOTALES* SEGÚN EL MERCADO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Coliformes Totales	**Exclusas**	**PPG**	**Central**	**Sauces 9**	**TOTAL**
Aceptable	4(5,61)	6 (7,35)	5 (4,32)	4 (3,89)	19
Rechazable	9 (4,32)	4(5,60)	4(5,11)	8(6,82)	25
TOTAL	13	10	9	12	**44**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	3,01	menor del 95%	Rechazar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

3.4.3 Análisis estadístico para el contaje de Escherichia Coli según el mercado

El análisis de la prueba estadística Chi cuadrado, que presenta un $p<0.05$ (Tabla 14), realizado para el criterio microbiológico de *E. Coli*, nos mostró que los niveles entre mercados están parejos con los grados de calidad de aceptable y rechazable en las muestras analizadas.

3.4.4 Análisis estadístico para el contaje de Staphylococcus Aureus según el mercado

Se analizó el criterio microbiológico de *Staphylococcus aureus*, se encontró que los cuatro mercados tienen embutidos de menor calidad ya que su conteo es uno de los más altos para el grado de aceptabilidad. La prueba de Chi cuadrado presentada en la Tabla 15 comprobó dicha relación ($p<0.05$).

TABLA 14

ESTUDIAR LA ASOCIACION DEL CONTAJE *ESCHERICHIA COLI* SEGÚN EL MERCADO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Escherichia coli	**Exclusas**	**PPG**	**Central**	**Sauces 9**	**TOTAL**
Aceptable	7(6,64)	5 (6,36)	6 (5,11)	5(4,60)	23
Rechazable	7 (5,11)	4(4,89)	5(4,40)	6(5,87)	22
TOTAL	14	9	11	12	**45**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	0,25	menor del 40%	Aceptar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

TABLA 15

ESTUDIAR LA ASOCIACION DEL CONTAJE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SEGÚN EL MERCADO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS (ENTRE PARENTESIS). SI LOS FACTORES FUESEN INDEPENDIENTES.

Staphylococcus Aureus	**Exclusas**	**PPG**	**Central**	**Sauces 9**	**TOTAL**
Aceptable	2(0,94)	0 (14,06)	1(0,75)	0(0,63)	3
Rechazable	12 (0,75)	12(11,25)	10(9,38)	11(10,31)	45
TOTAL	15	12	10	11	**48**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	2,91	menor del 95%	Rechazar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

3.4.5 Análisis estadístico para el contaje de *Salmonella* según el mercado

Se analizó el criterio microbiológico de *salmonella*, se encontró en el mercado de Sauces 9 las salchichas están con alta calidad ya que su conteo es uno de los bajos para el grado del límite de ausencia, esto comparado con los mercados de las Exclusas, Central y Pedro Pablo Gómez.

De las 48 muestras de salchichas analizadas, seis fueron encontrados dentro del grado de calidad de presencia, los cuales pertenecían a los cuatro mercados como lo indica.
La prueba de Chi cuadrado presentada en la Tabla XVI comprobó dicha relación ($p<0.05$).

Las muestras analizadas estadísticamente para los cuatro criterios microbiológicos y su relación con los mercados que tenían el mayor número de muestras analizadas en el estudio, demostraron una relación significativa con el contaje total *Coliformes totales*, *E. Coli* y *salmonella*, pero no con *staphylococcus aureus,* lo cual podría explicarse

considerando el número de muestras observadas dentro del límite de aceptable y el grado de calidad rechazable fue mayor para estos tres primeros criterios, mientras que para *staphylococcus aureus* de un total de 48 muestras analizadas, solo tres muestras fueron encontradas en el límite de aceptabilidad y las restantes se encontraron dentro del grado de calidad rechazable(Apéndice E)..

TABLA 16

ESTUDIAR LA ASOCIACION DEL CONTAJE *SALMONELLA* SEGÚN EL MERCADO. VALORES OBSERVADOS Y VALORES ESPERADOS

Salmonella	**Exclusas**	**PPG**	**Central**	**Sauces 9**	**TOTAL**
Ausencia	8(8,54)	9 (1,46)	8(8,54)	10(7,68)	35
Presencia	2 (8,54)	1(1,46)	1(1,32)	2(1,76)	6
TOTAL	10	6	3	6	**41**

Estadístico	**Valor**	**Probabilidad**	**Hipótesis Nula (Ho)**		
			90%	**95%**	**99%**
Prueba Chi cuadrado	0,42	menor del 50%	Aceptar	Aceptar	Aceptar

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2007)

CAPITULO 4

4. Conclusiones y Recomendaciones

⇒ CONCLUSIONES

1 Los fabricantes de estos embutidos cumplirían con las normas sanitarias de producción, presentándose anomalías en la fase de comercialización porque los productos recontaminados sobrepasan la temperatura de riesgo de 22°C.

2 En esta investigación se ha encontrado, en términos de la inocuidad microbiológica de los alimentos listos para el consumo: un alto porcentaje de carga microbiana en el grado de calidad rechazable para *Staphylococcus aureus* y *Coliformes totales.* Esto

puede ser por una contaminación por manipulación inapropiada o por falta de refrigeración.

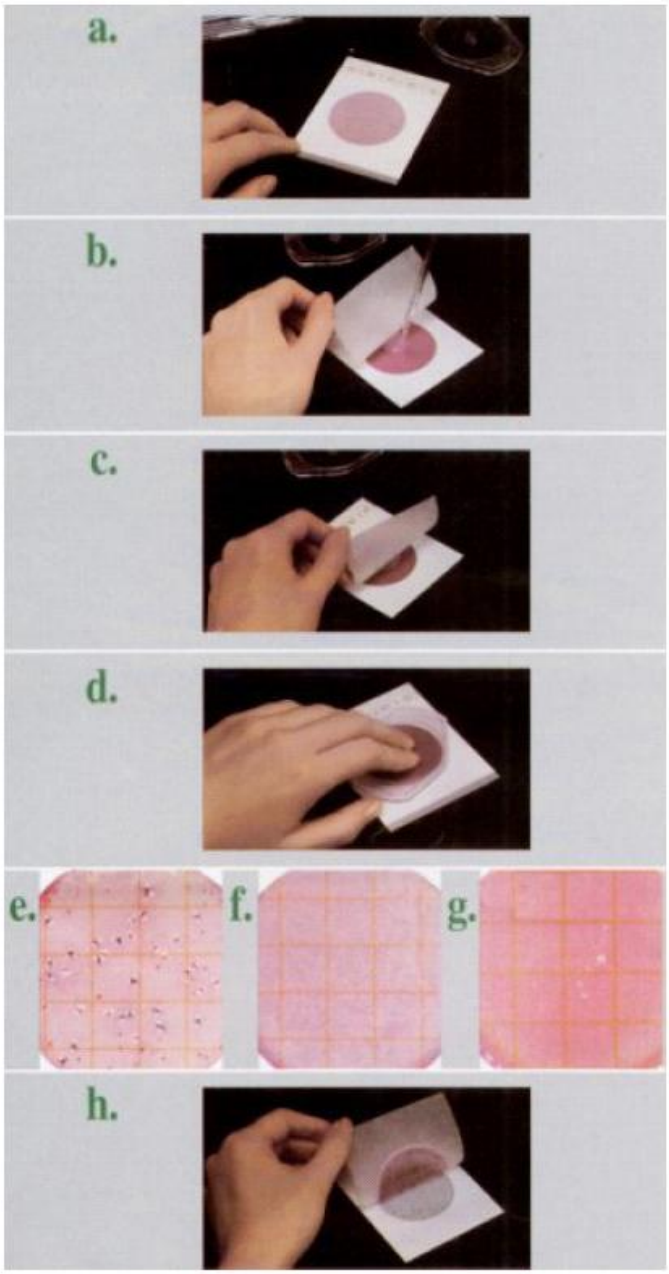
3 Ventajosamente para el consumidor estos contaminantes son termolábiles y se minimizan en la cocción o fritura de las salchichas previo a su consumo.

4 De los cuatro mercados estudiados en la ciudad de Guayaquil, el mercado de las Exclusas presentan anomalías en 3 de los cuatro criterios de evaluación; indicando que sus condiciones de manipulación y comercialización son inadecuadas.

APÉNDICES

APÉNDICE A

MÉTODO PETRIFILMS PARA LA DETERMINACIÓN DE *COLIFORMES TOTALES* Y *ESCHERICHIA COLI*


a.
b.
c.
d.
e.
f.
g.
h.

APÉNDICE B

MÉTODO PETRIFILMS PARA LA DETERMINACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

a.

b.

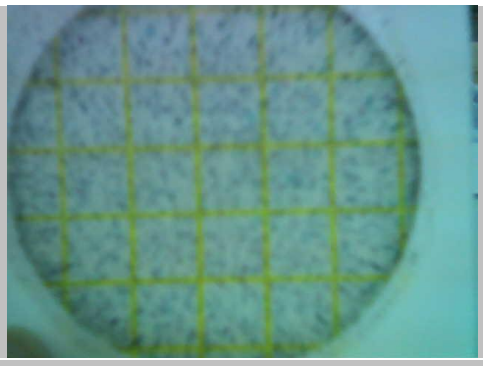
C.

d.

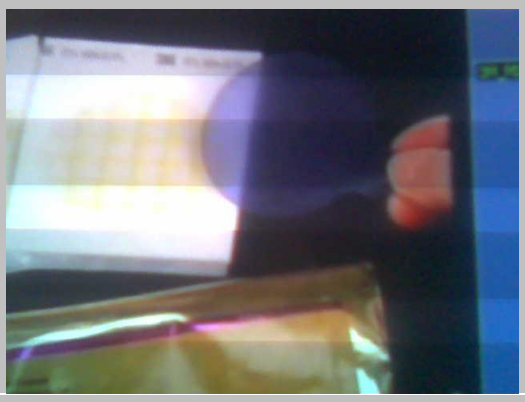
e.

f.

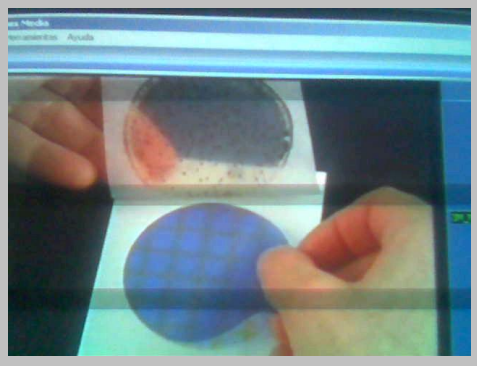
h.



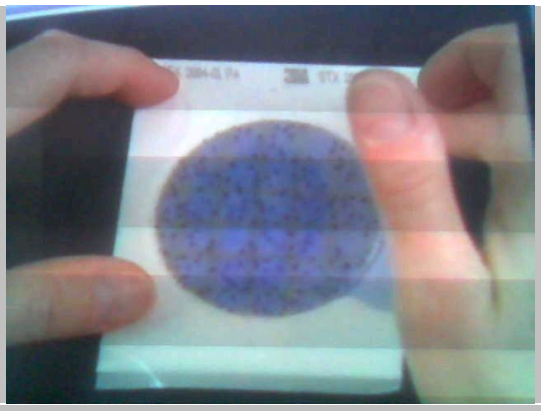
i.



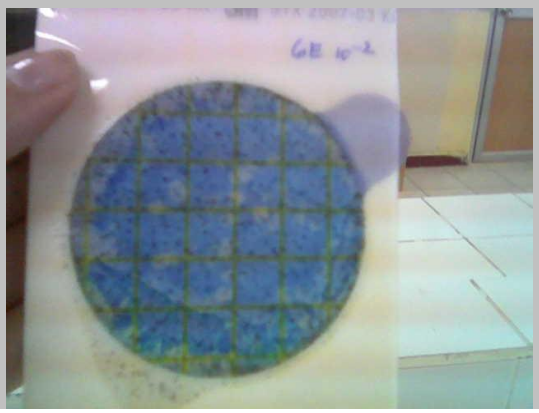
j.



k.

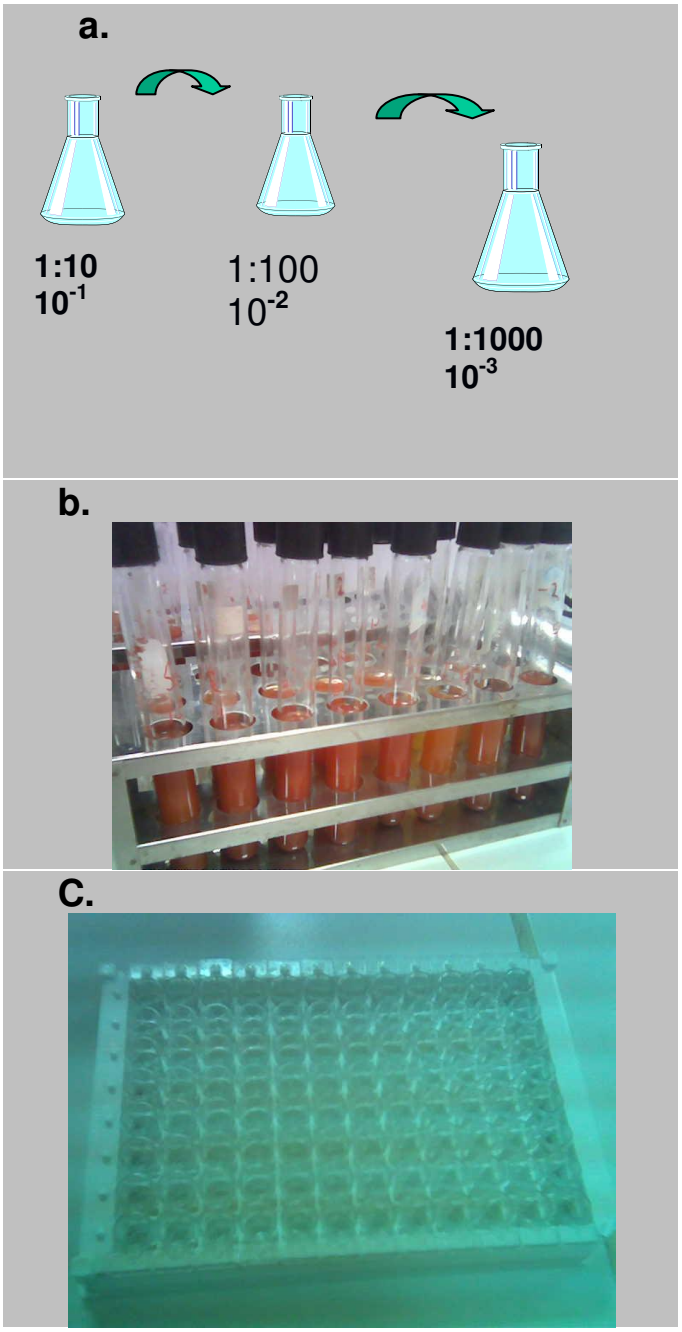


l.

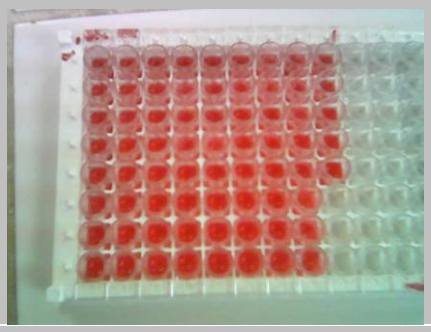


APÉNDICE C

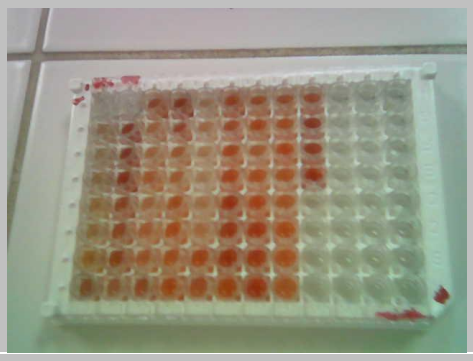
MÉTODO MICROWELL ELISA PARA LA DETERMINACIÓN DE SALMONELLA



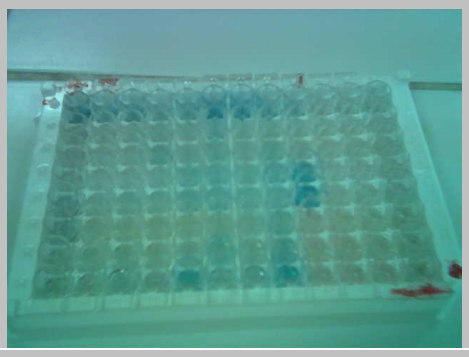
d.



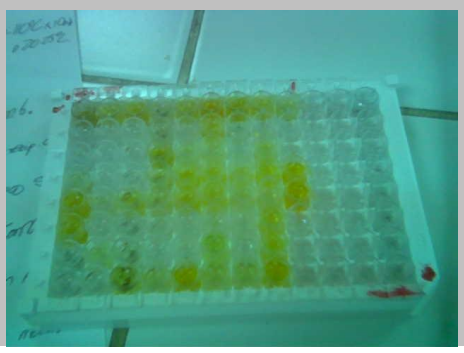
e.



f.



g.



APENDICE D

MONITOREO DE TEMPERATURAS

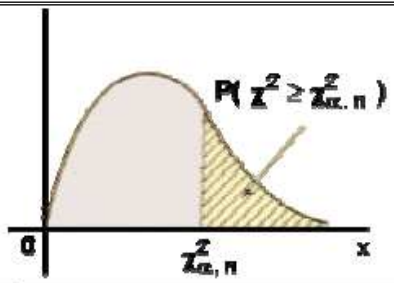
No. Muestra	Tipo de Alimento	Temperatura ° C
1	salchicha	22
2	salchicha	23
3	salchicha	23
4	salchicha	22
5	salchicha	24
6	salchicha	24
7	salchicha	22
8	salchicha	23
9	salchicha	23
10	salchicha	23
11	salchicha	23
12	salchicha	23
13	salchicha	23
14	salchicha	22
15	salchicha	21
16	salchicha	21
17	salchicha	21
18	salchicha	21
19	salchicha	21
20	salchicha	22
21	salchicha	22
22	salchicha	22
23	salchicha	22
24	salchicha	22
25	salchicha	23
26	salchicha	23
27	salchicha	23
28	salchicha	23
29	salchicha	23
30	salchicha	24

31	salchicha	24
32	salchicha	24
33	salchicha	24
34	salchicha	24
35	salchicha	24
36	salchicha	24
37	salchicha	23
38	salchicha	23
39	salchicha	22
40	salchicha	22
41	salchicha	22
42	salchicha	22
43	salchicha	22
44	salchicha	22
45	salchicha	22
46	salchicha	22
47	salchicha	22
48	salchicha	22

Fuente: Ma. Fernanda Alzamora R. (2006)

APENDICE E

TABLA DE DISTRIBUCIÓN DE JI-CUADRADO



	Probabilidad de un valor superior				
Grados de libertad	**0,1**	**0,05**	**0,025**	**0,01**	**0,005**
1	2,71	3,84	5,02	6,63	7,88
2	4,61	5,99	7,38	9,21	10,60
3	6,25	7,81	9,35	11,34	12,84
4	7,78	9,49	11,14	13,28	14,86
5	9,24	11,07	12,83	15,09	16,75
6	10,64	12,59	14,45	16,81	18,55
7	12,02	14,07	16,01	18,48	20,28
8	13,36	15,51	17,53	20,09	21,95
9	14,68	16,92	19,02	21,67	23,59
10	15,99	18,31	20,48	23,21	25,19
11	17,28	19,68	21,92	24,73	26,76
12	18,55	21,03	23,34	26,22	28,30
13	19,81	22,36	24,74	27,69	29,82
14	21,06	23,68	26,12	29,14	31,32
15	22,31	25,00	27,49	30,58	32,80
16	23,54	26,30	28,85	32,00	34,27
17	24,77	27,59	30,19	33,41	35,72
18	25,99	28,87	31,53	34,81	37,16
19	27,20	30,14	32,85	36,19	38,58
20	28,41	31,41	34,17	37,57	40,00
21	29,62	32,67	35,48	38,93	41,40
22	30,81	33,92	36,78	40,29	42,80
23	32,01	35,17	38,08	41,64	44,18
24	33,20	36,42	39,36	42,98	45,56
25	34,38	37,65	40,65	44,31	46,93
26	35,56	38,89	41,92	45,64	48,29
27	36,74	40,11	43,19	46,96	49,65
28	37,92	41,34	44,46	48,28	50,99
29	39,09	42,56	45,72	49,59	52,34
30	40,26	43,77	46,98	50,89	53,67
40	51,81	55,76	59,34	63,69	66,77
50	63,17	67,50	71,42	76,15	79,49
60	74,40	79,08	83,30	88,38	91,95
70	85,53	90,53	95,02	100,43	104,21
80	96,58	101,88	106,63	112,33	116,32
90	107,57	113,15	118,14	124,12	128,30
100	118,50	124,34	129,56	135,81	140,17

BIBLIOGRAFIA

1. CASTILLO, PRISCILA. Cinética de la degradación de la vitamina C en el jugo concentrado y congelado de maracuyá. (Tesis, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Escuela Superior Politécnica del Litoral, 2001)

2. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual online. Collage Park, Maryland: FDA; 2001. http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html.

3. Manuales para el control de calidad de los alimentos. Introducción a la toma de muestras de alimentos. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. FAO. Roma 1989.

4. Norma Técnica Ecuatoriana. Carne y Productos Carnicol. Salchichas. Requisitos. Primera edición. NTE INEN 1338:96.

5. Pita Fernández Salvador, Pértiga Díaz Sofía. (2004) Asociación de variables cualitativas: test Chi Cuadrado.

6. Programa de apoyo a la microempresa rural de América latina y el caribe, Curso sobre Aprovechamiento Agroindustrial de la Carne de Cerdo y Oveja, 2001

7. SafePath Laboratories. Salmonella Microwell ELISA for Foods, Food Products and Related Samples. Carlsbad, CA 92008

8. USDA/FSIS. 1998. Microbiology Laboratory Guidebook 3rd edition. Chapter 1, 3.

9. www2006_1.anmat.gov.ar/normativa/normativa/alimentos/Disposicion_Anmat_4943.2003pdf.

10. www2006_2.magno.uab.es/epsi/alimentaria/introduccio-nouproducte-carnic.pdf

11. www2006_3.Sisbib.unmsn.edu.pe/bivirtualdata/tesis/Ingenieria/saenz_a/cap4.pdf.

12. www2006_4.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/10-patologias%20alimentarias.htm

13. www2006_5.murciasalud.es/recursos/ ficheros/4339.-ghpcarni.pdf

⇒ RECOMENDACION

1. En la fase de comercialización se debe insistir en una manipulación limpia y mantener cadena de frío, para esto se necesita de las autoridades de salud pública que intensifiquen los esfuerzos para monitorear las condiciones de higiene y saneamiento en los mercados.

2. Además, demuestra la necesidad de dar mayor énfasis en cursos de "Higiene y manipulación de alimentos" resaltando temas como: el uso y manejo adecuado del termómetro, facilitar los formatos para llevar el control de temperatura e importancia de prevención de contaminación cruzada.