

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**PROPUESTA DE UN MANUAL DE METODOS DE ANALISIS PARA
DIVERSOS ALIMENTOS PROCESADOS SEGUN LAS EXIGENCIAS DE LA
NORMATIVA SALVADOREÑA Y EL REGLAMENTO TECNICO
CENTROAMERICANO.**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

MARTA CECILIA HERNANDEZ MIRANDA

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

FEBRERO, 2012.

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO.

SECRETARIO GENERAL

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA.

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LIC. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO.

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL.

Lic. Maria Concepcion Odette Rauda Acevedo.

ASESORA DE ANALISIS DE ALIMENTOS: QUIMICA AGRICOLA.

MAE. Maria Elisa Vivar de Figueroa.

**ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: TOXICOLOGIA Y QUIMICA
LEGAL.**

Lic. Maria Luisa Ortiz de Lopez.

DOCENTE DIRECTORA

Lic. Dinorah del Carmen Rodriguez de Lainez.

AGREDECIMIENTOS

A Lic. **Dinorah Rodríguez de Laínez**, asesora directora de este trabajo de graduación, quien me brindó su apoyo, orientación y motivación en la realización de este proyecto. Gracias por todo su tiempo, esfuerzo y dedicación; reciba muchas bendiciones de nuestro Señor.

A Lic. **Odette Rauda Acevedo** Coordinadora General de procesos de trabajos de Graduación de la Facultad de Química y Farmacia quien siempre me impulsó a seguir adelante. Gracias por todo su tiempo, apoyo y consejos, que Dios la colme de bendiciones.

A Lic. **María Elisa Vivar de Figueroa** y Lic. **María Luisa Ortiz de López**, docentes asesoras de área quienes con sus observaciones, consejos y revisiones se logro culminar satisfactoriamente este trabajo. Agradezco su colaboración, su interés, esfuerzo y su valioso tiempo; Que Dios conceda muchas bendiciones en sus vidas.

Agradezco al personal encargado del área de los análisis de alimentos en los laboratorios de las instituciones visitadas, quienes muy amablemente me brindaron información que permitió la ejecución de este trabajo.

DEDICATORIA

La honra y gloria sea para **Dios Todopoderoso** por darme la vida, fuerzas y sabiduría para permitirme culminar mi carrera. **A Dios, a su Santo Espíritu y a Cristo Jesús** ofrezco el presente triunfo.

A una mujer virtuosa y valiente por todo su amor y apoyo, a mi madre la **señora Marta Alicia Miranda**, quien desde mi nacimiento hasta el día de hoy se ha sacrificado por mí, quien siempre ha estado trabajando y luchando a mi lado hasta alcanzar la meta, teniendo paciencia y mucho valor para ayudarme a lograr la victoria. Que Dios te bendiga enormemente. Infinitas gracias querida Madre, te amo.

A un hombre perseverante y trabajador quien me ha brindado su apoyo de una manera muy especial a mi padre, al **señor Cecilio Simón Hernández**. Que Dios te bendiga mucho.

A un joven inteligente y colaborador a mi hermano **Raúl Alfredo Hernández Miranda** por su importante colaboración y apoyo en este trabajo. Muchas Bendiciones querido hermano.

A toda mi querida familia, amigas, amigos quienes han sido fortaleza en mi vida. Muchas bendiciones a todas y todos.

Cecilia Miranda

ÍNDICE

	Nº Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xviii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	21
3.1 Organismo Normalizador en el país	21
3.1.1 Proceso de Normalización	23
3.1.2 Las normas en las negociaciones comerciales	24
3.2 Análisis de la investigación	24
3.2.1 Análisis sensorial	24
3.2.2 Análisis microbiológico	29
3.2.2.1 Microorganismos indicadores	30
3.2.3 Análisis fisicoquímico	31
3.2.3.1 Determinaciones fisicoquímicas a utilizar en el estudio	32
3.3 Definiciones de los alimentos en estudio	34
3.3.1 Leche en polvo	34
3.3.2 Queso	35
3.3.3 Grasas y aceites comestibles	35
3.3.4 Néctares de frutas	36
3.3.5 Miel de abeja	36
3.3.6 Harina de maíz Nixtamalizado	36

Capítulo IV	
4.0 Diseño metodológico	38
4.1 Tipo de estudio	38
4.2 Investigación bibliográfica	38
4.3 Investigación de campo	38
4.3.1 Recolección de datos	40
Capítulo V	46
5.0 Resultados	
5.1 Descripción (Manual) de métodos de análisis	46
5.1.1 Análisis sensorial	46
5.1.1.1 Pruebas sensoriales	48
5.1.1.1.1 Pruebas orientadas al consumidor	48
5.1.1.1.2 Pruebas orientadas a los productos	53
5.1.2 Análisis microbiológico	55
5.1.2.1 Análisis microbiológico de <i>Salmonella spp</i>	55
5.1.2.2 Análisis microbiológico de <i>Estafilococcus aureus</i>	58
5.1.2.3 Análisis microbiológico de <i>Eschericchia coli</i>	60
5.1.2.4 Análisis microbiológico de <i>Listeria monocynogenes</i>	62
5.1.2.5 Análisis microbiológico de <i>Clostridium perfringes</i>	63
5.1.3 Descripción y fundamentos de métodos de análisis fisicoquímicos	65
5.1.3.1 Determinación de grasa en leche en polvo	65
5.1.3.2 Determinación de grasa en queso	68
5.1.3.3 Determinación de humedad en queso	69
5.1.3.5 Determinación de índice de acidez en grasas y aceites	70
5.1.3.5 Determinación de índice de peróxido en grasas y aceites	72
5.1.3.6 Determinación de pH en néctares de frutas.	74
5.1.3.7 Determinación de azúcares reductores en miel de abejas	77
5.1.3.8 Determinación de acidez libre en miel de abeja	80

5.1.3.8 Determinación de humedad en miel de abeja	80
5.1.3.9 Determinación de hidroximetilfurfural	81
5.1.3.10 Determinación de humedad en harina de maíz nixtamalizado	82
Capítulo VI	
6.0 Discusión de resultados	84
Capítulo VII	
7.0 Conclusiones	88
Capítulo VIII	
8.0 Recomendaciones	91
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N^o

1. Entrevista dirigida a profesionales encargados de los análisis de alimentos en laboratorios de las siguientes instituciones: Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LEEC), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Centro Nacional de Tecnología Forestal “Enrique Álvarez Córdoba” (CENTA). Embotelladora la CASCADA y Centro de Control de Calidad Industrial (CCCI).
2. Estructura Organizativa del Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), (conocido antiguamente como Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT).
3. Esquema del proceso de Normalización del Organismo Salvadoreño de Acreditación (conocido antiguamente por sus siglas CONACYT).
4. -Figura N^o 3 Cabinas con secciones individuales para cada panelista.
-Figura N^o 4.Plano del laboratorio para pruebas sensoriales construido en el INCAP, Guatemala.
5. Ejemplos de escalas sensoriales empleadas corrientemente.
6. Ejemplos de pruebas sensoriales:
 - Ejemplo N^o 1: Prueba de preferencia pareada utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar la preferencia de frijoles en puré.
 - Ejemplo N^o 2: Prueba de ordenamiento utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar la aceptabilidad de la textura de frijol usando la prueba de Friedman.
 - Ejemplo N^o 3: Prueba hedónica utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar el grado de aceptabilidad de diferentes variedades de frijol.

7. Tablas estadísticas:

-Tabla N^o 4. Prueba binomial de 2 extremos. Probabilidad de X ó más concordantes en n pruebas ($p=1/2$).

-Tabla N^o 5. Diferencias Críticas Absolutas de la Suma de Rangos para las Comparaciones de "Todos los Tratamientos" a un Nivel de Significancia de 1%.

Tabla N^o 6. Diferencias Críticas Absolutas de la Suma de Rangos para las Comparaciones de "Todos los Tratamientos" a un Nivel de Significancia de 5%.

Tabla N^o 7. Distribución de F al Nivel de Significancia de 1%.

Tabla N^o 8. Distribución de F al Nivel de Significancia de 5

8. Límites microbianos en base al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA). 67.04.50:08.

9. Cuadro N^o 8. NMP. Límites de confianza de 95 % cuando se usan diversas combinaciones de resultados positivos de concentraciones de 10, 1, y 0,1 ml en series de 5 tubos.

10. Parámetros Físicoquímicos establecidos por la Normativa Salvadoreña.

11. Método Oficial 964.24 AOAC. Soluciones Buffer para calibración del equipo en la determinación del pH.

12. Tabla 969.38 AOAC. Relación entre el índice de refracción y el contenido de humedad en miel. Método Oficial AOAC.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N ^o	N ^o	Pág.
1. Determinación y metodología del análisis microbiológico		59
2. Análisis microbiológico de Salmonella ssp.		59
3. Análisis microbiológico de Estafilococcus aureus		62
4. Análisis microbiológico de Escherichia coli		64
5. Análisis microbiológico de Listeria monocytogenes		66
6. Análisis microbiológico de Clostridium perfringes		67
7. Métodos de análisis fisicoquímicos		69
8. Determinación de grasa en leche en polvo		69
9. Determinación de grasa en queso		72
10. Determinación de humedad en queso madurado y no madurado.		73
11. Determinación de índice de acidez de grasas y aceites: Margarina		74
12. Determinación de índice de peróxido de grasas y aceites: Margarina		76
13. Determinación de pH en néctares de frutas		78
14. Determinación de azúcares reductores en miel de abeja		81
15. Determinación de acidez libre en miel de abeja.		84
16. Determinación de humedad en miel de abeja.		84
17. Determinación de hidroximetilfurfural miel de abeja		85
18. Determinación humedad en harina de maíz nixtamalizado		86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras N ^o	N ^o Pág.
1. Los sentidos en las regiones el cerebro	27
2. Ubicación de los 5 sentidos en la corteza cerebral	28
3. Relación entre los 5 sentidos y los atributos sensoriales	28
4. Diferencia fisiológica entre olor y aroma	29
5. Análisis sensorial directo	29
6. Sensaciones gustativas	30
7. Sensación y percepción del sabor	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas N ^o	N ^o Pág.
1. Resultados de la pregunta N ^o 1	43
2. Resultados de la pregunta N ^o 2	43
3. Resultados de la pregunta N ^o 3	44
4. Resultados de la pregunta N ^o 4	45
5. Resultados de la pregunta N ^o 5	45
6. Resultados de la pregunta N ^o 6	46
7. Resultados de la pregunta N ^o 7	46

ABREVIATURAS

AOAC: Association of Official Analytical Chemists. (Asociación de Químicos Analíticos Asociados).

AOCS: American Oil Chemist's Society. (Sociedad Americana de Química de Aceites).

CCCI: Centro de Control de Calidad Industrial.

CENTA: Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal "Enrique Álvarez Córdoba".

CONACYT: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

D.O: Denominación de Origen.

FAO: Food and agriculture organization (Organización para la Agricultura y la alimentación).

FDA: US Food and Drug Administration. (Federación de Drogas y Alimentos).

FUSADES: Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social

HMF: Hidroximetilfurfural.

ISO: International Organization for Estandarization (Organización Internacional para Estandarización).

LEEC: Laboratorios Especializados en Control de Calidad.

MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería.

MSPAS: Misterio de Salud Publica y Asistencia Social.

NSO: Norma Salvadoreña Obligatoria.

NSR: Norma Salvadoreña Recomendada.

OMC: Organización Mundial del Comercio

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OSA: Organismo Salvadoreño de Acreditación.

ASTM: International Standards Worldwide.

RTCA: Reglamento Técnico Centroamericano.

SIECA: La Secretaría de Integración Económica Centroamericana.

UNE: Una Norma Europea.

RESUMEN.

El presente trabajo consiste en la realización de un manual de análisis para diversos alimentos procesados basado en la Normativa Salvadoreña de acuerdo al código específico según el alimento y el Reglamento Técnico Centroamericano N^o 67.04.50:08; considerando que en El Salvador no se contaba con un manual de esta naturaleza. Empleando como instrumento de investigación una entrevista dirigida a siete profesionales responsables de los laboratorios de control de calidad de las siguientes instituciones: Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LEEC), Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal "Enrique Álvarez Córdoba" (CENTA), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y Centro de Control de Calidad (CCCI); con el objetivo de investigar la importancia de la creación del manual antes mencionado. Obteniendo como resultado que el 100% de los profesionales entrevistados consideraron importante la elaboración del manual basado en la Normativa Oficial de acuerdo al código específico según el alimento; debido a que en el país no existía el manual como tal; coincidiendo en las respuestas en un 100% que sería un valioso aporte en los sectores académico e industrial, pues, facilita la búsqueda de información y disminuye el proceso investigativo.

Para la realización del manual se seleccionaron de las Normas Salvadoreñas Obligatorias (NSO) N^o 67.19.01:18 para miel de abejas, NSO N^o 67.03.02:08 para harina de maíz nixtamalizado, NSO N^o 67.23.02.06 para margarina, grasas y aceites, NSO N^o 67.01.04:06 para queso no madurado, NSO 67.01.03:05 para queso madurado, y NSO N^o 67.01.05:95 para leche en polvo Normas Salvadoreñas Recomendadas (NSR) N^o 67.04.40:07 para néctares de frutas, NSR N^o 67.00.306:00 para análisis sensorial así como del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) N^o 67.04.50:08 los parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos para los siguientes alimentos en

estudio: Leche en polvo, queso madurado y no madurado, miel de abeja, harina de maíz nixtamalizado, néctares de frutas, grasas y aceites comestibles, se recopilaron las determinaciones analíticas indicadas en la norma para cada uno de los alimentos seleccionados, señalando el método de análisis que se presenta en la normativa, se tradujeron los métodos de análisis escritos en inglés establecidos por los libros oficiales para los alimentos antes mencionados, posteriormente se plasmaron los fundamentos de las determinaciones y finalmente se describieron los métodos de análisis prescritos por los libros oficiales para dichos alimentos procesados; y al mismo tiempo se ha incluido la cristalería, equipos y reactivos, a modo de facilitar la práctica en el laboratorio utilizando la bibliografía recomendada en la normativa respectiva, como los son: AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Asociados) para análisis fisicoquímico para diversos alimentos, AOCS (Sociedad Americana de Química de Aceites) para análisis fisicoquímico para grasas y aceites y el BAM (Manual de Análisis Bacteriológicos) para análisis microbiológico de diferentes alimentos.

Es importante la elaboración de este manual que incluye metodología basada en la Normativa Salvadoreña acorde al código específico según el alimento y el Reglamento Técnico Centroamericano N^o 67.04.50:08 con los parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos para los alimentos seleccionados, pues contiene un análisis completo de control de calidad los productos alimenticios mencionados, lo cual permite el ajuste a los límites establecidos por la Normativa. En virtud de lo anterior se recomienda hacer uso del manual para los sectores académico e industrial; y de esta manera simplificar la búsqueda de información y reducir el tiempo de investigación.

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCIÓN

El análisis de alimentos es la disciplina que se encarga del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos y de sus componentes. Esta información es crítica para el entendimiento de los factores que determinan las propiedades de los alimentos, así como la habilidad para producir alimentos que sean consistentemente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor.

En virtud de lo anterior la presente investigación consiste en elaborar un manual de métodos de análisis para los diversos alimentos procesados seleccionados, basado en la Normativa Salvadoreña de acuerdo al código específico según el alimento y el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) N° 67.04.50:08; con los siguientes parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológico y fisicoquímicos; lo cual resulta un material de análisis completo de control de calidad de los productos seleccionados.

El interés de realizar la investigación responde a la necesidad que exista un manual con metodologías de análisis de alimentos basado en las normativas Salvadoreñas Obligatorias y Recomendadas en el área alimentaria en el laboratorio de análisis bromatológico; sabiendo que cuando exista la NSO (Norma Salvadoreña Obligatoria) y la NSR (Norma Salvadoreña Recomendada) prevalece la NSO (Norma Salvadoreña Obligatoria); así mismo pueda emplearse por los diferentes laboratorios de análisis de alimentos y que éstos cuenten con metodologías oficiales traducidas que se han seleccionado, tomando como referencia las normativas alimentarias vigentes, y contribuir así en la obtención de resultados reproducibles y confiables.

Para el desarrollo de las metodologías se tomó como referencia el Codex Alimentarius, el AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Asociados), AOCS Sociedad Americana de Química de Aceites), y otros libros de consulta que contengan métodos oficiales para los alimentos en estudio, como referido por la normativa oficial según el código específico para cada alimento.

Para llevar a cabo la investigación se realizó mediante una entrevista a siete profesionales responsables de jefaturas de los laboratorios especializados en control de calidad de productos alimenticios de las instituciones antes mencionadas, visitas al Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) (antiguamente Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología conocido por sus siglas CONACYT) a la Unidad de Normalización, así mismo a las bibliotecas de la Universidad de El Salvador y bibliotecas de universidades privadas.

La investigación es importante para las industrias de alimentos que cuentan con un laboratorio de análisis, en los cuales se puede determinar la calidad sanitaria de sus productos; y a la vez por medio de estos métodos se puede verificar el cumplimiento de las normas de los alimentos seleccionados que servirán de garantía para la aprobación del Registro Sanitario en el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

El manual facilitará la búsqueda de información, la cual está recopilada y traducida de manera práctica, sugiriendo los métodos aprobados por la Normativa, por lo que resulta ser un valioso aporte en los sectores académico e industrial de esta manera obtener resultados comparables con los límites establecidos en dichas normas.

CAPÍTULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General.

Proponer un manual de métodos de análisis para diversos alimentos procesados según las exigencias de la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano N° 67.04.50:08.

2.2 Objetivos específicos.

- 2.2.1 Seleccionar de las Normas Salvadoreñas Obligatorias (NSO) y Normas Salvadoreñas Recomendadas (NSR), así como del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) N° 67.04.50:08 los parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos para los siguientes alimentos: Leche en polvo, queso madurado y no madurado, miel de abeja, harina de maíz nixtamalizado, néctares de frutas, grasas y aceites comestibles.
- 2.2.2 Recopilar las determinaciones analíticas indicadas en la norma para cada uno de los alimentos seleccionados, señalando el método de análisis que se presenta en la norma y si fuera necesario un método alternativo.
- 2.2.3 Traducir cuando fuere necesario los métodos de análisis establecidos por los libros oficiales para los alimentos antes mencionados tomando en cuenta las exigencias de la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano N° 67.04.50:08.
- 2.2.4 Fundamentar los métodos de análisis establecidos por los libros oficiales para dichos alimentos procesados basándose en las exigencias de la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano.
- 2.2.5 Describir los métodos de análisis establecidos por los libros oficiales para dichos alimentos procesados basándose en las exigencias de la Normativa salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano.

CAPITULO III
MARCO TEÓRICO

3.0 MARCO TEÓRICO

3.1 ORGANISMO NORMALIZADOR EN EL PAÍS.

En El Salvador existe el Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), (conocido antiguamente como Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por sus siglas CONACYT), que es una institución de derecho público sin fines de lucro, de carácter autónomo descentralizado y es la autoridad superior en materia de política científica y tecnológica.

La dirección es ejercida por la Junta Directiva, conformada por los sectores: Público, productivo, académico y profesional.

La ejecución de sus atribuciones es realizada por los departamentos especializados los cuales son:

- Financiamiento al Desarrollo Científico y Tecnológico,
- Desarrollo Científico y Tecnológico,
- Normalización, Metrología y Certificación de la Calidad. (Anexo N^o.2).

Estos departamentos se encargan de ejercer las dos grandes funciones que realiza el OSA: Dirigir y coordinar las actividades y la ejecución de la política en materias de desarrollo científico y tecnológico; de infraestructura nacional de la calidad orientadas al desarrollo económico y social de la República.

El Centro Nacional de Normas es el organismo responsable de coordinar las actividades con otras instituciones para la elaboración y adopción de normas técnicas nacionales; proponer las normas técnicas nacionales, para su aprobación por el Ejecutivo por medio del Ministro de Economía; velar por el cumplimiento de las normas técnicas nacionales; constituir los Comités Técnicos para el estudio, elaboración y modificación de normas técnicas oficiales y coordinar sus actividades; acreditar y llevar registros de los laboratorios acreditados; y colaborar con entidades del país y de otros países así como con otras instituciones internacionales relacionadas y las normas internacionales ISO y CODEX. (8), (9).

La legislación salvadoreña define dos tipos de normas: Las Normas Salvadoreñas Obligatorias (NSO) y las Normas Salvadoreñas Recomendadas (NSR).

A. Normas Salvadoreñas obligatorias:

Estas normas se identifican con las iniciales NSO “Normas Salvadoreñas Obligatorias”, seguida de un código específico en el cual la primera cifra describe el código internacional de alimentos, la segunda cifra a la lista correlativa de los comité técnico de normalización, la tercera cifra al número correlativo del alimento y la cuarta cifra al año en que fue aprobada la norma. Las NSO incluyen a las normas que rigen al sistema internacional de unidades (SI), las que refieren a materiales, procedimiento, producto y servicios que puedan afectar la vida, la seguridad y la integridad de las personas, de otros organismos vivos y la relacionada con la protección del medio ambiente y las que se establezcan por considerar el ejecutivo, a propuesta del consejo, que conviene a la economía o son de interés público.

Lo anterior implica que todo producto o servicio que esté sometido al cumplimiento de un Reglamento Técnico o norma obligatoria, deberá garantizar el cumplimiento de los requisitos establecidos y demostrarlo antes de su comercialización. Esto es aplicable a los productos que se comercialicen en el país independientemente si se producen o se importan. Estas normas además determinan quien es la entidad del estado encargada de su vigilancia y control. Se les llama obligatorias porque cualquier organización que pretende ser reconocida legalmente, debe cumplir con estas normas, pues son leyes sujetas a sanción si no se cumplen. ⁽⁹⁾.

B. Normas Salvadoreñas Recomendadas:

Estas normas se identifican con las iniciales NSR “Normas Salvadoreñas Recomendadas”, seguida de un código específico en el cual la primera cifra

describe el código internacional de alimentos, la segunda cifra a la lista correlativa de los comité técnico de normalización, la tercera cifra al número correlativo del alimento y la cuarta cifra al año en que fue aprobada la norma. Las NSR se referirán a las normas de materiales, procedimientos, productos y servicios no comprometidos en las normas obligatorias. Las NSR son optativas en las negociaciones privadas, pero tienen carácter obligatorio en todas las adquisiciones de bienes y servicios que efectúen las entidades estatales autónomas o descentralizadas, en las cuales tanto el proveedor como los responsables de la compra, quedan obligados a su estricto cumplimiento y aplicación.

Las NSR son idénticas a las normas internacionales, mientras que las NSO se basan en normas internacionales, regionales o de otro país.

Ambos tipos de normas son las que rigen a las diferentes organizaciones que se dedican a la elaboración de alimentos, y su aplicación pretende regular la calidad de procedimientos y mejorar la calidad del producto, para hacerlos más competitivos en el mercado nacional y extranjero. (9).

3.1.1 PROCESO DE NORMALIZACIÓN.

La Junta Directiva del OSA (Organismo Salvadoreño de Acreditación) es la entidad responsable de crear los Comités Técnicos de Normalización encargados del estudio y elaboración de proyectos de NSO y NSR. Los Comités están integrados por representantes de la Empresa Privada, Gobierno, Organismo de Protección al Consumidor, Académico Universitario y cualquier otro sector interesado en la norma específica que se ha de desarrollar. Una vez que el Comité Técnico de Normalización ha elaborado un proyecto de NSO, se procede a su publicación en el diario de mayor circulación del país, así como a su notificación a la Secretaría de la OMC y a la SIECA, ofreciendo un plazo de 60 días para que las partes interesadas puedan presentar observaciones. Transcurrido ese plazo, el Comité revisa el proyecto de norma a la luz de las

observaciones recibidas y lo somete a la aprobación de la Junta Directiva del OSA, que a su vez transmite la norma al Ministro de Economía para que la autorice y emita el acuerdo ejecutivo, acto que la establece de manera oficial como norma salvadoreña. Posteriormente, la norma se publica en el Diario Oficial de El Salvador (anexo N° 3). Las normas entran en vigor seis meses después de su publicación en el Diario Oficial. Tanto las NSO como las NSR, una vez aprobadas por la Junta Directiva del OSA, son transmitidas al Ministro de Economía para que éste les otorgue su acuerdo ejecutivo y sean publicadas en el Diario Oficial. ⁽⁹⁾.

3.1.2 LAS NORMAS EN LAS NEGOCIACIONES COMERCIALES.

Las negociaciones comerciales internacionales son fundamentales en la promoción de las exportaciones y constituyen un instrumento importante en la estrategia de crecimiento y modernización del país.

Con el objeto de expandir la presencia de los productos en los mercados internacionales, El Salvador tiene tratados de libre comercio (TLC's) con varios países de Latinoamérica y está en la fase de preparación de la unificación del mercado centroamericano, conocido como Unión Aduanera, en la cual se están realizando acciones para la armonización de normas, las cuales se convertirán en Reglamentos Técnicos Centroamericanos (RTCA). ⁽³⁷⁾.

3.2 ANALISIS DE LA INVESTIGACIÓN.

3.2.1 ANALISIS SENSORIAL.

La evaluación sensorial es un conjunto de técnicas en las que se emplean los sentidos para identificar las diferentes características que componen un alimento. Constituye una disciplina científica que permite evaluar, medir, analizar e interpretar las características sensoriales de un alimento (color, olor, sabor y textura), mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. A pesar de que la evaluación sensorial es el análisis más subjetivo, pues el instrumento de medición es el ser humano, muchas veces define el grado de

aceptación o rechazo de un producto. Está claro que un alimento que no resulte grato al paladar, a la vista o al olfato, no será aceptado aunque contenga todos los constituyentes nutritivos necesarios y esté apto desde el punto de vista microbiológico.

Cuando la calidad de un producto alimenticio es evaluada por medio de los órganos sensoriales humanos se dice que la evaluación es sensorial o subjetiva. Hay una técnica muy útil en investigación que se denomina perfil sensorial, la que genera un gráfico en el cual se representa la magnitud de los diferentes descriptores que definen un producto utilizando la escala hedónica. De esta forma se pueden establecer y medir diferencias entre productos muy similares. (4), (5), (46).

- Los sentidos corporales.

Todos los sentidos tienen en común la capacidad de percibir cambios en su entorno y hacer llegar la señal hasta la corteza cerebral, en donde se integra la información junto con experiencia y se generan diferentes respuestas. (25).



Fig. N^o 1. Los sentidos en las regiones del cerebro. (25).

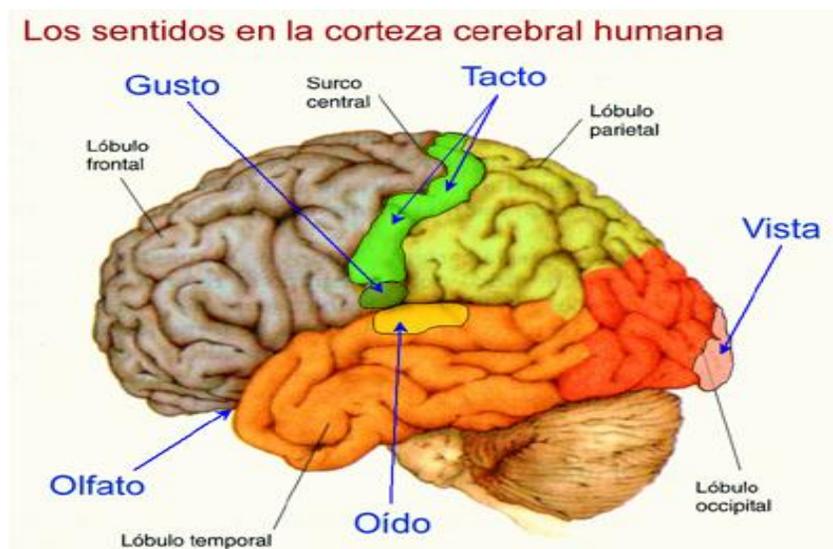


Fig. Nº 2. Ubicación de los 5 sentidos en la corteza cerebral. (25).

El primer contacto del ser humano con un producto alimenticio se produce habitualmente a través de la vista, el olfato, el oído, el tacto, o bien por 2 o 3 de éstas percepciones sensoriales simultáneamente. Una vez introducido el alimento en la boca interviene el gusto, e inconscientemente el olfato (Vía indirecta o retronasal), el tacto y el oído. En otras palabras inconscientemente cuando se ingiere un alimento estamos evaluando su flavor y su textura. (25), (46).

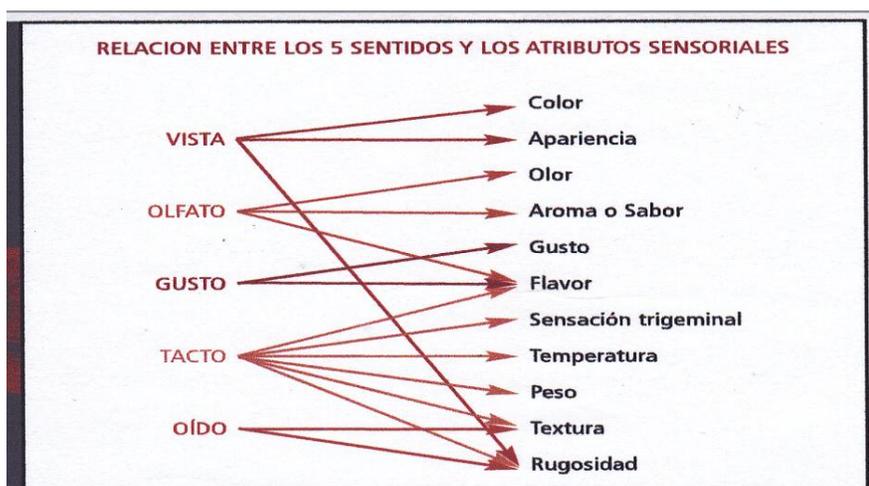


Fig. Nº 3. Relación entre los 5 sentidos y los atributos sensoriales. (25).

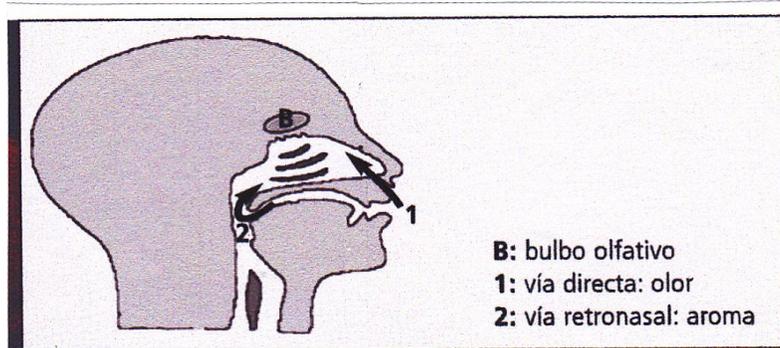


Fig. N° 4. Diferencia fisiológica entre olor y aroma.(25).

Si bien comúnmente las palabras olor y aroma se emplean como sinónimos. Existe una diferencia fisiológica que las distingue. El olor es la propiedad organoléptica perceptible por el órgano olfativo cuando inspira determinadas sustancias volátiles (vía directa). El aroma es la propiedad organoléptica perceptible por vía indirecta por el órgano olfativo durante la degustación. (25), (43).

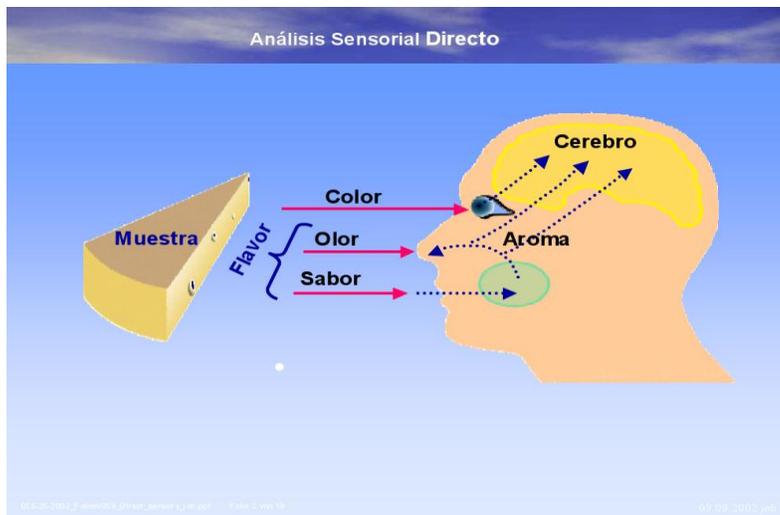


Fig. N° 5. Análisis sensorial directo. (25)

Los corpúsculos gustativos en las diferentes áreas de la lengua no son igualmente sensibles a todos los estímulos gustativos y al menos algunas células gustativas responden a más de un estímulo. Los corpúsculos gustativos cerca de la punta de la lengua son más sensibles a lo dulce y lo salado.

Aquellos de los lados son sensibles a lo ácido y los cercanos a la parte posterior, a lo amargo. (5), (46).



Fig. Nº 6 Sensaciones gustativas. (25).

El sabor, es una consecuencia de una compleja información sensitiva proporcionada por el gusto, el olfato y las sensaciones táctiles que se producen cuando un alimento está en la boca y se mastica. (25), (46).

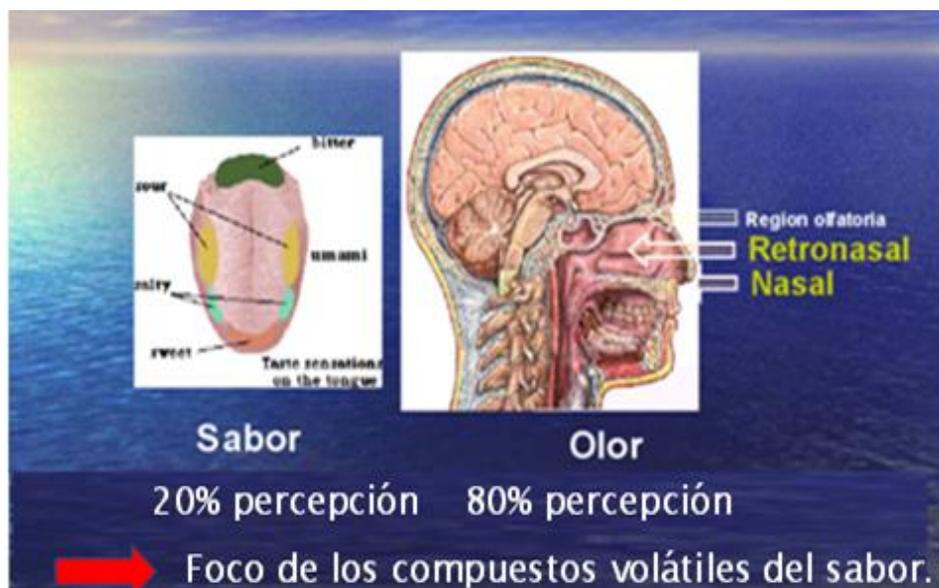


Fig. Nº 7. Sensación y percepción del sabor. (25).

- TEXTURA.

La textura es el conjunto de propiedades mecánicas, geométricas y de superficie de un producto perceptibles por los mecanorreceptores, los receptores táctiles y en ciertos casos los visuales y auditivos.

Los componentes estructurales de los alimentos les confieren un amplio rango de propiedades referidas colectivamente como textura. El aspecto particular de textura predominantemente varía en cada alimento. (4), (46).

3.2.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Los alimentos son sistemas complejos de gran riqueza nutritiva y por tanto sensible al ataque y posterior desarrollo de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras). En todos los alimentos hay siempre una determinada carga microbiana, pero esta debe ser controlada y no debe sobrepasar ciertos límites, a partir de los cuales comienza a producirse el deterioro del producto con la consecuente pérdida de su calidad y aptitud para el consumo. Por otra parte, existen microorganismos patógenos que producen enfermedades y cuya presencia es por tanto indeseable y hace extraordinariamente peligroso su consumo. El análisis microbiológico se realiza entonces con vistas a identificar y cuantificar los microorganismos presentes en un producto así como también constituye una poderosa herramienta en la determinación de la calidad higiénico-sanitaria de un proceso de elaboración de alimentos, lo que permite identificar aquellas etapas del proceso que puedan favorecer la contaminación del producto.

Los alimentos pueden constituir el vehículo de transmisión de dos grupos principales de organismos patógenos para las personas.

- Organismos productores de enfermedades infecciosas en los animales, que son transmisibles a las personas (zoonosis): Bacterianas, víricas, por hongos, por helmintos y por protozoos. Estos organismos se encuentran ya en los alimentos en el momento en que estos son obtenidos (contaminación endógena). (36), (38).

- Organismos productores de intoxicaciones y toxiinfecciones alimentarias humanas, que no existían, por lo general, inicialmente en los alimentos, pero que sumaron posteriormente a ellos (contaminación exógena).

Este trabajo trata únicamente de los microorganismos del segundo grupo que afectan a los alimentos en estudio, es decir, de la contaminación exógena. Se estudian también, sin embargo, las **Salmonellas** y **Listeria monocytogenes** que encajan en ambos grupos. ⁽³⁶⁾.

3.2.2.1 MICROORGANISMOS INDICADORES.

Los microorganismos indicadores son aquellas especies cuya presencia indica que los alimentos estuvieron expuestos a condiciones que pudieron determinar la llegada a los mismos de microorganismos peligrosos y permitir la proliferación de especies patógenas o toxigénicas.

La finalidad por la que se usan las bacterias indicadoras como reveladoras de prácticas de higiene inadecuadas es precisamente para poner de manifiesto determinadas condiciones de tratamientos o manipulación de los alimentos que suponen un peligro potencial, que puede no estar presente en la muestra de alimento estudiada pero si en muestras similares del mismo alimento. ⁽³⁶⁾.

Los microorganismos de este género más comunes que afectan a los alimentos en estudio son:

- **Escherichia coli y coliformes:** Es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto digestivo del hombre. La presencia de este microorganismo en un alimento se interpreta generalmente como contaminación directa o indirecta de origen fecal. Por ello *E. coli* es el indicador clásico de la presencia simultánea de bacterias patógenas entéricas, entre ellas **Salmonella typhi**. ⁽³⁶⁾.

- **Salmonella ssp:** La presencia en los alimentos de cualquier serotipo de salmonellas es potencialmente peligrosa como fuente de enfermedad para las personas, bien de modo directo por el consumo de estos alimentos o

indirectamente mediante la contaminación secundaria de utensilios, del equipo para el tratamiento e industrialización de los alimentos, o de otros alimentos. ⁽³⁶⁾.

- ***Staphilococcus aureus***: La presencia de este microorganismo en un alimento se interpreta, por lo general, como indicativo de contaminación a partir de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, si bien el material y equipo no bien limpiados pueden ser también el origen de la contaminación. Cuando se encuentra un gran número de estafilococos en un alimento, ello significa que la temperatura de conservación no ha sido adecuada, así como tampoco la limpieza y desinfección de los utensilios. ⁽³⁶⁾.

- ***Listeria monocytogenes***: Es una bacteria intracelular facultativa causante de la Listeriosis. Es uno de los patógenos causante de infecciones alimentarias más virulentos, con una tasa de mortalidad entre un 20 a 30%, más alta que casi todas las restantes toxicoinfecciones alimentarias. ⁽⁴³⁾.

- **Bacteria sulfitoreductoras**: Bacterias que tienen la capacidad de reducir el sulfito a sulfuro y de producir esporas. Los anaerobios sulfito-reductores constituyen un grupo asociado a los ***Clostridium spp*** y como tal se caracterizan por ser organismos Gram positivos, anaeróbicos, formadores de esporas, que están normalmente en las heces, aunque en número mucho más reducido que ***Escherichia coli***. Su representante más característico es ***Clostridium perfringens***. ^{(26), (27)}.

3.2.3 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO.

Implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico-químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades estos compuestos se encuentran. El análisis físicoquímico brinda poderosas herramientas que permiten caracterizar un alimento desde el punto de vista

nutricional y toxicológico, y constituye una disciplina científica de enorme impacto en el desarrollo de otras ciencias como la bioquímica, la medicina y las ciencias farmacéuticas, por solo mencionar algunas. ^{(18), (29)}.

3.2.3.1 DETERMINACIONES FISICOQUÍMICAS A UTILIZAR EN EL ESTUDIO - HUMEDAD EN ALIMENTOS.

Indica la cantidad de agua involucrada en la composición de los alimentos. El agua se encuentra en los alimentos en tres formas: Como agua de combinación, como agua adsorbida y en forma libre, aumentando el volumen. El agua de combinación está unida en alguna forma química como agua de cristalización o como hidratos. El agua adsorbida está asociada físicamente como una monocapa sobre la superficie de los constituyentes de los alimentos. El agua libre es aquella que es fundamentalmente un constituyente separado, con facilidad se pierde por evaporación o por secado. ⁽¹⁹⁾. Entre los alimentos a los cuales se les determina el contenido de humedad están: Harina de maíz nixtamalizado, miel de abeja, queso madurado y no madurado.

- MATERIA GRASA EN LÁCTEOS.

Se encuentra en forma de emulsión de glóbulos grasos de 1 a 8 μ de diámetro; la cantidad de materia grasa o ácido tiobarbitúrico varía mucho según las condiciones zootécnicas. La materia grasa está constituida por un 98,5 % de triglicéridos (ésteres de ácidos grasos y glicerol), 1 % de fosfolípidos polares y 0,5 % de sustancias liposolubles: Colesterol, hidrocarburos y vitaminas A, D, E y K. ⁽²⁹⁾. Entre los Alimentos a los cuales se les determina el contenido de materia grasa están: Leche de vaca en polvo y queso no madurado.

- EXTRACTO SECO EN LÁCTEOS.

El extracto seco de los lácteos consiste en el residuo expresado en porcentaje de peso, considerando como residuo el producto obtenido tras haber efectuado

la desecación de la leche que se haya tratado, mediante el procedimiento que corresponde a la norma. (23), (24), (29). Entre los alimentos que se le efectúa la determinación de extracto seco se encuentra el queso no madurado.

- ÍNDICE DE ACIDEZ.

El índice de acidez es una medida del grado de descomposición del aceite o de la grasa, por acción de las lipasas. La descomposición se acelera por la luz y el calor. Se expresa como el porcentaje de ácido oleico presente en la muestra. También se denomina grado de acidez. (2), (30).

- ÍNDICE DE PERÓXIDOS.

Se denomina índice de peróxido a los miliequivalentes de oxígeno activo en forma de peróxido por kilogramo de grasa o aceite.

La determinación de peróxidos se basa en su capacidad de liberar yodo de una disolución de yoduro de potasio en ácido acético glacial. (2), (30). Entre los alimentos a los cuales se les determina el índice de acidez e índice de peróxidos están: Grasas y aceites comestibles.

- EL pH EN LOS ALIMENTOS.

Durante la conservación de alimentos y en el deterioro de éstos, pueden presentarse cambios debidos a la acción enzimática y al desarrollo de microorganismos. La intensidad de estos cambios es influida marcadamente por la concentración del ión hidrógeno (19), (34), (45). Entre los alimentos que se les determina el pH están los néctares de frutas.

- AZÚCARES REDUCTORES.

Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar con otras moléculas. (43).

- SACAROSA.

La sacarosa es un disacárido formado por la unión de una molécula de glucosa y una de fructosa. ⁽¹⁰⁾.

- ACIDEZ EN MIEL.

El sabor de la miel es el resultado de la interacción de muchas sustancias químicas, pero ninguna de ellas da una nota ácida. El hecho que la acidez sea casi imperceptible hace su sabor más agradable. El ácido más común en la miel es el ácido glucónico; el cual está producido por la acción de una enzima sobre la dextrosa de la miel.

En la composición normal de la miel de abejas se encuentran diversos ácidos orgánicos, principalmente glucónico (70 al 90%), y menores de acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, málico, piroglutámico y succínico. ^{(1), (42)}.

- HIDROXIMETILFURFURAL.

Esta molécula se deriva de la deshidratación de las hexosas (monosacáridos), principalmente de la fructuosa. Esta degradación se opera lentamente en todas las mieles y rápidamente durante el calentamiento. El contenido de HMF es característico de la frescura de una miel; cuanto más envejece, mayor es el contenido. ⁽³⁵⁾. Entre los alimentos a los cuales se les efectúa las determinaciones de azúcares reductores, sacarosa, acidez e hidroximetilfurfural se encuentra la miel de abeja.

3.3 DEFINICIONES DE LOS ALIMENTOS EN ESTUDIO.

3.3.1 LECHE EN POLVO.

Es un producto obtenido por la extracción del agua de la leche fluida, entera, semidescremada o descremada. Bajo el nombre de leche desecada (polvo de leche, harina de leche, torta de leche, tabletas de leche), se entiende un

producto lácteo, que va al mercado en forma pulverulenta, o de fragmentos prensados, obtenido por desecación de la leche. (17), (24),(38), (39).

6.5.2 QUESO.

Es el producto blando, pastoso, granulado, semiduro, duro, extra duro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas del suero y la caseína no sea superior a la de la leche. (15),

El queso está compuesto por caseína, grasa, sales insolubles, agua y pequeñas cantidades de lactosa, albúmina y sales solubles en leche, que son concentradas por coagulación de la leche, debido a la acción de la renina o del ácido láctico producido por microorganismos.(5), (19), (29).

- QUESO MADURADO.

Se entiende por “queso curado o madurado” al queso que no está listo para el consumo poco después de la fabricación, sino que deberá mantenerse durante cierto tiempo a una temperatura y en unas condiciones tales que produzcan los cambios bioquímicos y fisicoquímicos necesarios y característicos de un queso maduro. (3), (21), (24).

- QUESO NO MADURADO.

Es el queso que está listo para el consumo poco después de fabricado, de corta duración, y conservado a temperaturas bajas. (36). Caracterizado por su alto contenido de humedad, proteínas, bajo contenido graso y gran valor nutritivo. (15), (21), (22).

6.5.3 GRASAS Y ACEITES COMESTIBLES.

Son los productos alimenticios constituidos principalmente por glicéridos de ácidos grasos (básicamente triglicéridos), obtenidos de materias primas sanas y limpias, libres de productos nocivos derivados de su cultivo o manejo de elaboración. (1), (13).

La oxidación de los lípidos (peroxidación) es una causa del deterioro de la calidad provocando la aparición de sabores y olores desagradables, destruye las vitaminas sensibles y podría generar compuestos tóxicos. (2), (29), (31).

3.3.4 NÉCTARES DE FRUTAS.

El néctar es un producto pulposo o no pulposo, sin fermentar, pero fermentable, destinado al consumo directo, obtenido mezclando toda la parte comestible de la fruta finamente dividida y tamizada o en buen estado y madura, concentrado o sin concentrar, con adición de agua y con o sin adición de azúcar o miel. (12).

3.3.5 MIEL DE ABEJA.

Producto alimenticio producido por las abejas melíferas a partir del néctar de las flores o de las secreciones procedentes de partes vivas de las plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas, que las abejas recogen, transforman, almacenan y dejan madurar en los panales de la colmena. (10).

La miel se compone de diferentes azúcares, predominantemente glucosa y fructosa. Además contiene proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, sustancias minerales, polen y puede contener sacarosa, maltosa, melecitosa y otros oligosacáridos (incluidas las dextrinas), así como vestigios de hongos, algas, levaduras y otras partículas sólidas, como consecuencia del proceso de obtención de la miel. EL contenido de polen no debe ser eliminado por ningún tipo de proceso. (10). (42).

3.3.6 HARINA DE MAÍZ NIXTAMALIZADO.

Es el producto deshidratado que se obtiene de la molienda de los granos de maíz (*Zea mays*) sometido a cocción parcial con agua en presencia de hidróxido de calcio. (11).

CAPÍTULO IV
DISEÑO METOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de Estudio.

Bibliográfico-documental: Enfocado a la recopilación de métodos de análisis de los alimentos seleccionados, a partir de referencias oficiales, basándose en las exigencias de la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.04.50:08.

Puntual y dirigido: Se efectuó una entrevista con el objetivo de investigar la importancia de la existencia de un manual basado en las exigencias de la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano N° 67.04.50:08.

4.2 Investigación bibliográfica.

Visitas al Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA), (antiguamente conocido como Consejo Nacional de Tecnología por sus siglas CONACYT) a la Unidad de Normalización y en las siguientes bibliotecas de la Universidad de El Salvador: Biblioteca Central, biblioteca “Dr. Benjamín Orozco” de la Facultad de Química y Farmacia, biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas, biblioteca de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y bibliotecas de las siguientes universidades privadas: Universidad Alberto Masferrer (USAM), Universidad Nueva San Salvador, (UNSSA), biblioteca “B. P. Florentino Idoate S.J.” de la Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas” (UCA).

4.3 Investigación de campo.

Se realizó una entrevista dirigida a siete profesionales responsables de jefaturas de los laboratorios especializados en control de calidad de alimentos, con el objetivo de investigar la importancia de la existencia de un manual de metodologías oficiales basadas en las normativas salvadoreñas vigentes incluyendo los tres métodos más importantes: Análisis sensorial, microbiológicos y fisicoquímicos. (Anexo N° 1).

-Universo: Laboratorios de control de calidad de alimentos públicos y privados.

-Muestra: Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LEEC), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal “Enrique Álvarez Córdoba” (CENTA), Embotelladora la CASCADA y Centro de Control de Calidad Industrial (CCCI).

Se procedió a plasmar los procedimientos de los métodos analíticos de los alimentos en estudio: Leche en polvo, queso madurado y no madurado, miel de abejas, harina de maíz nixtamalizado, grasas y aceites comestibles y néctares de frutas.

RECOLECCIÓN DE DATOS.

Universidad de el Salvador
Facultad de Química y Farmacia

Resultados, análisis e interpretación obtenidos en la entrevista realizada al siete profesionales encargados de los análisis de alimentos.

1) ¿Se dispone de algún manual de métodos de análisis en el área de alimentos que incluya los análisis: Sensorial, microbiológico y fisicoquímico basados en las Normativas Salvadoreñas y el Reglamento Técnico Centroamericano?
Si ___ No___

Tabla N^o 1. Resultados de la pregunta N^o 1

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
Si	—	0%
No	7	100%
Total	7	100%

En la tabla N^o 1 el 100% de los profesionales entrevistados manifiestan que no disponen de ningún manual de métodos de análisis basados en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano, debido a que no existe, lo cual les lleva a consultar metodología que se encuentra en los libros oficiales tales como: AOAC, BAM, ASTM y Codex Alimentarius.

2) ¿Considera de importancia la existencia de un manual de métodos de análisis basados en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano? Si ___ No___ ¿Por qué?

Tabla N^o 2. Resultados de la pregunta N^o 2

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
Si	7	100%
No	—	0%
Total	7	100%

En la tabla N^o 2 el 100% de los profesionales entrevistados afirmó la importancia de contar con un manual de métodos de análisis basados en la

Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano; de esta manera se facilitarían la búsqueda de información y a su vez reducir el tiempo de investigación; dos profesionales afirmaron que los métodos serían más adaptables a las condiciones nacionales.

3) Según su criterio, ¿Qué beneficios se pueden obtener al desarrollar el manual?

Tabla N° 3. Resultados de la pregunta N° 3

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
Facilitar la búsqueda de información y reducir el tiempo de investigación sobre metodología basada en la Normativa Salvadoreña.	1	14%
Contar con metodología más adaptable al país.	2	29%
Comparar metodología de análisis de la Normativa Internacional con metodología sugerida por la Normativa Salvadoreña.	4	57%
Total	7	100%

En la Tabla N° 3 el 57% de los profesionales entrevistados afirmaron que uno de los beneficios sería comparar ambas metodologías, tanto la internacional como la salvadoreña.

El 29% consideró el beneficio de contar con una metodología más adaptable al país.

El 14% estimó, que un beneficio importante es facilitar la búsqueda de metodología basado en la Normativa Salvadoreña.

4) ¿Podría mencionarme algunas ventajas de las personas que laboran en la producción de alimentos procesados?

Tabla N° 4 resultados de la pregunta N° 4

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje%
Resultaría ventajoso para facilitar la comprensión en la práctica experimental, reducir el tiempo de investigación y de esta manera comparar la metodología salvadoreña con metodología internacional.	7	100%
Total	7	100%

En la tabla N° 4 el 100% de los entrevistados consideraron que resultaría ventajoso para facilitar la comprensión en las prácticas de laboratorio, simplificar la búsqueda de información, y de esta manera poder comparar la metodología salvadoreña con metodología internacional y reducir el tiempo de investigación haciendo más práctico la parte experimental.

5) ¿Cuales son los alimentos de más demanda de análisis en el país en su empresa?

Tabla N° 5. Resultados de la pregunta N° 5

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
Todos los alimentos	5	72%
Todos los alimentos, hasta concentrados para animales.	1	14%
Bebidas carbonatadas	1	14%
Total	7	100%

En la tabla N° 5 el 72% de los profesionales entrevistados respondieron que todos los alimentos tenían la misma demanda en su empresa. Un 14% afirmó que para la empresa en la que estos se encuentran laborando se incluye a todos los alimentos, hasta alimentos concentrados para animales, y el otro 14% sostuvo que para su empresa son las bebidas carbonatadas.

6) ¿En cuál referencia se basa para realizar los correspondientes métodos de análisis?

Tabla N^o 6. Resultados de la pregunta N^o 6

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
AOAC, ASTM, BAM y Codex Alimentarius	7	100%
Total	7	100%

En la tabla N^o 6 el 100% de las personas entrevistadas afirmaron que se basan en referencia con metodología oficial internacional, utilizando el AOAC, BAM, ASTM y Codex Alimentarius; éste último solamente para comparar resultados con los límites establecidos en la norma internacional junto con la Normativa Salvadoreña.

7) ¿Considera necesario que los alimentos cumplan con los parámetros?

Si____ No____ ¿Por qué?

Tabla N^o 7. Resultados de la pregunta N^o 7

Alternativa	Frecuencia absoluta	Porcentaje %
Si	7	100%
Total	7	100%

En la tabla N^o 7 el 100% de los profesionales entrevistados consideran necesario que los alimentos cumplan con los parámetros porque se garantiza mejor calidad de los productos a nivel nacional e internacional.

CAPÍTULO V
RESULTADOS

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



MANUAL DE METODOS DE ANALISIS PARA DIVERSOS ALIMENTOS PROCESADOS SEGÚN LAS EXIGENCIAS DE LA NORMATIVA SALVADORENA Y EL REGLAMENTO TECNICO CENTROAMERICANO.

MARTA CECILIA HERNANDEZ M.



ÍNDICE

	Nº Pág.
Descripción (Manual) de métodos de análisis	50
Análisis sensorial	50
Pruebas sensoriales	52
Pruebas orientadas al consumidor	42
Pruebas orientadas a los productos	57
Análisis microbiológico	59
Análisis microbiológico de <i>Salmonella spp</i>	55
Análisis microbiológico de <i>Estafilococcus aureus</i>	59
Análisis microbiológico de <i>Eschericchia colli</i>	64
Análisis microbiológico de <i>Listeria monocynogenes</i>	66
Análisis microbiológico de <i>Clostridium perfringes</i>	67
Descripción y fundamentos de métodos de análisis fisicoquímicos	69
Determinación de grasa en leche en polvo	69
Determinación de grasa en queso.	72
Determinación de humedad en queso	73
Determinación de índice de acidez en grasas y aceites	74
Determinación de índice de peróxido en grasas y aceites	76
Determinación de pH en néctares de frutas	78
Determinación de azúcares reductores en miel de abejas	81
Determinación de acidez libre en miel de abeja	84
Determinación de humedad en miel de abeja	84
Determinación de hidroximetilfurfural	85
Determinación de humedad en harina de maíz nixtamalizado	86

5.1 DESCRIPCIÓN DE MÉTODOS DE ANÁLISIS.

5.1.1 ANALISIS SENSORIAL

La presente metodología se basa en la Norma Salvadoreña NSR 67.00.306:00 para metodología de análisis sensorial de alimentos; la cual se fundamenta en la Norma Española UNE 87-005-92 y en el proyecto en conjunto del Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID) con el Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). (20), (41).

- Diseño de instalaciones para pruebas sensoriales.

Las áreas básicas, que toda instalación de pruebas sensoriales debe tener son: (1) área de preparación de alimentos; (2) área separada para discusión del panel; (3) área de cabinas de degustación; (4) área de oficina o un escritorio para el encargado del panel; (5) material y equipo para preparar y servir las muestras. (20), (41).

- Instalaciones permanentes para pruebas sensoriales

El tipo y número de pruebas a ser conducidas, el espacio y recursos disponibles, son factores decisivos en el diseño del laboratorio.

En toda área dedicada al análisis sensorial, las paredes deberán ser pintadas de colores neutros (grises y blancos). Los materiales de la superficie de pisos y mostradores deberán ser exentos de olores. Es importante evitar el uso de algunos tipos de alfombras y plásticos que desprendan olores que puedan interferir con las evaluaciones sensoriales. (20), (41).

- Área de Preparación de Alimentos. El área de preparación de alimentos deberá estar provista de mostradores, lavaplatos, equipo para cocción, refrigeradores y espacio para almacenamiento. El área de preparación deberá estar bien iluminada y ventilada. (20), (41).

- Área de Deliberaciones del Panel Para las pruebas orientadas al producto, es necesario contar con una sala donde los panelistas puedan reunirse con el encargado del panel, para recibir instrucciones, entrenamiento, así como para intercambiar opiniones. Esta área deberá estar totalmente separada del área de

preparación de alimentos, de manera que el ruido y los olores de la cocción no interfieran con el trabajo de los panelistas; asimismo, deberá estar situada de manera que no ocurran interrupciones de otro personal de laboratorio. (20), (41).

- **Cabinas para Degustación.** El área de cabinas, al igual que el área de discusión deberá estar completamente aislada del área de preparación de alimentos.

El área de cabinas deberá tener compartimientos individuales donde los panelistas puedan evaluar las muestras sin la influencia de otros miembros del panel. (20), (41). (Anexo N^o 4, fig. N^o 3).

- **Utensilios y Equipo para las Pruebas Sensoriales.** El área sensorial deberá estar equipada con utensilios para la preparación de alimentos y con recipientes pequeños para servir las muestras a los panelistas. Todos los utensilios deberán ser de materiales que no impartan olores o sabores a los alimentos que se estén preparando o sometiendo a prueba. (20), (41).

- **Instalaciones temporales para pruebas sensoriales.** Cuando no se disponga de un área diseñada específicamente para pruebas sensoriales o cuando se lleven a cabo paneles con consumidores fuera de la instalación permanente, un área temporal podrá crearse para cumplir con los requisitos mínimos para llevar a cabo pruebas sensoriales. (20), (41).

- **Área de Preparación de Alimentos** En un laboratorio se pueden establecer instalaciones de cocina provisionales, utilizando hornillas y recipientes de duroport para mantener los alimentos calientes por períodos cortos. Las bandejas preparadas se pueden colocar en carritos, cuando el espacio de mostrador esté limitado. (20), (41).

- **Diseño de un laboratorio sencillo para pruebas sensoriales.** En el INCAP, en la ciudad de Guatemala, se construyó un laboratorio para pruebas sensoriales que incluye cabinas para los panelistas y área de discusión, adyacentes a una cocina ya existente. (20), (41). (Anexo N^o 4, fig. N^o 4).

5.1.1.1 PRUEBAS SENSORIALES.

Los especialistas en pruebas sensoriales y los científicos de alimentos clasifican las pruebas en afectivas (orientadas al consumidor) y analíticas (orientadas al producto), en base al objetivo de la prueba. Las pruebas empleadas para evaluar la preferencia, aceptabilidad o grado en que gustan los productos alimentarios se conocen como "pruebas orientadas al consumidor". Las pruebas empleadas para determinar las diferencias entre productos o para medir características sensoriales se conocen como "pruebas orientadas al producto". Las escalas de medición se utilizan para cuantificar la información de las pruebas sensoriales. Existen diferentes tipos de escalas usadas corrientemente. (Anexo N^o 5). (20), (41).

5.1.1.1.1 Pruebas orientadas al consumidor.

Las pruebas orientadas al consumidor incluyen las pruebas de preferencia, pruebas de aceptabilidad y pruebas hedónicas (grado en que gusta un producto). Estas pruebas se consideran pruebas del consumidor, ya que se llevan a cabo con paneles de consumidores no entrenados. (20), (41).

a) Pruebas de Preferencia.

Las pruebas de preferencia permiten a los consumidores seleccionar entre varias muestras, indicando si prefieren una muestra sobre otra o si no tienen preferencia. La prueba de preferencia más sencilla es la prueba de preferencia pareada; las pruebas de ordenamiento y de categorías también se utilizan frecuentemente para determinar preferencia. (20), (41).

- Instrucciones Generales para Llevar a Cabo una Prueba de Preferencia Pareada.

Descripción de la tarea de los panelistas: En esta prueba se les pregunta a los panelistas cuál de las dos muestras codificadas prefieren. Se les pide que seleccionen una, incluso si ambas muestras les parecen idénticas. (20), (41).

- **Presentación de las muestras:** Las dos muestras (A y B) se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Existen dos posibles órdenes de presentación de las muestras: primero A y luego B (AB) o primero B y luego A (BA). Las muestras deben presentarse en ambos órdenes el mismo número de veces. Si el panel estuviera integrado por 20 jueces, 10 deberían recibir la muestra A primero y los otros 10 la muestra B primero. Con paneles muy numerosos, el orden de cada panelista puede seleccionarse al azar. Ya que hay 50% de posibilidades de que cada panelista reciba primero la muestra A o la muestra B, ambos órdenes deben presentarse a un número de panelistas aproximadamente igual.

Las muestras se presentan simultáneamente en el orden seleccionado para cada panelista, de manera que los panelistas puedan evaluar las muestras de izquierda a derecha. En esta prueba se permite saborear (probar) la muestra varias veces, si es necesario.

En la figura N^o 6, anexo N^o 6 aparece un ejemplo de boleta para una prueba de preferencia pareada. El orden en que los panelistas evaluarán las muestras debe indicarse en la boleta. (20), (41).

- **Análisis de datos:** Los resultados se analizan utilizando una prueba binomial de dos extremos. La prueba de dos extremos es apropiada pues se puede escoger cualquiera de las dos muestras, ya que la dirección de la preferencia no puede determinarse de antemano. Para el análisis, se suma el número de panelistas que prefieren cada muestra y se determina la significancia de los totales, empleando la tabla N^o 4 (Anexo N^o 7). En esta tabla, X representa el número total de panelistas que prefieren una muestra y n representa el número total de panelistas que participan en la prueba. La tabla contiene tres probabilidades decimales para ciertas combinaciones de X y n. Para ahorrar espacio, el punto decimal ha sido omitido en la tabla, por lo que una cifra como 625 significa en realidad 0,625. (20), (41).

Por ejemplo, si 17 de cada 25 panelistas prefieren la muestra A, de acuerdo a la tabla N^o 4 (anexo N^o 7), la probabilidad ($X = 17, n = 25$) sería de 0,108. Debido a que usualmente es necesaria una probabilidad de 0,05 o menos, para que el resultado se pueda considerar significativo, la conclusión sería que la muestra A no fue significativamente más preferida que la muestra B. Si 19 de los 25 panelistas hubieran indicado su preferencia por la muestra A, la probabilidad habría sido 0,015, lo que habría demostrado una preferencia significativa por la muestra A.

La prueba de preferencia pareada no permite conocer el grado de preferencia de la muestra escogida, ni el grado de diferencia en lo que respecta a la preferencia entre las muestras. En anexo N^o 6 se encuentra un ejemplo de Prueba de preferencia pareada utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar la preferencia de frijoles en puré. (20), (41).

b) Pruebas de Aceptabilidad.

Las pruebas de aceptabilidad se emplean para determinar el grado de aceptación de un producto por parte de los consumidores. Para determinar la aceptabilidad de un producto se pueden usar escalas categorizadas, pruebas de ordenamiento y pruebas de comparación pareada. La aceptabilidad de un producto generalmente indica el uso real del producto (compra y consumo).

- Instrucciones Generales para Conducir una Prueba de Aceptabilidad por Ordenamiento.

Descripción de la tarea de los panelistas: En esta prueba se les pide a los panelistas que ordenen las muestras codificadas, en base a su aceptabilidad, desde la menos aceptada hasta la más aceptada. (20), (41).

Usualmente, no se permite la ubicación de dos muestras en la misma posición.

- Presentación de las muestras: Tres o más muestras son presentadas en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. Cada muestra recibe un número diferente. (20), (41).

Todas las muestras se presentan simultáneamente a cada panelista, en un orden balanceado o en un orden aleatorio. El saborear las muestras más de una vez sí es permitido en esta prueba. En anexo N^o 6 fig. N^o 7 se presenta un ejemplo de boleta de la prueba de ordenamiento para aceptabilidad.

- **Análisis de los datos:** Para el análisis de los datos, se suma el total de los valores de posición asignados a cada muestra; a continuación, se determinan las diferencias significativas entre muestras comparando los totales de los valores de posición de todos los posibles pares de muestras utilizando la prueba de Friedman. (Ver ejemplo N^o 2, anexo N^o 6). (20), (41).

c) Pruebas Hedónicas.

Las pruebas hedónicas están destinadas a medir cuánto agrada o desagrade un producto. Para estas pruebas se utilizan escalas categorizadas, que pueden tener diferente número de categorías y que comúnmente van desde "me gusta muchísimo", pasando por "no me gusta ni me disgusta", hasta "me disgusta muchísimo". Los panelistas indican el grado en que les agrada cada muestra, escogiendo la categoría apropiada. (20), (41).

- Instrucciones Generales para Realizar una Prueba Hedónica Utilizando una Escala de Nueve Puntos

Descripción de la tarea de los panelistas: A los panelistas se les pide evaluar muestras codificadas de varios productos, indicando cuánto les agrada cada muestra, en una escala de 9 puntos. Para ello los panelistas marcan una categoría en la escala, que va desde "me gusta muchísimo" hasta "me disgusta muchísimo". En esta escala es permitido asignar la misma categoría a más de una muestra. (20), (41).

- **Presentación de las muestras:** Las muestras se presentan en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Cada muestra deberá tener un código diferente. El orden de presentación de las muestras puede ser aleatorizado para cada panelista o de ser posible, balanceado. En un

orden de presentación balanceado, cada muestra se sirve en cada una de las posibles posiciones que puede ocupar (primera, segunda, tercera, etc.) un número igual de veces. Las muestras se pueden presentar todas al mismo tiempo o una a una; la presentación simultánea de las muestras es preferible ya que, es más fácil de administrar y le permite a los panelistas volver a evaluar las muestras si así lo desean y además, hacer comparaciones entre las muestras. En la Figura N^o 8, (anexo N^o 6) se encuentra un ejemplo de boleta para prueba hedónica. (20), (41).

- **Análisis de los datos:** Para el análisis de los datos, las categorías se convierten en puntajes numéricos del 1 al 9, donde 1 representa "disgusta muchísimo" y 9 representa "gusta muchísimo". Los puntajes numéricos para cada muestra, se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza (ANOVA), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras. En el análisis de varianza (ANOVA), la varianza total se divide en varianza asignada a diferentes fuentes específicas. La varianza de las medias entre muestras se compara con la varianza de dentro de la muestra (llamada también error experimental aleatorio).* Si las muestras no son diferentes, la varianza de las medias entre muestras será similar al error experimental. La varianza correspondiente a los panelistas o a otros efectos de agrupación en bloque, puede también compararse con el error experimental aleatorio.

La medida de la varianza total para la prueba es la suma total de los cuadrados $SC(T)$. La varianza medida entre las medias de las muestras es la suma de los cuadrados de los tratamientos o $SC(Tr)$.

La medida de la varianza entre las medias de panelistas es la suma de los cuadrados de los panelistas $SC(P)$. La suma de los cuadrados del error $SC(E)$, es la medida de la varianza debida al error experimental o aleatorio. Los cuadrados medios (CM) para el tratamiento, los panelistas y el error, se calculan dividiendo cada SC entre sus respectivos grados de libertad (gl). Luego

se calculan las razones entre $CM(Tr)$ y $CM(E)$ y entre $CM(P)$ y $CM(E)$. Estas razones se conocen como valores F o F estadística. Los valores F calculados se comparan con los valores F de las tablas (tablas N° 7 y 8, Anexo N° 7), para determinar si existen diferencias significativas entre las medias del tratamiento o de los panelistas. Si el valor F calculado es superior al valor F tabulado, para el mismo número de grados de libertad, habrá evidencia de que hay diferencias significativas. En las tablas N° 7 y 8 se dan los valores F para niveles de significancia de 0,01 y 0,05 respectivamente. Una vez detectada una diferencia significativa, pueden hacerse pruebas de comparación múltiple, para determinar cuáles son las medias del tratamiento o de la población que difieren entre sí.

*Dado que la varianza total dentro de las muestras es resultado de combinar las varianzas individuales de dentro de las muestras, un supuesto necesario es que las varianzas verdaderas dentro de las muestras son idénticas. Existen pruebas formales que pueden hacerse para comprobar la igualdad de las varianzas dentro de las muestras. (20), (41).

Para la realización del análisis de la varianza ANOVA, se procede a hacer los cálculos como se presentan en el ejemplo de una prueba hedónica del anexo N° 6.

5.1.1.1.2 Pruebas orientadas a los productos

Las pruebas orientadas a los productos, utilizadas comúnmente en los laboratorios de alimentos, incluyen las pruebas de análisis descriptivo. Estas pruebas siempre se llevan a cabo utilizando paneles de laboratorio entrenados.

a) Pruebas Descriptivas.

Las pruebas descriptivas son similares a las pruebas de evaluación de intensidad, excepto que los panelistas deben evaluar la intensidad de varias características de la muestra en vez de evaluar sólo una característica. En estas pruebas, los panelistas entrenados hacen una descripción sensorial total

de la muestra, incluyendo apariencia, olor, sabor, textura y sabor residual. En la figura N^o 9 (anexo N^o 6) se presenta un ejemplo de boleta prueba de reconocimiento de sabores básicos. (20), (41).

- Instrucciones Generales para Realizar una Prueba de Ordenamiento para Evaluar Intensidad

Descripción de la tarea de los panelistas: Se pide a los panelistas entrenados, que ordenen las muestras codificadas de acuerdo a la intensidad de varias características específicas, clasificando las muestras de mayor a menor intensidad. Normalmente no se permite que dos muestras sean clasificadas en la misma posición. (20), (41).

- Presentación de muestras: Tres o más muestras son presentadas en pequeños recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos. A cada muestra se le da un número de código diferente. Todas las muestras se entregan simultáneamente a cada panelista, en un orden balanceado o aleatorio. Se permite que los panelistas evalúen las muestras cuantas veces creen es necesario, para compararlas entre sí. (20), (41).

5.1.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Cuadro N°1 Determinación y metodología del análisis microbiológico.

DETERMINACION	METODOLOGIA
<i>Salmonella spp</i>	- APHA-AOAC "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Capítulo 37. - FDA-"Bacteriological Analytical Manual" Capítulo: 5
<i>Staphylococcus aureus</i>	- APHA-AOAC "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Capítulo 39. - FDA-"Bacteriological Analytical Manual" Capítulo: 12
Coliformes Totales, coliformes fecales y <i>Escherichia coli</i>	APHA "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Capítulo 34.
<i>Listeria monocytogenes</i>	- APHA-AOAC "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Capítulo 36. - FDA-"Bacteriological Analytical Manual" Capítulo: 10
Recuento total de bacterias sulfito reductoras	APHA "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". Capítulo 34.

5.1.2.1 Análisis microbiológico de *Salmonella spp.*

Cuadro N°2 Análisis microbiológico de *Salmonella spp.* (21).

<p>I. Equipos medios de cultivo y reactivos.</p> <p>Equipos y Materiales.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agitador de vidrio estéril. -Vaso de precipitado estéril -Vasos de precipitados plásticos autoclavables. -Baño de agua -Bolsas plásticas estériles -Cajas petri estériles de vidrio o plásticas -Erlenmeyer estéril -Frascos de boca ancha con capacidad de 400 ml y 500 ml. -Incubadora -Mechero bunsen, asa bacteriológica. -Pipetas estériles
--

Cuadro Nº 2 (Continuación).

<p>Medios de Cultivo y Reactivos</p> <p>Medios de cultivos: Preparar los medios de acuerdo a especificaciones del fabricante.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Caldo dulcitol rojo fenol -Caldo lisina descarboxilasa -Caldo MR-VP -Caldo Nutritivo -Caldo tetracionato (TT). -Caldo tríptico de soya -Caldo universal -Esteril de agar -Leche desgrasada -Medio de urea -Medio para movilidad, Indol y Ornitina (MIO) -Medio Rappaport-vassiliadis -Solución acuosa de papaína al 5% -Sulfato de sodio dodecilato. <p>Reactivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Indicador rojo de metilo (MR). -Reactivo de Kovacs -Reactivo de Voges-Proskauer.
<p>II. Procedimiento.</p> <p>Preparación de alimentos para el aislamiento de <i>Salmonella spp</i></p> <p>Los siguientes métodos se basan en el análisis de 25 g. de la unidad analítica a una relación de 1:9 muestra/caldo.</p> <p>Depende de lo extenso de la composición, añadir suficiente caldo para mantener esta relación 1:9 a menos que se indique de otra manera.</p> <p>Leche en polvo descremada.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Instantánea. Asépticamente pasar 0,5 g en un vaso de precipitado estéril de 250 ml. Usando un embudo estéril de vidrio o de papel, verter los 25 g lentamente sobre 225 ml de agua verde brillante contenidos en un erlenmeyer estéril de 500 ml. Preparar el agua verde brillante añadiendo 2 ml de solución tinte verde brillante al 1% por 1000 ml de agua destilada estéril. - Dejar en reposo por 60 ± 5 min. Incubar con la tapa aflojada del contenedor, por 24 ± 2 horas a 35°C. - No instantánea. Proceder como se describe en leche en polvo instantánea. <p>Leche entera en polvo. Proceder como se describe en leche en polvo instantánea.</p> <p>Caseína láctica. Asépticamente pesar 25 g. de muestra en un vaso de precipitados de 250 ml</p>

Cuadro № 2 (Continuación).

<p>estéril. Usando un embudo estéril de vidrio o papel, verter 25 g lentamente sobre una superficie de 225 ml de caldo universal preenriquecido contenido en un erlenmeyer de 500 ml. La unidad analítica (25 g) puede mezclarse. Dejar en reposo por 60 ± 5 min. Incubar con la tapa aflojada del contenedor sin mezclar o ajustar pH por 24 ± 2 horas a 35°C.</p>
<p>III. Aislamiento de <i>Salmonella ssp.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Tapar bien y mezclar la muestra inoculada. <ul style="list-style-type: none"> Goma Guar: Transferir 1 ml de la mezcla a 10 ml de caldo selenito cistina y 1 ml a 10 ml de caldo tetrionato. - Incubar el medio selectivo de enriquecimiento como sigue: <ul style="list-style-type: none"> - Alimentos con carga microbiana alta: Incubar el medio Rappaport-vasiliadis 24 ± 2 horas a $42 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (en baño de agua con controlador termostático). Incubar el caldo tetrionato 24 ± 2 horas a $43 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. - Alimentos con carga microbiana baja (excepto goma guar): Incubar el medio Rappaport-vasiliadis 24 ± 2 horas a $42 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (en baño de agua con controlador termostático). Incubar el caldo tetrionato 24 ± 2 horas a $35 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. - Mezclar y estriar con asa bacteriológica de 3 mm (10 ml) del caldo tetrionato, en agar bismuto sulfito (BS), agar xilosa lisina, desoxicolato (XDL) y agar entérico de Hektoen (HE). - Hacer lo mismo con el medio Rappaport-vasiliadis y con el caldo selenito cistina (goma guar). - Incubar las cajas 24 ± 2 horas a 35°C. - Examinar las cajas buscando colonias sospechosas de <i>Salmonella ssp.</i>
<p>Morfología de las colonias típicas de <i>salmonella ssp</i></p> <p>Picar 2 o más colonias de <i>Salmonella spp</i> de cada agar selectivo después de 24 ± 2 horas de incubación.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Agar entérico de hektoen (HE). Las colonias son azul verdosas o azul verdosas o azul sin centro negro. Muchos cultivos de <i>Salmonella sp</i> pueden producir colonias con centros negro lustroso o pueden aparecer como colonias completamente negras. - Agar sulfito de bismuto (BSA). Las colonias pueden ser cafés, grises o negras; algunas veces tienen brillo metálico. El medio que rodea las colonias usualmente es café al inicio, puede volverse negro al aumentar el tiempo de incubación produciendo el efecto de halo. Algunas cepas pueden producir colonias. - Agar xilosa, lisina y desoxicolato (XDL). Colonias rosadas con o sin centro negro. Muchas colonias pueden tener centros negros grandes y lustrosos o ser completamente negras.
<p>Morfología de colonias atípicas de <i>Salmonella sp</i></p> <p>En ausencia de colonias típicas o atípicas <i>Salmonella sp</i>, investigar colonias atípicas como sigue:</p>

Cuadro № 2 (Continuación).

- Agregar HE y XDL. Pocos de ***Salmonella ssp*** producen colonias amarillas con o sin centros negros y si no hay colonias típicas, picar 2 o más colonias atípicas.
- Agar BS. Algunas cepas pueden producir verdes con poco o sin obscurecimiento del medio que las rodeas. Si no hay colonias típicas o sospechosas a las 24 horas adicionales reincubar 24 ± 2 horas más. Si después de las 48 horas no se observan colonias típicas sospechosas. Picar dos colonias atípicas.
- Tocar ligeramente el centro de la colonia con la aguja de inoculación e inocular TSI en bisel, extendiendo sobre el bisel y punsionando el fondo. Sin flamear, inocular LIA en bisel punsionando el fondo 2 veces y luego extender sobre el bisel. La descarboxilación de la lisina es estrictamente anaeróbica, por lo que el LIA tiene que tener un fondo de unos 4 cm. Almacenar las cajas de agar selectivo a 5 a 8 °C.
- Incubar los tubos de TSI y LIA a 35 °C por 24 ± 2 horas. Típicamente ***Salmonella ssp*** produce bisel alcalino (rojo) y fondo ácido (amarillo) con o sin producción de H₂S (ennegreciendo del medio) en TSI. En LIA, ***Salmonella ssp*** produce reacción alcalina en el fondo (púrpura) del tubo. Considerar únicamente un color amarillo en el fondo del tubo como reacción ácida (negativa). No eliminar cultivos que producen decoloración en el fondo. La mayoría de cultivos de ***Salmonella ssp*** producen H₂S en LIA. Algunos cultivos que no son ***Salmonella ssp*** producen coloración rojo ladrillo el LIA en bisel.
- Todos los cultivos que dan reacción alcalina del fondo en LIA, indiferentemente de la reacción en TSI deben ser retenidos como aislado potencial de ***Salmonella ssp***.
Los cultivos que dan fondo ácido en LIA y un bisel alcalino y fondo ácido en TSI también se deben considerar aislados potenciales de ***Salmonella ssp*** Los cultivos que dan fondo ácido en LIA, fondo y bisel ácido en TSI pueden ser descartados como negativos.

5.1.2.2 Análisis microbiológico de ***Estafilococcus aureus***Cuadro N° 3 Análisis microbiológico de ***Estafilococcus aureus*** ⁽²¹⁾.**I. Equipos, medios de cultivo y reactivos.**

Equipo y Materiales.

- Asas bacteriológicas.
- Balanza.
- Cajas de petri estériles.
- Cuenta colonias Quebec.
- Cuchillos, cucharas y tenedores estériles.
- Incubador
- Lucuadora.

Cuadro № 3 (Continuación).

<ul style="list-style-type: none"> - pHmetro. - Pipetas graduadas esté riles. - Probetas estériles. - Tubos con rosca. - Stomacher. <p>Medios de cultivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Agar trípico de soya. - Agua bufferada de fosfato de Butterfield. - Medios Baird Parker.
<p>II. Preparación de la muestra:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Recolectar de cualquier cantidad de alimentos, 10 submuestras de 8 onzas (o envasar en pequeñas porciones) al azar. No fragmentar o cortar los envases más grandes de las porciones pequeñas para obtener una submuestra de 8 onzas. - Recolectar las porciones pequeñas como submuestra aun si es más grande de 8 onzas.
<p>III. Preparación de las dilución:</p> <p>Alimentos secos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Asépticamente pesar 10 g de muestra en un recipiente con rosca estéril. - Añadir 90 ml de diluyente (450 ml de dilución de buffer fosfato de Butterfield a un recipiente mezclador que contenga 50 g de la unidad analizada) y agitar vigorosamente 50 veces en arco de 30 cm para obtener la dilución 10^{-1}. - Dejar reposar de 3 a 5 minutos y agitar 5 veces en arco de 30 cm para resuspender solo antes de hacer la serie de diluciones e inoculaciones.
<p>Aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Transferir de cada dilución efectuada, 1 ml a 3 placas con medio Baird Paker, distribuyendo el ml de la forma siguiente: 0,4 ml, 0,3 ml y 0,3 ml. - Con el extendedor de vidrio estéril, extender el inóculo sobre la superficie del medio. - Dejar en reposo 10 minutos para que penetre el inóculo en el agar, en caso de no hacerlo, colocar durante una hora las placas; dentro de la incubadora. - Luego invertir las placas, e incubar 45 a 48 horas a 35⁰C. -Transcurrido el tiempo, examinar las placas, observando sus colonias, principalmente, aquellas que tengan 20 a 200 colonias. Las colonias típicas son circulares, lisas, convexas, húmedas, 2 a 3 mm de diámetro grises a negro azabache, con margen coloreado, rodeado por una zona opaca y frecuentemente con una zona externa clara; las colonias tienen consistencia cremosa a gomosa cuando se toca con la aguja de inoculación. - Contar y reportar el dato de las colonias. Si se observan varios tipos de colonias típicas de <i>Staphylococcus aureus</i> sobre las placas seleccionadas, contar el número de colonias de

Cuadro № 3 (Continuación).

cada tipo y reportar el conteo por separado. Reportar el dato como número de ***Staphylococcus aureus***/g de alimento analizado.

Nota: Varios alimentos y productos lácteos se pueden encontrar dañados por lipolíticos de apariencia similar, excepto por la ausencia de la zona opaca y la zona externa clara.

5.1.2.3 Análisis microbiológico de ***Escherichia coli***Cuadro Nº 4 Análisis microbiológico de ***Escherichia coli***. (21).**I. Equipo, medios de cultivo y reactivos.**

Equipo y materiales:

- Asas bacteriológicas.
- Balanza
- Cuenta colonias
- Erlenmeyer o frascos de dilución.
- Equipo de uso general para microbiología.
- Homogenizador.
- Incubador.
- Lámpara de luz ultravioleta.
- Pipetas graduadas estériles de 10 ml y 1ml.
- Tubos de ensayo todos con tubo invertido

Medios de cultivo y reactivos

- Agar bilis rojo
- Agar Citrato de Simmons
- Agar para contaje en caja (PCA)
- Agua para diluciones
- caldo EC
- Caldo lauril triptosa (LTB) o Caldo lauril sulfato (LST)
- Caldo de Koser
- Caldo Triptona
- Caldo Lactosa verde brillante con 2% de bilis (L-BGB o Brilla)
- Indicador rojo de metilo (MR)
- Medio MR-VP
- Reactivo de Kovacs
- Reactivos para la tinción de Gram
- Reactivos Voges Proskauer

II. Procedimiento:

NMP Prueba Presuntiva para coliformes, fecales y ***Escherichia coli***

Cuadro № 4 (Continuación).

- Pesar 50 g de muestra de alimentos y colocarlos en un homogenizador estéril a alta velocidad,
 - Agregar 450 ml de agua de dilución buferada de fosfatos de Butterfield y homogenizar por 2 min. Los alimentos congelados pueden ser refrigerados por ≤ 18 horas a 2 a 5 °C. Si la cantidad de muestra es < 50 g, pesar una porción equivalente a la mitad de la muestra y añadir la cantidad adecuada de diluyente para hacer la dilución 1:10, el volumen total en la licuadora deberá cubrir completamente las aspas.
 - Preparar diluciones decimales con diluyente estéril de fosfato de butterfeild. El número de diluciones a preparar depende de la densidad de coliformes esperados. Agitar las suspensiones 25 veces en un arco de 30 cm durante 7 segundos. No verter volumen $< 10\%$ del volumen total de la pipeta.
 - Transferir porciones de 1 ml a 3 tubos de LST por cada dilución consecutiva. Sostener la pipeta en un ángulo tal que descargue en la pared del tubo.
 - Dejar drenar la pipeta durante 2 a 3 segundos.
 - No deben transcurrir más de 15 minutos desde el momento en que la muestra se homogenizó hasta que todas las diluciones estén inoculadas en los medios adecuados.
- Nota: Utilizar el procedimiento de NMP con 5 tubos para agua marina y productos marinos.
- Incubar los tubos 48 ± 2 horas a 35 °C. Examinar los tubos a las 24 ± 2 horas para ver formación de gas, o efervescencia cuando los tubos se agitan.
 - Reincubar los tubos negativos durante 24 horas adicionales. Examinar para observar producción de gas. Realizar las pruebas confirmativas sobre todos los tubos presuntamente (gas) positivos.

NMP Prueba confirmativa para coliformes

De cada tubo de lauril triptosa con producción de gas, transferir una asada de suspensión a un tubo de caldo lactosa bilis verde brillante (BGLB), evitando la inoculación de película si hubiese presente. Incubar los tubos a 35 °C y examinar la producción de gas a 48 ± 2 horas. Calcular el número más probable.

NMP Prueba confirmativa para Coliformes fecales y E. coli.

- Seleccionar todos los tubos positivos de la inoculación en caldo lauril triptosa.
- Agitar cada tubo positivo con un asa tubos con caldo EC.
- Incubar los tubos con caldo EC en un baño de agua a 45.5 ± 0.2 °C durante 24 horas ± 2 horas y examinar la producción de gas. Si es negativa, reincubar y examinar de nuevo a las 48 ± 2 horas. Utilizar los resultados de esta prueba para calcular el NMP para coliformes fecales.

Nota: El análisis para coliformes fecales son hechos a 45.5 ± 0.2 °C, para todos los alimentos excepto para análisis de agua y productos marinos en este caso se utiliza de 44.5 ± 0.2 °C.

Cuadro № 4 (Continuación).

<p>NMP Prueba confirmativa para <i>Escherichia coli</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - De cada tubo positivo en EC, estriar para aislamiento una asada en agar L-EMB, e incubar a 35 °C durante 18 a 24 horas - Examinar las cajas. Las colonias de <i>Escherichia coli</i> usualmente son planas con centro oscuro, con o sin brillo metálico. -Transferir 5 colonias típicas seleccionadas de cada placa L-EMB a agar inclinado PCA con bisel, incubar por 18 a 24 horas a 35 °C. - Utilizar este crecimiento para posteriores. <p>Nota: La identificación de 1 de las 5 colonias como <i>E. coli</i> es suficiente para considerar el tubo EC como positivo, sin embargo no necesitan ser probados los 5 aislados. (Ver anexo N^o 9).</p>
--

5.1.2.4 Análisis microbiológico de *Listeria monocytogenes*.

Cuadro N^o 5 Análisis microbiológico de *Listeria monocytogenes*. (21).

<p>I. Equipo, medio de cultivo y reactivos.</p> <p>Material y equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Asas circulares. -Asas en punta. -Balanza. -Bolsas estériles de Stomacher -Cajas de petri -Frascos Erlenmeyer de 500 ml -Incubadora -Pipetas de 25, 10, 1 ml -Refrigeradora -Tubos 16 x 125 mm u otros tamaños apropiados con tapón de rosca. <p>Medios de cultivo y reactivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agar Palcam y agar Oxford -Caldo de enriquecimiento de <i>Listeria</i> (EB) -Caldo rojo fenol base
<p>II. Procedimiento:</p> <p>Pretratamiento de la muestra.</p> <p>A. Enriquecimiento:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. En forma aséptica se toma una muestra de 25 gramos asegurando que represente la superficie exterior e interior del alimento. 2. Agregar 225 ml de caldo de enriquecimiento de <i>Listeria</i> (EB) en bolsas estériles y se coloca

Cuadro № 5 (Continuación).

<p>en el stomacher por 30 segundos.</p> <p>3. Incubar por 24 a 48 horas a 35°C.</p>
<p>B. Aislamiento:</p> <p>1. Después de 24 ó 48 horas de incubación, estriar el cultivo (EB) en forma duplicada en placas de agar Oxford (OXA) y en agar Palcam.</p> <p>2. Incubar las placas Oxford y Palcam a más o menos 35°C por 24 a 48 horas.</p> <p>3. Después de incubadas las placas de Oxford y Palcam por 24 horas, se refrigeran las placas a 4°C por 24 a 48 horas para su óptimo crecimiento.</p> <p>4. En agar Palcam y agar Oxford las colonias son negras grisáceos omblicadas.</p> <p>5. Transferir 5 o más colonias típicas del agar Palcam en forma duplicada en placas de TSA y EY, e incubar las placas de TSA + EY a 35°C por 24-48 horas.</p>

5.1.2.5 Análisis microbiológico de *Clostridium perfringes*.

Cuadro N° 6 Análisis microbiológico de *Clostridium perfringes*. (21).

<p>Equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pipetas de 0,1 ml, 1ml y 10ml -Mostrador de colonias: Quebec, o equivalente -Mezclador de alta velocidad -Frascos para anaerobios BBL equipado con frasco gas-pack. -Congelador de ultra baja temperatura. -Transporte de contenedores.
<p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Dilución de agua peptonada -Reactivo para prueba de nitritos. 1) Reactivo a: Disolver 8g de ácido sulfanílico en un litro de HOAc 5 N (2+5). 2) Reactivo b: Disolver 5g de α-naftol en una cucharada de HOAc' - Solución salina buffer de glicerol: Disolver 4,2g de K₂HPO₄, y 100 ml de glicerol. Mezclar hasta disolver y ajustar a pH 7,2. Llevar a autoclave 15 min. A 121°.
<p>Medios de cultivo:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agar triptosa-sulfito-cicloserina (TSC). -Solución D-ciclocerina. -Emulsión de yema de huevo. -Medio buffer motilidad-nitrato. -Medio lactosa-gelatina. -Caldo de esporulación.

Cuadro № 6 (Continuación).

-Medio polipeptona-extracto de levadura (PY).
-Medio de tioglicolato líquido.
Preparación de la muestra: Para análisis usando una técnica aséptica. Pesar 50 g de muestra de alimentos en un vaso estéril de levadura. Agregar 450 ml de dilución de peptona y homogenizar 2 minutos a baja velocidad (13,000 rpm). Usar esta dilución 1:10 para preparar diluciones desde 10^{-2} a 10^{-6} , transfiriendo 10 ml de dilución 1:10 a 90 ml de la dilución blanco, mezclar bien con agitación suave y continuar hasta alcanzar dilución 10^{-6} .
Técnica del recuento en placa: Verter aproximadamente 5ml de agar TSC sin yema de huevo en cada uno de 10 placas de petri de 100 x 15 mm y extender uniformemente mediante una rápida rotación de la placa. Cuando el agar se ha solidificado, etiquetar las placas y pipetear asépticamente 1 ml de cada dilución de la mezcla homogenizada por duplicado en la superficie del agar en el centro de la placa. Verter 15 ml de agar TSC sin yema de huevo a la placa y mezclar bien con el inóculo girando con suavidad la placa. Alternativamente, con espaciador de varilla de vidrio estéril extender 0,1 ml de de la dilución sobre las placas de agar TSC, previamente esparcidos conteniendo emulsión de yema de huevo. Las placas absorben el inóculo de 5 a 10 minutos sobre la placa con 10 ml de agar TSC sin yema de huevo. (Se prefiere el agar TSC conteniendo yema de huevo para alimentos que contengan otros sulfito reductores <i>Clostridium spp.</i>). Cuando el agar se ha solidificado, colocar las placas en posición vertical en recipiente anaeróbico. Producir condiciones anaeróbicas, e incubar el recipiente 20 horas a 35 °C en agar TSC sin yema de huevo e incubar de 24 horas a 35 °C en agar TSC con yema de huevo. Después de la incubación retirar las placas del recipiente y observar macroscópicamente para el crecimiento y la producción de colonias negras. Seleccionar las placas que muestran un estimado de 20 a 200 colonias negras. Usando contador de colonias Quebec con un trozo de papel de seda blanco sobre el área de conteo. Contar las colonias negras y calcular el número de <i>Clostridium spp/ g</i> alimentos. Las colonias de <i>Clostridium perfringes</i> en un medio que contenga yema de huevo son negras y por lo general tiene blanco alrededor de 2-4 mm en la zona de precipitado, debido a la actividad de lecitinasa. Sin embargo dado que algunas cepas son débiles o negativas, para lecitinasa, contar algunas colonias negras y entonces, se sospecha la presencia de <i>Clostridium perfringes</i> .

5.1.3 DESCRIPCIÓN Y FUNDAMENTOS DE MÉTODOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS.

Cuadro N^o 7 Métodos de análisis fisicoquímicos.

ALIMENTO	DETERMINACIÓN	MÉTODO	PRINCIPIO
Leche en polvo	Grasa	AOAC 932.06	Gravimetría (Rose Gotlieb)
Queso madurado y queso no madurado	Grasa	AOAC 933.05	Gravimetría (Rchmid-Bondzynski- Ratzlaff)
	Extracto seco	AOAC 926.08	Gravimetría con secado a 102 °C. Horno al vacío a 100 °C
	Contenido de Humedad	AOAC 926.08	Gravimetría
Grasas y aceites	Índice de acidez	AOCS Ca-5a-40	Titulación
	Índice de peróxidos	AOCS Cd-8-53	Titulación
Néctares de frutas	Determinación de pH	AOAC 981.12	Potenciometría
Miel de abejas	Azúcares reductores	AOAC 920.184	Gravimetría
	Acidez libre	AOAC 981.12	Titulación
	Hidroximetilfurfural	AOAC 980.23	Espectrofotometría UV
	Contenido de humedad	AOAC 969.38	Refractometría
Harina de maíz nixtamalizado	Contenido de humedad	AACC 44-15a	Gravimetría

5.1.3.1 Determinación de grasa en leche en polvo ⁽³²⁾.

Cuadro N^o 8 Determinación de grasa en leche en polvo por el método de Rose Gotlieb.

<p>Fundamento: La grasa de un peso conocido de leche es extraída con una mezcla de éteres. El extracto etéreo se decanta en un plato de pesada y seco, posteriormente se evapora el éter. La grasa extraída se seca hasta peso constante. Los resultados se expresan como porcentaje de grasa en peso.</p>
<p>Material y equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Frasco: Estilo Mojonnier con un volumen de 21 a 23 ml inferior al bulbo y superior al fondo del cuello del frasco. - Platos de pesada: Metal 8,5 - 9,5 cm de diámetro y 4,5 - 5,5 cm de altura; o vaso de precipitado de 250 ml. - Calibración de peso: Clase S, la calibración estándar de pesos es para verificar la exactitud de la balanza dentro del rango de pesos que se utiliza para pesar frascos vacíos, frascos con muestra, platos de pesada vacíos y platos con grasa. - Balanza analítica: Para leer con precisión 0,0001 g. Exactamente verificando que se encuentre dentro del rango de 0,0002 g. Revisar periódicamente siempre, cuando la balanza se mueva o limpie. Mantener el registro de las verificaciones de calibración de la balanza. - Desecador: Habitación a Temperatura ambiente. Para enfriar los platos de pesada antes del

Cuadro No 8 (Continuación).

<p>secado preliminar y después del secado final. Usar un desecador ordinario (malla tamaño 6-16) que contenga un mínimo de partículas finas y cambios de color cuando absorbe humedad.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tenazas: Para el manejo de los platos de pesada. - Baño de vapor caliente: Hot plate (placa caliente) u otro aparato de calefacción. Por evaporación con éter a $\leq 100^{\circ}$. Evaporar fuera de la cubierta. - Corchos: Para mejor calidad tapones de corcho naturales (tamaño 5) para frascos. Remojar los corchos varias horas para mejorar el sellado. - Estufa con horno de aire forzado. Horno al vacío capaz de mantener una temperatura de vacío a $70-75^{\circ}\text{C}$ a 50 a 58 cm (20 pulgadas) u horno de aire forzado capaz de mantener una temperatura de $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$. - Baño de agua para temperar las muestras de leche antes de pesar: Con termómetro y un dispositivo para mantener la temperatura de la leche a $38 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
<p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Éter etílico: Grado ACS, libre de peróxido sin residuos en la evaporación. -Éter de petróleo: Grado ACS, rango de ebullición $30-60^{\circ}\text{C}$, sin residuos de evaporación. -Hidróxido de amonio: Grado ACS, concentrado, gravedad específica 0,9 -Alcohol etílico al 95%: Sin residuos en la evaporación. -Agua destilada: Libre de aceite y de residuos minerales. -Indicador de fenolftaleína 0,5% (p/v): En el alcohol etílico.
<p>Preparación de la muestra: Evitar la absorción de humedad durante la preparación de la muestra. Para secar, mezclar la muestra y transferirla en un contenedor hermético con capacidad dos veces el volumen de la muestra. Mezclar cuidadosamente por agitación e invertir rápidamente. Cuando se prepara la muestra, operar tan rápido como sea posible. Si se presentan trozos de partículas, tamizar la muestra en un tamiz No.20, friccionando el material y golpear vigorosamente si es necesario.</p>
<p>Preparación previa de la solución de la muestra: Pesar rápido aproximadamente 1g de muestra bien mezclada y transferirla a un frasco o tubo de extracción. Agregar 10 ml. de agua y agitar hasta mezcla homogénea, calentar si es necesario. Agregar de 1 a 1,25 ml de NH_4OH y calentar en baño de agua durante 15 minutos de 60 a 70°C, agitar ocasionalmente. Enfriar y proceder a la determinación.</p>
<p>Determinación.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Agregar 10 ml de alcohol a la muestra y mezclar. Extraer con éter y éter de petróleo y proceder a la extracción de grasa (método AOAC 989.05). 2- Extracción de grasa: Para la muestra agregar 1,5 ml de NH_4OH en un frasco y mezclar vigorosamente. El NH_4OH neutraliza cualquier ácido presente y disuelve la caseína. Agregar

Cuadro № 8 (Continuación).

<p>3 gotas del indicador de fenolftaleína que ayuda a agudizar el aspecto visual de la interface entre el éter y la capa acuosa durante la extracción.</p> <p>3- Agregar 10 ml de alcohol etílico, tapar con tapón de corcho y agitar el frasco 15 segundos. Para la primera extracción, agregar 25 ml de éter de petróleo, tapar con el corcho, y agitar muy vigorosamente por un minuto, liberando la presión formada aflojando el tapón cuando sea necesario.</p> <p>4- Agregar 25 ml de éter de petróleo, tapar con el corcho, y repetir vigorosamente la agitación por un minuto. Centrifugar el frasco a 600 r.p.m por ≥ 30 segundos hasta obtener una clara separación de la fase acuosa (rosa brillante) y la fase etérea. Decantar la solución etérea en platos de pesada preparados adecuadamente.</p> <p>Cuando la solución de éter se decanta en los platos, tener cuidado de no verter por encima de cualquier solido en suspensión o verter parte de la fase acuosa en los platos de pesada, mientras se realiza la segunda extracción.</p> <p>5- Para la segunda extracción, agregar 4 ml de alcohol etílico, tapar con corcho, y agitar vigorosamente 15 segundos. A continuación, añadir 15 ml de éter de etílico. Sustituir el corcho y repetir la agitación vigorosamente por un minuto. Centrifugar el frasco a 600 r.p.m. por ≥ 30 segundos hasta obtener una clara separación de la fase acuosa (rosa brillante) y fase etérea. Si la interface está por debajo del cuello del frasco, agregar agua lentamente para llevar a nivel de la mitad de la altura del frasco en el interior de la superficie del frasco hasta la primera alteración mínima de separación. Decantar la solución etérea para la tercera extracción en el mismo plato de pesada utilizado en la primera extracción.</p> <p>6- Para la tercera extracción, omitir la adición de alcohol etílico y repetir el procedimiento de la segunda extracción. Completar la evaporación de los solventes en una hot plate (placa caliente) cubierto a $\leq 100^{\circ}\text{C}$ (evitar salpicaduras). Secar los extractos de grasa en los platos de pesada hasta peso constante en estufa de aire forzado a $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (≥ 30 min) o en estufa de horno de vacío a 70 a 75°C a > 50.8 cm (20 pulgadas) durante ≥ 7 min. Retirar los platos de pesada y colocarlos en el desecador para enfriar a temperatura ambiente. Registrar el peso de cada plato de pesada, más la grasa.</p> <p>7- Llevar a cabo un par de blancos con reactivos cada día que se lleve a cabo la prueba. Para ejecutar el blanco, reemplazar la muestra de leche con 10 ml de agua y ejecutar como en la prueba normal. Registrar el peso de cualquier de cualquier residuo seco colectado y utilizar el dato en los cálculos. Los blancos con reactivos deben tener $< 0,00020$ g de residuos. Si el blanco con reactivos para el conjunto de muestras son negativos usar el número negativo para los cálculos. (Nota: Para restar el número negativo [peso promedio de los residuos del blanco] en la siguiente ecuación, agregar a [(peso del plato + grasa)- peso del plato] un valor</p>
--

Cuadro N° 8 (Continuación).

<p>negativo del blanco indica que los platos no están completamente secos al empezar la determinación o que la calibración de la balanza varíe entre el peso de los platos vacíos y los platos con grasa. Los resultados negativos de los blancos deben ser identificados y corregidos.</p> <p>Con leche entera y polvo de crema hacer una tercera extracción, usando 15 ml de cada solvente, después agregando, si es necesario, suficiente agua para llevar al volumen original la capa acuosa.</p> <p>La diferencia entre los duplicados de las determinaciones obtenidas simultáneamente por el mismo analista debe ser $\leq 0,2$ g de grasa/100g de producto.</p>
<p>Preparación de los platos de pesada: Limpiar un número de platos de pesada y presecar en las mismas condiciones que se utilizarán para el secado final después de la extracción de grasa. Asegurarse que todas las superficies donde se colocaran los platos ya sea placa caliente (hot plate) y/o desecador, deben estar limpios y libres de partículas. Al finalizar el secado en horno colocar las bandejas del desecador en una habitación a temperatura ambiente y enfriar a temperatura ambiente de la habitación. El mismo día extracción de grasa; pesar los platos con 0,1 mg de precisión y registrar los pesos. Verificar que la balanza esté en cero, antes de pesar cada plato. Proteger los platos de pesada de la contaminación de materias extrañas.</p>
<p>Cálculos: Grasa, % = $100 \times \frac{\{[(\text{peso del plato} + \text{grasa}) - (\text{peso del plato})] - (\text{peso promedio de residuos del blanco})\}}{\text{peso de la leche}}$.</p>

5.1.3.2 Determinación de grasa en queso. ⁽³²⁾.

Cuadro N° 9 Determinación de grasa en queso

<p>Fundamento: La grasa de un peso conocido de queso es extraída con una mezcla de éteres. El extracto etéreo se decanta en un plato de pesada y seco, posteriormente se evapora el éter. La grasa extraída se seca hasta peso constante. Los resultados se expresan como porcentaje de grasa en peso.</p>
<p>Material y equipo:</p> <p>Es el mismo que se utiliza en el método AOAC 989,05 para la determinación de leche, mediante el método Mojonnier modificado.</p> <p>Material para la preparación de la muestra:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Cuchillo. -Licuadora.
<p>Reactivos:</p> <p>Son los mismos reactivos utilizados en el método AOAC 989,05 para la determinación de leche mediante el método Mojonnier modificado.</p>
<p>Preparación de la muestra (método AOAC 955.30): Cortar la muestra en pequeños trozos y</p>

Cuadro N° 9 (Continuación).

<p>pasarla 3 veces a través de un molino para alimentos (método preferible), cortar o triturar muy finamente y mezclar bien.</p> <p>Cuando se trate de quesos muy blandos colocar de 300-600 g de muestra a $<15^{\circ}\text{C}$ en una licuadora de alta velocidad y mezclar en un tiempo mínimo (2-5 minutos), necesarios para obtener una mezcla homogénea. La temperatura final debe ser $\leq 25^{\circ}\text{C}$. Esto puede requerir que la licuadora se detenga frecuentemente después de los cambios de velocidad y de las cuchillas hasta comenzar la acción de nuevo (usar un transformador variable en línea para permitir velocidad lenta en los primeros cambios de velocidad cuando esta se incrementa).</p>
<p>Determinación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Pesar aproximadamente 1 mg de la muestra preparada en un vaso de precipitados pequeño, agregar 9 ml de agua y si se requiere, agregar 1 ml de NH_4OH. Mezclar hasta que la muestra este suave. Luego calentar la muestra a fuego lento hasta que la caseína este blanda. Si se utilizó NH_4OH neutralizar con HCl, usando papel litmus como indicador. 2- Agregar 10 ml de HCl y algunas perlas de vidrio u otro material inerte, previamente preparado con HCl para evitar fricciones, cubrir con el vidrio de reloj, y dejar hervir suavemente durante 5 minutos o llevarlo en baño de agua hirviendo durante 20 minutos. Enfriar la solución y transferir al tubo de extracción de grasa; enjuagar el vaso de precipitados sucesivamente con 10 ml de alcohol, 25 ml de éter, y 25 ml de éter de petróleo (rango de ebullición $30-60^{\circ}\text{C}$). 3- Transferir los enjuagues al frasco; y mezclar vigorosamente después de agregar cada reactivo y llevar a cabo el procedimiento del método AOAC 989.05 comenzando por la parte que dice "centrifugar el frasco..." Para la segunda extracción agregar 5 ml de alcohol etílico. El contenido de grasa varía según la clase de queso que se analiza. La diferencia entre las determinaciones obtenidas por duplicado simultáneamente por el mismo analista debe ser $\leq 0,2$ g grasa/100g de producto. <p>Nota: Los puntos suspensivos indican que se debe continuar con los pasos de la determinación de grasa en leche donde dice "centrifugar el frasco y proseguir a partir de ese paso.</p> <p>Cálculos: Grasa, % = $100 \times \frac{\{[(\text{peso del plato} + \text{grasa}) - (\text{peso del plato})] - (\text{peso promedio de residuos del blanco})\}}{\text{peso de la muestra de queso}}$.</p>

5.1.3.3 Determinación de humedad en queso madurado y no madurado. ⁽³²⁾

Cuadro N°10 Determinación de humedad en queso madurado y no madurado.

<p>Fundamento: La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación de agua.</p>
<p>Material y equipo:</p> <p>-Porta-muestra o plato de pesada con fondo de metal.</p>

Cuadro № 10 (Continuación).

-Estufa con horno de presión controlada.
-Balanza analítica.
Reactivos: - H ₂ SO ₄ .
Determinación: 1- Pesar 2 a 3 g. de la muestra preparada (método AOAC 955.30) en un porta- muestra plano con fondo de metal ≥ 5 cm de diámetro y provisto con una cubierta ajustada y antideslizante. En caso de quesos de pasta blanda y quesos procesados con alto contenido de humedad, pesar de 1 a 2 g. y secar parcialmente en baño de vapor. 2- Cubrir holgadamente el porta-muestra sobre la plataforma de metal (dejar el porta-muestra en reposo directamente sobre la plataforma) en la estufa de horno de vacío mantener a 100°C. 3- Secar hasta peso constante (aproximadamente 4 horas) bajo una presión de ≤100 mmHg (13.3 Kpa). Durante el secado permitir en el horno una suave corriente de aire (aproximadamente 2 burbujas/seg.) secar pasando por H ₂ SO ₄ . 3- Detener la bomba de vacío y cuidadosamente dejar entrar aire a la estufa. Presionar la cubierta, ajustándola bien al porta-muestra. Retirar el plato o porta-muestra de la estufa, enfriar y pesar. Expresar la pérdida de peso como humedad. Nota: Si se abate la presión del sistema, se abate la presión de vapor y necesariamente se reduce su punto de ebullición. Si se sustrae aire de una estufa por medio de vacío se incrementa la velocidad del secado. Es necesario que la estufa tenga una salida de aire constante y que la presión no exceda los 100 mm Hg. y 70°C, de manera que la muestra no se descomponga y que no se evaporen los compuestos volátiles de la muestra, cuya presión de vapor también ha sido modificada.

5.1.3.4 Determinación del índice de acidez en grasas y aceites: Margarina.

Cuadro N°11 Determinación del índice de acidez de grasas y aceites: Margarina. (33).

Fundamento: Titulación en medio alcohólico de los ácidos grasos libres de una sustancia grasa, por medio de solución valorada de hidróxido de sodio o potasio, en presencia de un indicador apropiado.
Material: -Erlenmeyer de 250 ml con tapón esmerilado. -Bureta de 25 ml ó 50 ml. -Balanza analítica. -Estufa
Reactivos: -Solución de hidróxido de sodio 0,1 N

Cuadro № 11 (Continuación).

<p>-Mezcla etanol-éter etílico (1:1) neutralizada exactamente con KOH 0,1 N.</p> <p>-Solución indicadora de fenolftaleína al 1% en etanol 95% v/v.</p>
<p>Preparación de la muestra: Grasas y aceites: Colocar la muestra en estufa a 50 °C. Cuando la muestra alcance esta temperatura, agitar enérgicamente. Decantar y filtrar sobre papel en la estufa mantenida a 50 °C. El filtrado debe ser limpio.</p> <p>Margarina:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Derretir la muestra por calentamiento con agitación constante, o por calentamiento en un horno a 60° a 70° C. Evitar el calentamiento excesivo y prolongado, especialmente cuando el aceite se expone a temperaturas superiores a 40°C. 2- Cuando se derrita por completo, retirar la muestra del plato caliente (hot plate) o del horno y dejar reposar en un lugar cálido hasta que la porción acuosa y la mayoría de los sólidos de la leche se han depositado en el fondo. 3- Decantar el aceite en un vaso limpio y filtrar a través de un papel Whatman No.4 (o su equivalente) a otro vaso de precipitado limpio. No recalentar la filtración, a menos que sea necesario. La muestra debe ser clara y brillante. Proceder a la determinación.
<p>Determinación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Pesar 50 g de muestra preparada, si se espera un contenido en ácidos libres no superior a un 0,2 % (25 g. si el contenido en ácidos grasos libres es de 0,2 a 1%) en un erlenmeyer de 250 ml. Agregar 50-100 ml de etanol neutro (mezcla de etanol-éter) en caliente. 2- Titular con NaOH 0.1 N, agitando continuamente, hasta un color de fenolftaleína, débilmente rosa que persista durante 30 segundos.
<p>Cálculos: Índice de acidez (mg de NaOH)= $\frac{V \times N \times M}{P}$</p> <p>Donde: :</p> <p>V= ml de NaOH gastados en la titulación.</p> <p>M=Peso molecular del ácido con que se expresa la acidez.</p> <p>N=Normalidad exacta de la solución de NaOH utilizada.</p> <p>P=Peso en g. de la muestra.</p> <p>Índice de acidez expresa el peso en mg de NaOH necesarios para neutralizar un gramo de materia grasa.</p> <p>Normalmente se expresa referida a tanto por ciento de ácido oleico. Solo en casos particulares, según la naturaleza de la sustancia grasa se expresará referido a ácido palmítico, láurico u otros.</p>

5.1.3.5 Determinación del índice de peróxidos de grasas y aceites. ⁽³³⁾.

Cuadro N°12 Determinación del índice de peróxidos de grasas y aceites.

<p>Fundamento: Es una determinación volumétrica de la cantidad de grupos peróxidos e hidroperóxidos. La cuantificación se basa en la reacción del yoduro de potasio con los peróxidos para liberar yodo, el cual es titulado con tiosulfato de sodio, empleando almidón como indicador. Este método determina todas las sustancias en términos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de muestra, que oxidan al yoduro de potasio (KI), bajo condiciones de prueba.</p>
<p>Material:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pipeta de 0,5 ml, o cualquier otro material volumétrico adecuado con capacidad de contener 0,5 ml de la solución de yoduro de potasio. - Erlenmeyer de 250 ml con tapones de vidrio. - Contenedores pequeños con capacidad de 50 ml o 100 ml de color ámbar o rojo. - Balanza con capacidad de 500 g y 0,01 g de sensibilidad.
<p>Reactivos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Solución de ácido acético-cloroformo (3:2 v/v): Se prepara mezclando 3 volúmenes de ácido acético glacial grado reactivo con 2 volúmenes de cloroformo grado reactivo. (Ver nota 1). 2- Solución saturada de yoduro de potasio (KI): Se prepara recientemente cada día que se lleva a cabo el análisis, mediante una disolución en exceso de KI, en agua destilada recién hervida (aproximadamente 10 g de KI en 6 ml de agua). Mantener la solución saturada durante su uso, según lo indica la presencia de cristales de KI no disueltos. Almacenar en la oscuridad cuando no esté en uso. Probar la solución saturada de KI adicionando 2 gotas de solución de almidón a 0,5 ml de solución de almidón en 30 ml de solución de ácido acético-cloroformo. Si se forma un color azul requiere más de 1 gota de la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N, descartar la solución de KI y preparar 1 nueva solución. 3- Solución de tiosulfato de sodio 0,01 N: Correctamente estandarizada. Esta solución se puede preparar pipeteando correctamente 100 ml de la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N y transferir a un balón volumétrico de 1000 ml y diluir a volumen con agua destilada recién hervida. 4- Solución indicadora de almidón: Prueba de sensibilidad. Preparar haciendo una pasta con 1 g de almidón (ver Nota 2) y una pequeña cantidad de agua fría destilada. Agregar agitando a 100 ml de agua hirviendo y hervir durante unos pocos segundos. Inmediatamente retirar del fuego y enfriar. Se puede agregar ácido salicílico (1.25 g/L) para preservar el indicador. Si se prolonga el almacenamiento, la solución debe guardarse en refrigerador a una temperatura de 4° a 10° C. El indicador debe estar recientemente preparado para el punto final de la titulación el cual se acerca cuando el color azul se va debilitando. Si se almacena en refrigeración, la solución de almidón debe estar estable alrededor de 2 a 3 semanas.

Cuadro № 12 (Continuación).

<p>Notas:</p> <p>1) En este método el isooctano ha sido propuesto como un sustituto del cloroformo. El método que utiliza isooctano fue aprobado por la AOCS mediante el Comité de Métodos Uniformes en 1990 como Método Oficial AOCS Cd-8b-90 y el primero apareció en la segunda impresión de la 4ª edición de los Métodos oficiales y Prácticas Recomendadas de la Sociedad Americana de Químicos de Aceite. El método del isooctano se prefiere debido a la eliminación del cloroformo.</p> <p>Esta es la intención de la AOCS Comité de Métodos Uniformes para eliminar el ácido acético-cloroformo de la versión del método (AOCS Método Oficial Cd-8-53) de los Métodos Oficiales dentro de los próximos años.</p> <p>2) "Almidón de papa para yodometría". Se recomienda porque este almidón produce un color azul profundo en presencia del ión yoduro. El almidón soluble no se recomienda debido a que el color azul consistente y profundo puede no desarrollarse cuando algunos almidones solubles interactúan con el ión yoduro. Los siguientes almidones son los adecuados: Almidón de papa soluble para yodometría, Fisher 5S16:100; Almidón soluble de papa, Sigma S-2630.</p> <p>3) La prueba debe llevarse a cabo con luz natural difusa o con luz artificial a salvo de luz directa. Un reporte sobre un método colorimétrico para la medición de índice de peróxidos indica que la reacción de yoduro-peróxido es completa al final de un minuto y que la liberación de yodo se ve afectada por la luz.</p> <p>4) Si la titulación es inferior a 0,5 ml de tiosulfato de sodio 0,1, repetir la determinación con tiosulfato 0,01 N.</p>
<p>Determinación:</p> <p>1- Pesar una muestra de 5 ± 0.05 g. en un erlenmeyer de 250 ml con tapón esmerilado. Agregar 30 ml. del disolvente cloroformo-ácido acético (3:2), y agitar para disolver la muestra. Agregar 0,5 ml de la disolución saturada de KI usando pipeta volumétrica adecuada Dejar la solución en reposo agitando ocasionalmente y agregar inmediatamente 30 ml de agua destilada. (Numeral 1 con respecto a notas).</p> <p>2- Titular con $S_2O_3Na_2$ 0,1 N agregando gradualmente y con agitación constante. Continuar la titulación hasta la casi total desaparición del color amarillo del iodo para liberar todo el iodo de la capa del solvente. Agregar la solución de tiosulfato gota a gota hasta que desaparezca el color azul. (Numeral 4 con respecto a notas).</p> <p>3- Agregar aproximadamente 2 ml de la solución indicadora de almidón al 1%. Continuar la titulación agitando constantemente, especialmente cerca del punto final. Agregar la solución de $S_2O_3Na_2$ 0,1 N gota a gota hasta desaparecer el color azul.</p>

Cuadro № 12 (Continuación).

4- Llevar a cabo la determinación de un blanco, solo con reactivos. El volumen de la titulación del blanco no debe exceder de 1 ml de la solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.
<p>Cálculos: Índice de peróxidos (miliequivalentes de peróxido/kg)= $\frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{g. muestra}}$</p> <p>Donde: S= ml del titulante gastados en la valoración de la muestra B= ml del titulante gastados en la valoración del blanco. N= Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.</p> <p>Este método es aplicable a todas las grasas y aceites normales incluidos la margarina. Este método es altamente empírico, y cualquier variación en el procedimiento en la prueba puede dar lugar a variación de los resultados.</p>

5.1.3.6 Determinación de pH en Néctares de frutas. ⁽³²⁾.

Cuadro N°13 Determinación de pH en Néctares de frutas

<p>Fundamento: El pH es la medición de la actividad de los iones hidrógeno. Se mide el pH mediante la determinación de potencial eléctrico entre el vidrio y electrodos de referencia, utilizando equipos comerciales estandarizados contra buffers de pH con estándares primarios.</p>
<p>Material:</p> <p>-pHmetro: Instrumento comercial con escala graduada en $\leq 0,1$ unidades de pH y reproducibilidad de $\leq 0,05$ unidades. Algunos instrumentos permiten la expansión de cualquier unidad de rango de unidades de pH para cubrir toda la escala y tener exactamente cerca de $\pm 0,01$ unidades de pH y reproducibilidad de $\pm 0,005$ unidades de pH. Otros instrumentos tienen lectura digital con capacidades similares. Se opera de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En este método se describen varios instrumentos para la estandarización y operación de mediciones de pH y electrodos. Cuando estos procedimientos difieren de las instrucciones del fabricante, este último debe prevalecer excepto los buffers estándar NIST que deben ser revisados al menos una vez al día frente a buffer de referencia NIST.</p> <p>-Electrodos: Electrodo indicador de vidrio de membrana y electrodo de referencia Calomel (solo o combinado). Mantener los electrodos Calomel llenos de solución saturada de KCl, debido a que pueden ser dañados si se permiten que se sequen. Mantener la T^0 uniforme alrededor de 25^0C para los electrodos, soluciones buffer estándar y para las muestras. Remojar los nuevas electrodos varias horas en agua destilada o desionizada antes de usar. Almacenar los electrodos en su propia solución electrolítica llena. Almacenar el electrodo de combinación en buffer de pH 4, agregar unas gotas de solución saturada de KCl. Almacenar los electrodos en forma consistente con las recomendaciones del fabricante si difieren de lo anterior. Almacenar los electrodos de manera que los empalmes y los agujeros estén cubiertos. Enjuagar los</p>

Cuadro № 13 (Continuación).

<p>electrodos con la próxima solución a ser medida. Si el material de la muestra no es suficiente, enjuagar los electrodos con agua destilada o desionizada. El retraso de la respuesta de las medidas puede indicar efectos de envejecimiento o suciedad en los electrodos, por lo cual se hace necesario la limpieza y renovación de los electrodos. La limpieza de los electrodos se hace mediante la colocación de los electrodos en solución de NaOH 0,1 M durante un minuto. Repetir dos veces, terminando con los electrodos en una solución ácida. Enjuagar los electrodos minuciosamente con agua antes de proceder a la estandarización.</p> <p>Nota: Las grasas y aceites de las muestras pueden cubrir con una capa a los electrodos; por lo cual, limpiar frecuentemente los electrodos con éter etílico y reestandarizar el instrumento por lo general después de tres determinaciones.</p>
<p>Reactivos: Soluciones buffer estándar (AOAC 964.24 y ver tabla AOAC 964.24) Usar agua con pH $\geq 6,5$ pero $\leq 7,5$, hervir esa agua durante 15 min. Y enfriar bajo condiciones libre de CO₂. Almacenar las soluciones buffer excepto el Ca(OH)₂ en frascos de vidrio resistentes químicamente. Proteger de CO₂ el fosfato, bórax, y buffers Ca(OH)₂. Evaluar el pH en función de temperatura como se detalla en la tabla 964,24 del AOAC. (Ver anexo N° 11).</p>
<p>Estandarización y operación del pHmetro.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Encender el instrumento y permitir que se calienten los componentes electrónicos y se estabilicen antes de proceder. 2- Estandarizar los instrumentos específicos de acuerdo con las instrucciones del fabricante, usando buffers NIST SRM. Equilibrar los electrodos, los buffers y las muestras a la misma temperatura cerca de 25⁰C antes de las mediciones de pH. Estabilizar la temperatura del instrumento con el control del compensador de temperatura a la temperatura observada. Cuando se determina el pH de muestras desconocidas o soluciones buffer, remover antes de la prueba.
<p>Estandarización de pH análogo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Tomar nota de la temperatura de la solución buffer y ajustarla con el control compensador de temperatura del instrumento a la temperatura observada alrededor de 25⁰ C. Estandarizar el instrumento y los electrodos con la solución buffer de KHC₈H₄O₄ 0,05 m. (Anexo N° 11). 2- Enjuagar los electrodos con agua destilada y desionizada y secar (no limpiar) con paños suaves. Se aconseja sumergir los electrodos en la solución buffer y leer el pH, dejando que las mediciones se estabilicen durante un min. Ajustar con el control de estandarización a fin de que las mediciones correspondan con las lecturas conocidas del buffer cerca de un pH 4 para ambientar la temperatura. Enjuagar los electrodos con agua destilada o desionizada y

Cuadro № 13 (Continuación).

<p>secar con un paño suave.</p> <p>3- Comprobar expandiendo la escala de mediciones de pH con buffer estándar con pH 4 ó 7. Los buffer y los instrumentos se pueden verificar más detalladamente por comparación con los valores obtenidos usando otro instrumento estandarizado apropiado.</p> <p>4- Verificar las indicaciones de los electrodos para la correcta duración usando 2 buffer por separado. Por ejemplo, primero estandarizar los electrodos usando un buffer de pH 7 a una temperatura cerca de 25°C. Ajustar el control de estandarización a fin de que las lecturas de las mediciones sean exactamente 7,0. Enjuagar los electrodos con agua, secar y sumergir en un buffer de pH 4. Si el electrodo no pasa la prueba, es necesario la renovación o el reemplazo del electrodo.</p> <p>Solución buffer ftalato ácido de potasio 0,05 m (AOAC 924.64 C): 0,0496M; 0,05m.</p> <p>1- Secar 10,12 g de $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (NIST SRM 185g) a 110°C durante 2 horas.</p> <p>2- Disolver en agua y diluir a un litro. Las precauciones específicas de la expulsión de CO_2 atmosférico son innecesarias, aunque la solución debería de proteger contra la evaporación y contaminación con mohos. Si aparecen mohos reemplazar la solución.</p>
<p>Estandarización del pHmetro digital con control de pendiente:</p> <p>1- Seleccionar 2 soluciones buffer estándar preferiblemente que la diferencia en los niveles de pH no sea superior a 3 unidades y de tal manera que el valor de la muestra a analizar se encuentre dentro de su rango, es decir, en el intervalo de pH de las soluciones buffer estándar con valores de pH de 4,0 y 7,0. Para resultados más precisos un buffer estándar debe ser elegido con el valor de pH o cerca del pH de la solución a evaluar.</p> <p>2- Estandarizar midiendo primero en una solución buffer de pH 7.0 con el control estándar y luego usar la pendiente control para estandarizar midiendo la segunda solución buffer con pH 4.0. Este procedimiento establece la respuesta (la pendiente) del instrumento adecuado para medir el pH utilizando electrodos obteniendo resultados más precisos de pH.</p> <p>Nota: En ocasiones se encuentran dificultades con la corriente de combinación de los electrodos. Cuando esto ocurre identificar y corregir la fuente de problemas. Frecuentemente la causa es la unión de los empalmes de los electrodos. En caso de funcionamiento defectuoso consultar al manual del fabricante para asegurarse de averías técnicas.</p>
<p>Preparación de la muestra: Para estimar el grado de equilibrio de pH ó la uniformidad: Usar para alimentos que no han alcanzado el equilibrio de pH, es decir, la producción de muestras de línea y muestras de almacén.</p> <p>Mezcla de líquidos y sólidos:</p> <p>1- Filtrar el contenido del recipiente inclinado en un ángulo de 17 a 20° sobre un tamiz No.8 durante 2 minutos. Registrar los pesos para las porciones líquidas y solidas por separado. Si</p>

Cuadro № 13 (Continuación).

<p>el líquido contiene suficiente aceite para causar deterioro en el electrodo separar las capas en una ampolla de separación y retener la capa acuosa.</p> <p>2- Determinar el pH de la capa acuosa aproximadamente 25⁰C. Retirar los sólidos colados del tamiz, mezclar para formar una pasta uniforme, ajustar la temperatura alrededor de 25⁰C y determinar el pH.</p> <p>3- Mezclar las alícuotas de las fracciones sólidas y líquidas en la misma proporción en la que se encuentra en su envase original, mezclar hasta una consistencia uniforme. Ajustar la temperatura cerca de 25 ⁰C y determinar el pH.</p>
<p>Determinación:</p> <p>1- Ajustar la temperatura de la muestra a unos 25 ⁰C □ Ajustar la temperatura con el control compensado a la temperatura observada. Con una escala expandida en el instrumento, la temperatura de la muestra debe ser la misma que la temperatura de la solución buffer utilizada para la estandarización.</p> <p>2- Enjuagar y secar los electrodos. Sumergir los electrodos en la muestra y leer el pH, permitiendo estabilizar las soluciones por un minuto. Enjuagar y secar los electrodos y repetir con una nueva porción de la muestra.</p> <p>3- Determinar dos valores de pH de cada muestra. Lecturas estrechas cercanas indican que la muestra es homogénea. Reportar los valores de pH a dos decimales por ejemplo 4.73.</p>

5.1.3.7 Determinación de azúcares reductores en miel de abejas. ⁽³²⁾

Cuadro N^o14 Determinación de azúcares reductores en miel de abejas

<p>Fundamento: El cobre es reducido desde Cu⁺² a Cu⁺¹. En este sentido, en el método de Lane y Eynon se hace reaccionar sulfato cúprico con azúcar reductor en medio alcalino, formándose óxido cuproso, el cual forma un precipitado rojo ladrillo. Este método utiliza azul de metileno como indicador, el cual es decolorado una vez que todo el cobre ha sido reducido, lo que indica el fin de la titulación.</p>
<p>Material:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Frasco volumétrico de 100 ml y 250 ml -Frasco Erlenmeyer de 250 ml y 500ml -Pipetas volumétricas de 5 y 50 ml -Bureta de 50 ml graduada en decimas -Placa caliente. -Baño de agua con capacidad para mantener la temperatura a 70⁰C -Balanza analítica con sensibilidad de 0,1 mg
<p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Solución de acetato de zinc: Disolver 21,9 g de acetato zinc (Zn(C₂H₃O₂)₂·2H₂O) cristalizado y

Cuadro № 14 (Continuación).

<p>3 ml de ácido acético glacial en agua diluir a 100 ml.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Solución de ferrocianuro de potasio: Disolver 10,6 g de ferrocianuro de potasio ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) en 100 ml de agua destilada. - Solución (A) de sulfato de cobre: Disolver 34.639 g de sulfato de cobre pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) en agua destilada y diluir a 500 ml utilizando un frasco volumétrico de 500 ml; filtrar a través de lana de vidrio. <p>Ajustar la solución, determinando el contenido de cobre en una alícuota con tiosulfato de sodio 0,1 N y yoduro de potasio al 20% hasta obtener 440,0 mg de cobre por cada 25 ml.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Solución (B) de Tartrato de sodio y potasio: Disolver 173 g de tartrato de sodio y potasio ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) y 50 mg de hidróxido de sodio (NaOH) en agua y diluir a 500 ml; dejar reposar 2 días y filtrar a través de lana de vidrio. <p>- Solución patrón de sacarosa: Pesar 9,5 g de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) y disolver en 50 ml de agua, agregar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y diluir con agua a 100 ml. Almacenar algunos días a temperatura ambiente (aproximadamente 7 días a 12-15°C ó 3 días a 20-25°C ó 15 minutos a 67°C) después de esta inversión diluir a un litro (esta solución es estable por algunos meses en refrigeración).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Solución diluida de sacarosa: Neutralizar una alícuota de 10 ml con hidróxido de sodio (NaOH) 1.0 N y diluir a 100 ml con agua (1 ml=1mg de sacarosa). - Ácido clorhídrico concentrado. - Solución alcohólica de fenolftaleína al 1%. - Solución de hidróxido de sodio 1:1 p/v - Solución acuosa de azul de metileno al 2%.
<p>Preparación de la muestra:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Si la muestra no está granulada agitar bien antes de tomar una alícuota para efectuar las determinaciones; si estuviera granulosa, colocar el recipiente (herméticamente cerrado) en un baño de agua (sin sumergirlo) y calentar durante 30 minutos a 60 °C; si fuera necesario calentar a 65 °C hasta que se licúe, (si es necesario agitar ocasionalmente). Mezclar bien, enfriar rápidamente en cuanto la muestra se licúe y pesar las alícuotas para efectuar las determinaciones. 2- Si se encontraran materias extrañas como ceras, palos abejas, trozos de panal, etc., calentar a 40 °C en baño maría y filtrar a través de una muselina en un embudo con camisa de agua caliente antes de pesar las alícuotas para el análisis.
<p>Titulación de la solución A-B:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Medir con pipeta volumétrica 5 ml de la solución A y 5 ml de la solución B en un frasco erlenmeyer de 500 ml. Agregar 100 ml de agua, unos cuerpos de ebullición y calentar en

Cuadro № 14 (Continuación).

<p>parrilla cerrada a ebullición y agregar poco a poco con una bureta, solución patrón de sacarosa diluida, hasta la casi reducción total del cobre.</p> <p>2- Agregar 1 ml de la solución azul de metileno y continuar la titulación hasta la desaparición del color azul (mantener continua la emisión de vapor para prevenir la reoxidación del cobre o del indicador). Si el gasto es menor de 15 ml o mayor de 50 ml de la solución de azúcar invertido, hacer la dilución apropiada o reformulación para que quede dentro de ese rango.</p>
<p>Determinación de azúcares reductores directos:</p> <p>1- Pesar de 10-12 g de muestra finamente molida en un vaso de precipitados de 50 ml, transferir cuantitativamente con 200 ml de agua destilada caliente a un matraz volumétrico de 250 ml, mezclar y dejar reposar 30 minutos agitando ocasionalmente.</p> <p>2- Agregar 4 ml de la solución de acetato de zinc, mezclar, agregar 4 ml de solución de ferrocianuro de potasio y mezclar. Diluir a volumen y filtrar.</p> <p>3- Colocar el filtrado en una bureta y proceder como se indica en la titulación de las soluciones A y B, usando el filtrado obtenido en lugar de la solución patrón de sacarosa.</p>
<p>Determinación de azúcares reductores totales:</p> <p>1- Tomar 25 ml del filtrado y pasar a un matraz volumétrico de 100 ml. Agregar 20 ml de agua, 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y mezclar. Colocar el matraz con un termómetro sumergido en la solución en un baño de agua a 70°C y mantener por un período de 15 minutos contados a partir del momento en que la temperatura interna alcance 69°C.</p> <p>2- Enfriar inmediatamente, agregar unas gotas de fenolftaleína, neutralizar con solución de hidróxido de sodio, enfriar y llevar a volumen.</p> <p>3- Colocar la solución en una bureta y proceder como se indica en el procedo de titulación, usando la solución obtenida en lugar de la solución de sacarosa.</p>
<p>Cálculos: % de azúcares reductores= $(250 \times 100 \times F) / (V \times PM)$</p> <p>F: Factor de corrección.</p> <p>V: Volumen gastado por el titulante.</p> <p>Nota: los azúcares no reductores son calculados restando al contenido de azúcares totales, el contenido de azúcares reductores. Para convertir este valor en contenido de sacarosa, se debe considerar la suma de los pesos moleculares de la glucosa y la fructosa (360 g/mol) y el de la sacarosa (342 g/mol).</p>

5.1.3.8 Determinación de acidez libre en miel de abejas. ⁽³²⁾

Cuadro N^o15 Determinación de acidez libre en miel de abejas.

<p>Fundamento: El método se fundamenta en una neutralización ácido-base en la cual la base o el álcali en exceso no reaccionante, se valora con un ácido fuerte, y por diferencia de volumen se obtiene la cantidad consumida por los ácidos grasos.</p>
<p>Material y equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Vaso de precipitado de 250 ml -Agitador magnético. - pHmetro -Pipeta de 10 ml. -Bureta de 10 ml.
<p>Reactivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agua libre de CO₂ -NaOH 0,05N -HCl 0,05N.
<p>Determinación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Disolver 10 g. de muestra en 75 ml. de agua libre de CO₂, en un vaso de precipitados de 250 ml. Agitar con agitador magnético. Introducir en la disolución los electrodos de un pHmetro y registrar el pH. 2- Titular con NaOH 0,05 N a una velocidad de 5,0 ml/minuto. Detener la adición de NaOH cuando se haya alcanzado un pH de 8,5. Inmediatamente añadir con una pipeta, 10 ml de NaOH 0.05 N y retrotitular rápidamente con HCl 0,05 N (utilizando una bureta de 10 ml) hasta un valor de pH 8,3.
<p>Cálculos: Calcular como miliequivalentes/kg: Acidez libre= (ml. de NaOH 0,05 N gastados – ml. del blanco) x50/g muestra.</p>

5.1.3.9 Determinación de humedad en miel de abejas. ⁽³²⁾

Cuadro N^o16 Determinación de humedad en miel de abejas.

<p>Fundamento: La determinación del porcentaje de humedad en miel de abejas por el método indirecto, se lleva a cabo usando el refractómetro de ABBE, ya que el contenido de humedad de la miel se halla en relación con el índice de refracción.</p>
<p>Material y equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Refractómetro ABBE.
<p>Determinación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinar la lectura del refractómetro de la miel a 20^o y obtener el porcentaje de humedad correspondiente a la tabla 969,38. (Ver anexo N^o12). Si la determinación se realizó a otra temperatura diferente de 20^o, corregir la lectura a la temperatura estándar de 20^o de acuerdo al pie de la nota.

5.1.3.10 Determinación de Hidroximetilfurfural en miel de abejas. ⁽³²⁾.
Cuadro N^o17 Determinación de Hidroximetilfurfural en miel de abejas.

<p>Fundamento: El método se basa en determinar el contenido de hidroximetilfurfural mediante espectrofotometría de absorción molecular UV, midiendo la absorbancia a longitud de onda de 284 nm y 336 nm.</p>
<p>Equipo: -Espectrofotómetro: UV, para medir absorbancia a 284 y 336 nm.</p>
<p>Reactivos: -Solución de Carrez I: Disolver 15 g de $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ y diluir a 100 ml con agua. -Solución de Carrez II: Disolver 30 g de $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ y diluir a 100 ml con agua. -Solución de bisulfito de sodio: 0,20%. Disolver 0,20g de $NaHSO_3$ (grado técnico satisfactorio) y diluir a 100 ml con agua. Diluir 1+1 para la solución de referencia si es necesario. Preparar recientemente cada día.</p>
<p>Determinación: 1- Pesar exactamente unos 5 g de miel en un vaso de precipitado pequeño y transferir con 25 ml de agua a un balón volumétrico de 50 ml. Agregar 0,50 ml de la solución de Carrez I, mezclar, agregar 0,50 ml de la solución de Carrez II, mezclar y diluir a volumen con agua. Se pueden agregar unas gotas de alcohol para suspender la espuma. Filtrar a través de papel, descartando los primeros 10 ml del filtrado. 2- Pipetear 5 ml del filtrado en cada uno de 2 tubos de 18 x 150 mm. Agregar 5 ml de agua al tubo (muestra) y 5 ml de la solución de $NaHSO_3$ al otro tubo (referencia) de la muestra contra la referencia a 284 y 336 nm en celdas de 1 cm. Si la absorbancia es $>0,6$, diluir la solución de la muestra con agua y la solución de referencia con 0,1% con la solución de $NaHCO_3$ en la misma proporción y corregir la absorbancia para esa dilución.</p>
<p>Cálculos: $HMF(mg/100g\text{ miel}) = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 5 \times 14,97}{g. muestra}$; $14,97 = (126/16,830)(1000/10)(100/5)$</p> <p>Donde: Peso molecular HMF = 126 Absortibilidad molar (g) de HMF= 16830 nm a 284 nm. mg/g=1000 centilitros/L=10 g de miel informados= 100, peso de muestra nominal= 5.</p>

4.1.3.11 Determinación de Humedad en harina de maíz nixtamalizado. (32).
Cuadro N°18 Determinación de humedad en harina de maíz nixtamalizado.

<p>Fundamento: El presente método determina la humedad contenida como pérdida en el peso de la muestra, cuando esta se calienta bajo condiciones específicas.</p>
<p>Equipo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plato de metal con 55 mm de diámetro y 15 mm de altura con una cubierta invertida antideslizante ajustada desde el interior. -Desecador hermético que reenciende con CaO como agente de secado satisfactorio. -Horno de aire con precisión de control de ± 1 °C.
<p>Determinación:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- En un recipiente enfriado y tarado (siempre con la cubierta), previamente calentado a $130\pm 3^{\circ}\text{C}$, pesar exactamente unos 2 g de porción de la muestra bien mezclada en una balanza con un grado de precisión de 1mg. 2- Destapar el recipiente con la muestra y secar el recipiente, cubierta y el contenido durante 1 hora en el horno provisto de apertura para ventilación y mantenido una temperatura de $130 \pm 3^{\circ}\text{C}$. (El período de secado de 1 hora comienza cuando la temperatura del horno ha alcanzado realmente 130°C.). Después del período de secado, tapar el recipiente mientras se encuentra todavía en el horno, transferirlo al desecador, y pesar en una balanza con un grado de precisión de 1 mg apenas alcanzada la temperatura ambiente. Reportar los residuos de harina como sólidos totales y la pérdida de peso como humedad.
<p>Cálculos: $\text{Humedad (\%)} = \frac{(\text{g de porción de ensayo antes del secado} - \text{g de porción de ensayo después del secado})}{\text{g de porción de ensayo antes del secado}} \times 100$</p>

CAPÍTULO VI
DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.0 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

La necesidad de comprobar que las muestras de alimentos están dentro o fuera de los rangos establecidos por la normativa está íntimamente relacionada con la aplicación de metodología analítica que sea reconocida a nivel nacional e internacional. Debido a lo anterior el presente trabajo es un valioso aporte para los diferentes laboratorios nacionales dedicados al análisis de alimentos en el país; lo cual se verificó utilizando como instrumento una entrevista para la recopilación de datos por medio de la cual se determinó la importancia de la realización de un manual de análisis de alimentos basado en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano, tal entrevista estuvo dirigida al personal encargado de realizar los análisis de alimentos en los laboratorios de las siguientes instituciones: Fundación Salvadoreña para el Desarrollo Económico y Social (FUSADES), Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), Laboratorios Especializados en Control de Calidad (LEEC), Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), Centro Nacional de Tecnología Agrícola y Forestal “Enrique Álvarez Córdoba” (CENTA), Embotelladora la CASCADA y Centro de Control de Calidad Industrial (CCCI). Obteniendo respuestas que coinciden en la importancia de la existencia del manual.

Mediante la entrevista efectuada, las respuestas demuestran que los laboratorios solamente se basan en la Normativa Salvadoreña para comparación de resultados en control de calidad debido a que no poseen un manual de metodología de análisis de alimentos basado en la Normativa Salvadoreña.

Las respuestas obtenidas en la entrevista fueron comparadas y se establecieron similitudes, encontrándose que coinciden en un 100%, confirmando que los profesionales entrevistados consideran importante la realización de un manual de métodos de análisis de alimentos basado en la

Normativa Salvadoreña que incluya los parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos.

Los resultados de la entrevista indican que el 100% de los profesionales entrevistados consideran necesario que los alimentos cumplan con los parámetros de calidad porque de esta manera se garantiza mayor calidad de los productos a nivel nacional e internacional.

Los procedimientos de análisis detallados en la presente investigación son métodos oficiales que se basan en referencia internacional como lo es el AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Asociados), AOCS (Sociedad Americana de Química de Aceites), BAM (Manual Análisis bacteriológicos), ASTM (International Standards Worldwide) y Codex Alimentarius; éste último para comparar los límites establecidos en la normativa internacional. Se presentan de una forma bastante compleja, se requiere que la persona encargada de la interpretación y redacción tenga conocimientos básicos especializados en el área de análisis; así mismo se requiere tiempo especial dedicado a la lectura, traducción, e interpretación de la metodología.

Así mismo, para el desarrollo de cada metodología en el análisis fisicoquímico es necesario tomar en cuenta que la metodología que refiere la normativa se encuentra en idioma inglés por lo cual se hace necesario tener conocimiento de inglés técnico.

En cada metodología se presenta la preparación de la muestra en forma diferente por lo que se ha tomado la traducción de ésta.

Se ha incluido el fundamento de cada metodología descrita en el manual, para lo cual se efectuó previamente un estudio del método expuesto, para posteriormente plasmarlo en el manual.

Cabe mencionar que para la ejecución de un análisis completo de un producto alimenticio es indispensable considerar los tres métodos de análisis: Sensorial, microbiológico y fisicoquímico, los cuales son independientes uno del otro y se complementan entre sí.

Existe un número considerable de técnicas analíticas descritas en la referencia bibliográfica de la Normativa Salvadoreña para determinar una propiedad particular del alimento. Por lo cual fue necesario seleccionar la más apropiada para la aplicación específica.

El análisis sensorial es una respuesta humana irremplazable y presenta la ventaja de ser sencillo y rápido ya que no requiere preparación de reactivos, pero si es necesario tener los conocimientos de las pruebas sensoriales y de los cálculos estadísticos en la medida que se vaya profundizando, por lo cual se han incorporado las tablas como ejemplo.

Mediante las visitas efectuadas en el departamento de normalización en el Organismo Salvadoreño de Acreditación se encontró la siguiente información:

- La industria de alimentos está sujeta a normas particularmente estrictas en materia de calidad y seguridad de los productos. Puesto que si productos alimenticios contaminados llegaran al mercado, las consecuencias podrían ser muy serias y no solamente para los consumidores, pues también para la industria de alimentos. Existen sanciones de parte de las autoridades correspondientes a las empresas que en sus productos alimenticios no cumplen con los parámetros establecidos por la Normativa Oficial.
- Actualmente el OSA es Miembro Correspondiente de la Organización Internacional para la Normalización ISO. Miembro de la Comisión Panamericana de Normas Técnicas (COPANT), Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP), Codex Alimentarius, Agencia Española de Normalización (AENOR), e International Standards Worldwide (ASTM), lo cual le permite contar con las referencias normativas de primer nivel.
- El Reglamento Técnico Centroamericano prevalece sobre la Normativa Salvadoreña Obligatoria ya que el reglamento como su nombre lo indica abarca a toda la región centroamericana; y a su vez las Normas Salvadoreñas Obligatorias predominan sobre las Normas salvadoreñas Recomendadas.

CAPÍTULO VII
CONCLUSIONES

7.0 CONCLUSIONES

1. Es importante la elaboración de un manual que incluya metodología basada en la Normativa Salvadoreña según el código específico de cada alimento y el Reglamento Técnico Centroamericano N^o 67.04.50:08 con los parámetros de análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos para los siguientes alimentos: Leche en polvo, queso madurado y no madurado, miel de abeja, harina de maíz nixtamalizado, néctares de frutas, grasas y aceites comestibles; pues contiene un análisis completo de control de calidad para los productos seleccionados lo cual permite el ajuste a los límites establecidos por la Normativa.
2. Resulta fundamental que exista en el país un manual de métodos de análisis que incluya metodología oficiales traducidas de la manera más adaptable al lenguaje técnico y científico para facilitar la comprensión de la parte experimental y reducir el tiempo de investigación.
3. El presente manual basado en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano, facilita la búsqueda de información y es un valioso aporte en los sectores académico e industrial de alimentos, porque se ajusta a la Normativa Oficial, y a la vez sirve de base para posteriores estudios.
4. El análisis de alimentos es el estudio que se ocupa del desarrollo, uso e investigación de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos y de sus componentes, lo cual es imprescindible para la comprensión de los factores que determinan las propiedades de los alimentos, así como la habilidad para producir alimentos que sean efectivamente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor; y a la vez los alimentos seleccionados en esta investigación sirven de base para posteriores investigaciones, puesto que son comúnmente comercializados.
5. Los fundamentos de cada metodología constituyen una parte principal e importante en el estudio, pues son la base del respectivo análisis; en virtud

de lo anterior, se ha incluido en cada determinación, para posteriormente llevar a cabo una descripción ordenada y secuencial de cada método.

6. La técnica seleccionada, incluyendo métodos alternativos dependen de la propiedad que sea medida, del tipo de alimento a analizar, las condiciones de los laboratorios del país y la razón de llevar a cabo el análisis.
7. Los resultados de la entrevista demuestran la importancia de la creación de un manual que contenga métodos de análisis basado en la legislación alimentaria, pues simplifica la búsqueda de información.
8. La evaluación sensorial resulta un factor esencial en cualquier estudio sobre alimentos pues, no existe ningún otro instrumento que pueda reproducir o reemplazar la respuesta humana. El análisis sensorial es aplicable en muchos sectores, tales como desarrollo y mejoramiento de productos, control de calidad, estudios sobre almacenamiento y desarrollo de procesos.
9. Las pruebas organolépticas incluidas en el manual complementan el análisis de los productos y son necesarias para asegurar la calidad del producto, durante su fabricación y almacenamiento. Debido a lo anterior para una mejor comprensión es importante incluir ejemplos para el análisis sensorial los cuales se han incorporado en los anexos de esta investigación.
10. Es fundamental el cumplimiento de las normas para contar con instrumentos y métodos fiables en el laboratorio, los cuales deben satisfacer las exigencias de la Normativa y de esta manera garantizar las estrictas normas de calidad y seguridad de los productos alimenticios.

.

CAPÍTULO VIII
RECOMENDACIONES

8.0 RECOMENDACIONES.

1. Hacer uso del manual basado en la Normativa Salvadoreña de acuerdo al código específico de cada alimento y el Reglamento Técnico Centroamericano N^o 67.04,50:08, el cual incluye métodos oficiales traducidos, para los análisis: Sensoriales, microbiológicos y fisicoquímicos; para los sectores académico e industrial y de esta manera facilitar la búsqueda de información y reducir el tiempo de investigación.
2. Realizar efectivamente, las pruebas organolépticas tanto a materia prima como a producto terminado; ya que esto contribuye a que el producto sea aceptado por el consumidor.
3. Llevar a cabo en condiciones controladas toda prueba que incluya paneles sensoriales, utilizando diseños experimentales, métodos de prueba y análisis estadísticos apropiados. De esta manera, el análisis sensorial podrá producir resultados consistentes y reproducibles.
4. Contar con instrumentos y métodos seguros en el laboratorio para garantizar las estrictas normas de calidad y seguridad. Estos deben satisfacer las exigencias de la Normativa Salvadoreña.
5. Consolidar la infraestructura de calidad para el desarrollo de una nueva cultura empresarial que haga de la calidad una herramienta para competir en los mercados nacionales e internacionales.
6. Mejorar los estándares de calidad, promocionando un esquema de responsabilidad compartida con el sector privado en el cual los sectores productivos ajusten sus procesos para que sus productos cumplan requisitos de calidad previamente definidas bajo la Normativa Salvadoreña.
7. Emplear los procesos productivos de la Normativa Oficial, los cuales suministran reglas y características para los productos, servicios y procesos; ya que las condiciones actuales del comercio mundial han acrecentado la velocidad con que se producen los cambios sociales, económicos y políticos.

8. Aplicar las normas internacionales como lo son las Normas Técnicas Centroamericanas; pues permiten la remoción de obstáculos comerciales no arancelarios y el establecimiento creciente de relaciones económicas mundiales. Por esa razón, las normas son de máxima importancia económica para aquellos países como El Salvador que deben establecer y desarrollar su comercio exterior.
9. Validar las metodologías establecidas en el presente manual debido a la variabilidad de las condiciones de cada laboratorio.
10. Efectuar una ampliación de este manual para otros alimentos como bebidas carbonadas, jaleas, yogurt, helados, carnes y embutidos, entre otros; tomando en cuenta los parámetros de análisis: Sensorial, microbiológico y fisicoquímico, así mismo, basándose en la Normativa Salvadoreña y Reglamento Técnico Centroamericano para posteriores investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Balanza María Esther, Ordóñez Alicia, Barrera Mónica. Acidez Total y Lactónica de la Miel de Abejas: Correlación con otros parámetros. (Monografía en internet). Argentina: Universidad de Cuyo; 2004. (Acceso el 10 de abril de 2011). Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/foros/apicola/biblio/11diciembre/Acidez%0total%20y%20lact%F3nica%20de%20la%20miel%20Balanza-2.pdf>
2. Bolaños Nuria, Herrera H. Carlos, Lutz C. Giselle. Química de los Alimentos. Manual de Laboratorio. Costa Rica: Universidad de Costa Rica; 2003.
3. Charles Alais, Lacasa Godina Antonio. Ciencia de la leche: Pricipios de Técnica lechera. 4ª ed. México: Reverté; 1985. (Consultado el 10 de abril de 2011). Disponible en: <http://books.com.sv/>
4. Charley Helen. Preparación de Alimentos. México: Limusa; 1988.
5. Charley Helen. Tecnología de los Alimentos. Procesos Químicos y Físicos en la Preparación de Alimentos. México: Limusa; 2004.
6. Codex Alimentarius. Volumen XIII. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. 2ª. Edición. Métodos de Análisis y Muestreo. Italia: Comisión del Codex Alimentarius; 1995.
7. Codex Alimentarius. Métodos de Análisis y Toma de Muestras para la Leche y los Productos Lácteos, 6ª reunión; 2003 abril 19-23. Nueva Zelanda: Comisión del Codex Alimentarius. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. 2004.
8. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. (Internet). San Salvador: CONACYT; 2011. (Acceso 25 de marzo de 2011). Quienes Somos (aproximadamente 6 pantallas). Disponible en: <http://www.conacyt.gob.sv/estruct.htm>
9. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Estándares y Normas. (Internet). El Salvador: CONACYT; 2003. (Acceso 10 de abril del 2011). Disponible en: <http://www.oficinascomerciales.es/icex/cma/contentTypes/cmmon/records/bin>

10. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.19.01:08. Miel de Abejas. Especificaciones. 2ª actualización. CONACYT; 2008.
11. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.03.02:08. Harina de Maíz Nixtamalizado. CONACYT; 2008.
12. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO RTCA 67.04.40:07. Alimentos y Bebidas Procesadas. Néctares de Frutas. Especificaciones.
13. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.23.02:06. Alimentos y Bebidas Procesadas. Grasas y Aceites. Especificaciones. CONACYT; 2008.
14. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO RTCA 67.04.50:08. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. El Salvador: CONACYT; 2008.
15. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.01.04:06. Queso no madurado. Especificaciones. CONACYT; 2006.
16. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.01.03:05. Queso madurado. Especificaciones. CONACYT; 2005.
17. CONACYT. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Norma salvadoreña NSO 67.01.05:95. Leche en polvo. Especificaciones. CONACYT; 1995.
18. Coulate Tom. Manual de Química y Bioquímica de los Alimentos. 2ª ed. España: Acribia; 2003.
19. Egan Harold, Kirk Ronald S., Sawyer Ronald. Análisis Químico de los Alimentos de Pearson. México: Ediciones Continental; 1987.
20. Elías L.G. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. (Internet). Guatemala: Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá. (INCAP); 1995. (Acceso 10 de marzo del 2011). Disponible en: id/-bnc.irc.ca/dspace/bitsfream/10625/12666/1/89276.pdf

21. Food and Drug Administration. FDA. Bacteriological Analytical Manual (Internet). Estados Unidos: FDA; 2001. (acceso 10 de abril de 2011). Disponible en: <http://www.cfan.fda.gov/>
22. Fennema Owen R. Química de los Alimentos. España: Acribia; 2000.
23. Fernández V., Candiotti M. C., Perori M. C., Beranal S. M., y Salazar C.A., Revista Argentina de Lactología. (Revista en Internet). 2006. (Acceso 25 de marzo del 2011). 24. Disponible en: bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180/.../RAL_18_24pag_35_45_resumen_pdf
24. Fleishman W. Tratado de lechería. España: Gili, S.A.; 1945.
25. Galván Romo Luis. Evaluación Sensorial: Quesos de Oveja y Cabra. (Monografía en Internet). Argentina: Instituto de Tecnología Industrial; 2006. (Acceso 11 de abril del 2011). Disponible en: <http://www.inti.gob.ar/lacteos/pdf/cuadernotecnologico5.pdf>
26. Gary D. C. Química Analítica. México: Limusa; 1988.
27. Gesche E. Director, Vallejos A. Eficiencia de Anaerobios sulfito-reductores como indicadores de calidad sanitaria de agua. Método de Número Más Probable (NMP). Chile: Universidad Austral; 2003. (Consultado el 25 de abril del 2011). Disponible en: mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v35n1/art11.pdf
28. Instituto Nacional de Normalización. Determinación de **Clostridium** sulfito reductores. Chile: INN; 2007. (Acceso 25 de marzo de 2011). Disponible en: www.chilealimentos.com/.../INNclostridiumulfito.pdf
29. Luquet F.M. Leche y productos lácteos. Vaca, oveja y cabra. España: Acribia; 1991.
30. Madrid A. Vicente, editor. Producción, análisis y control de calidad de aceites y grasas comestibles. España: Ediciones Madrid; 1987.
31. Miller Dennis D. Química de Alimentos. Manual de laboratorio. México: Limusa; 2004.
32. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. AOAC. Estados Unidos: AOAC; 1998.

33. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society. AOCS. Estados Unidos: AOCS; 2003
34. Reardon Joseph W. El pH y los Alimentos. (Internet). Estados Unidos: North Carolina. Department of Agriculture and Consumer Services Food and Drug Protection Division; 2010. (Acceso 11 de abril de 2011). Disponible en: www.docstoc.com/docs/.../PH-y-los-alimentos
35. Subovsky Martha J., Sosa Ángela, Castillo Alicia, Cano Nelly. Evaluación del contenido de hidroximetilfurfural en mieles del NEA. (Internet). Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE); 2002. (Acceso 10 de abril de 2011). Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/05-Agrarias/A-031.pdf>
36. Thatcher F.S., Clark D.S. Análisis Microbiológico de los Alimentos. España: Acribia; 1973.
37. Vanegas Evelyn de. Normas Técnicas y el Comercio. (Internet). El Salvador: CONACYT; 2002. (Acceso el 10 de abril de 2011). Disponible en: www.conacyt.gob.sv/NormasTecyComRevESCyT-07-10-2002.doc
38. Varman H. Alan, Sutherland Jane P. Leche y productos Lácteos. Tecnología, Química y microbiología. España: Acribia; 1995.
39. Veisseyre R. Lactología Técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche. 2ª ed. España: Acribia; 1980.
40. Zehren V. L. Manual de tecnología quesera. AID (Agencia Internacional para el Desarrollo). Uruguay: LATU (Laboratorio Tecnológico Uruguayo); 1979.
41. Watts B.M., Ylimaki, G.L., Jeffrey L.E. Basic Sensory Methods for Food Evaluation (Internet). Canadá: Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo (CIID); 1995. (Acceso el 10 de marzo del 2011). Disponible en: id/-bnc.irc.ca/dspace/bitsfream/10625/12666/1/89276.pdf
42. <http://acedmic.uprm.edu/dpesante/5355/lamieldeabejas>. (Consultado el 24 de abril del 2011). Composición de la miel de abeja.
43. <http://es.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Consultas>. Enciclopedia Virtual. (Consultado el 11 de abril del 2011).

44. <http://www.euskalnet.net/fgimenez/ww.htm> (Consultado el 11 de abril del 2011). Las fases del examen olfativo.
45. <http://www.scribd.com/.../El-pH-en-la-conservacion-de-alimentos>. (Consultado el 11 de abril del 2011). El pH en la conservación de los alimentos.
46. <http://www.uco.es/dptos/ing-quimica/ing-q/unid.../tema7.pdf>. (Consultado el 25 de marzo del 2011). Análisis Sensorial. Bases Científicas.

GLOSARIO

Assaf: Es una raza de oveja creada en Israel compuesta por la cruce de la oveja Awassi y la Oveja East Friesian. Posee una alta producción de leche y muy apta para las condiciones del medio ambiente mediterráneo. (25).

Calibración clase s: Calibración estándar semiautomática. (43).

Cisteína: La cisteína es un aminoácido no esencial, sulfurado, que puede oxidarse produciendo el dímero cistina. (43).

Coliformes: Grupo de especies bacterianas entéricas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. (38).

Enzima: Proteína que cataliza específicamente cada una de las reacciones bioquímicas del metabolismo. (43).

Escala hedónica: Una escala en la que el grado en que gusta o desagrada un producto es anotado. (20)

Fisioquímica: Estudia las funciones químicas de los seres multicelulares (vivos). (39).

Fotorreceptor: Un fotorreceptor radica en su funcionamiento como transductor de luz que proporciona una señal eléctrica como respuesta a la radiación óptica que incide sobre la superficie sensora. El fotorreceptor es un mecanismo capaz de convertir la energía óptica en energía eléctrica. (43).

Fructosa: Monosacárido que se encuentra comúnmente en las frutas y en cantidades apreciables de la miel y en los azúcares invertidos. (10).

Glucosa: Monosacárido que se produce por hidrólisis del almidón y de los disacáridos tales como la sacarosa, tiene un sabor dulce aunque menos que la fructosa y sacarosa. (10).

Lacaune: El nombre de la oveja procede de Los Montes de Lacaune en el Tarn (Francia). La raza es el resultado de la selección de las mejores ovejas de diferentes razas locales y presentes en el Rayon de Roquefort (la región al rededor de Roquefort). (25).

Latxa: La palabra "Latxa", de origen vasco, significa "basta", aplicada por el tipo de lana burda de los ovinos de esta raza. (25).

Lípidos: Los cuerpos grasos o lípidos son mezclas de ésteres resultantes de la combinación de glicerol con los ácidos grasos superiores, principalmente el palmítico, oleico y esteárico. El término lípido se aplica a una clase de compuestos que son solubles en disolventes orgánicos e insolubles en agua. (2).

Programa SRM de NIST: Es un programa diseñado para ofrecer materiales de referencia que constituyen la fuente física definitiva para la correlación de mediciones en Estados Unidos (43).

Proteasas: Enzima del grupo de las hidrolasas, generalmente con misiones digestivas, que es específica para las proteínas y de los pépticos. (43).

Receptores sensoriales: Son células especializadas en la captación de estímulos, que representan la vía de entrada de la información en el sistema nervioso de un organismo. (43).

Retronasal: Es la segunda vía para detectar aromas (denominada también sensación terciaria) es la persistencia de una sensación de sabor de algunos alimentos tras haber pasado por la boca (en general por la lengua) y estar ya fuera de contacto de las papilas gustativas. (43).

Zoonosis: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales. (36).

ANEXOS



ANEXO N° 1
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

ENTREVISTA DIRIGIDA A PROFESIONALES ENCARGADOS DE LABORATORIOS DE CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS SOBRE LA IMPORTANCIA DE LA EXISTENCIA DE UN MANUAL DE MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA ALIMENTOS PROCESADOS BASADOS EN LA NORMATIVA SALVADOREÑA Y EL REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO.

NOMBRE DEL LABORATORIO:

NOMBRE DEL ENTREVISTADO (A):

Objetivo de la entrevista: Investigar la importancia de la existencia de un manual de métodos de análisis para alimentos procesados basados en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Técnico Centroamericano.

- 1) ¿Se dispone de algún manual de métodos de análisis en el área de alimentos basado en las Normativas Salvadoreñas y el Reglamento Técnico Centroamericano? Si ___ No___
- 2) ¿Considera de importancia la existencia de un manual de métodos de análisis basados en la Normativa Salvadoreña y el Reglamento Centroamericano? Si___ No___ ¿Por qué?
- 3) Según su criterio ¿Que beneficios se pueden obtener al desarrollar el manual.
- 4) ¿Podría mencionarme algunas ventajas de las personas que laboran en la producción de alimentos procesados?
- 5) ¿Cuáles son los alimentos de más demanda de análisis en el país en su empresa?
- 6) ¿En cuál referencia se basa para realizar los correspondientes métodos de análisis?
- 7) ¿Considera necesario que los alimentos cumplan con los parámetros?
Si___ No___ ¿Por qué?

ANEXO N° 2

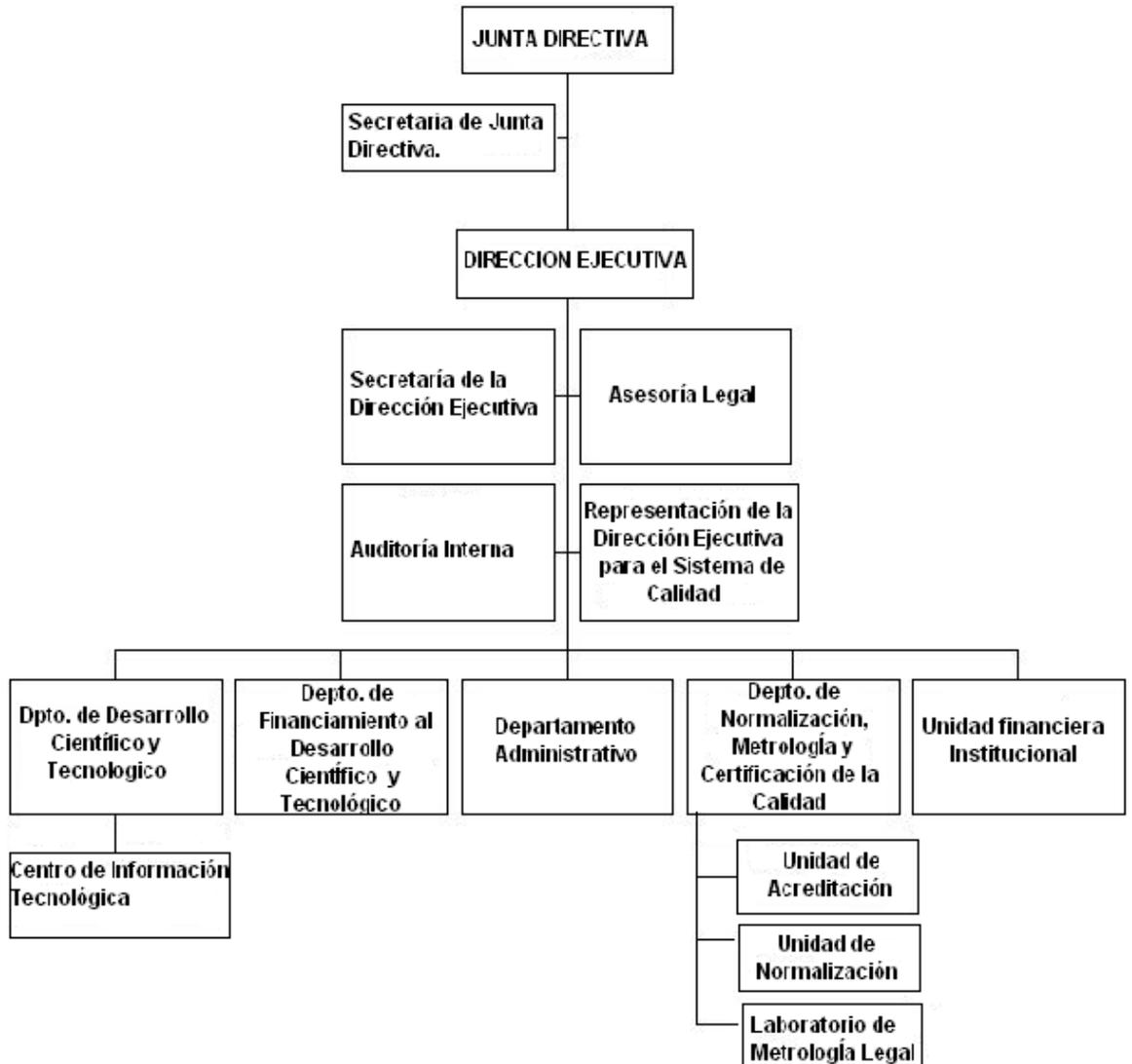


Figura N° 1. Estructura Organizativa del OSA (Organismo Salvadoreño de Acreditación), (Conocido como CONACYT). (8).

ANEXO N° 3.



Figura N° 2. Esquema del procedimiento de Normalización del OSA, dependencia del MINEC. (8)

ANEXO N° 4

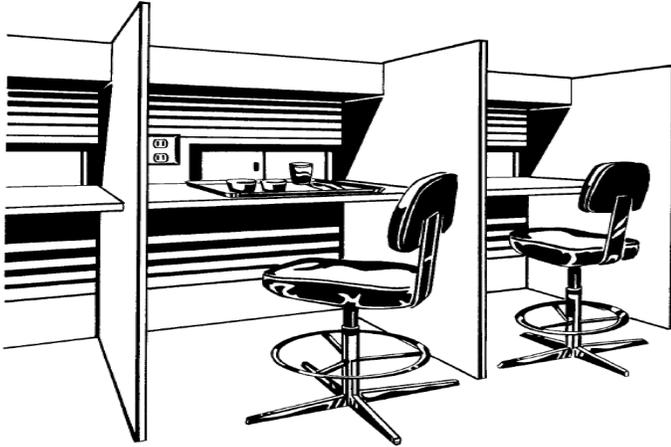


Figura N° 3. Cabinas con secciones individuales para cada panelista. (20), (41).

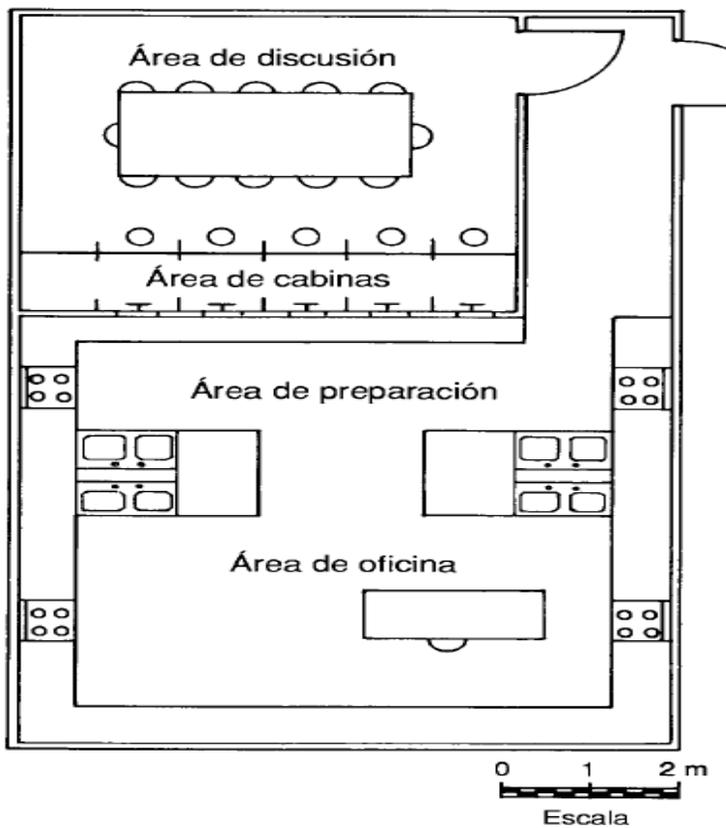


Figura N° 4. Plano del laboratorio para pruebas sensoriales construido en el INCAP, Guatemala. (20), (41).

ANEXO N° 5

a) Escala de categorías de 5 puntos para la intensidad de una característica

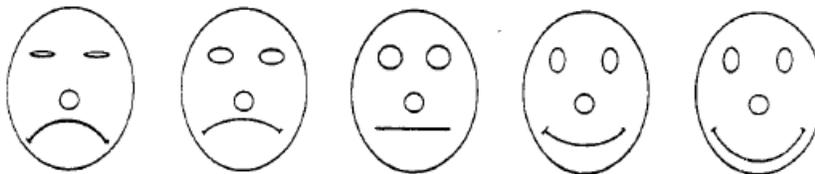
CODIGO

_____	trazas
_____	ligeramente intenso
_____	moderadamente intenso
_____	muy intenso
_____	extremadamente intenso

b) Escala lineal para la intensidad de una característica



c) Escala de caras para el grado de aceptabilidad



Le disgusta
mucho

Le disgusta
un poco

Ni le gusta
ni le disgusta

Le gusta
un poco

Le gusta
mucho

Figura N° 5 Ejemplos de escalas sensoriales empleadas corrientemente. (20), (41).

ANEXO N° 6
EJEMPLOS DE PRUEBAS SENSORIALES.

ANEXO N° 6

- Ejemplo N° 1: Prueba de preferencia pareada utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar la preferencia de frijoles en puré.

Purés con dos variedades de frijol negro fueron preparados, la variedad A (631) y la variedad B (228). Se utilizó una prueba de preferencia pareada para determinar la prevalencia de una variedad de puré de frijol sobre otra.

Se seleccionaron 40 panelistas no entrenados para integrar un panel interno. Las dos muestras se presentaron simultáneamente, cada panelista evaluó las dos muestras solamente una vez. Veinte panelistas recibieron primero la muestra A (631) y los otros veinte recibieron primero la B (228). En la figura N°6 aparece la boleta utilizada cuando la muestra A se presentó primero.

Se obtuvo el total del número de panelistas que prefirieron cada muestra. Treinta de los cuarenta panelistas prefirieron la muestra B. Utilizando la tabla N° 4 (Anexo N° 7), con los valores $X = 30$ y $n = 40$, se encontró que la probabilidad es de 0,002; por lo tanto, este resultado fue estadísticamente significativo, llegándose a la conclusión de que el panel interno prefería el puré de frijol B sobre el puré de frijol A.

Se seleccionaron 40 panelistas no entrenados para integrar un panel interno. Las dos muestras se presentaron simultáneamente, cada panelista evaluó las dos muestras solamente una vez. Veinte panelistas recibieron primero la muestra A (631) y los otros veinte recibieron primero la B (228). Se obtuvo el total del número de panelistas que prefirieron cada muestra. Treinta de los cuarenta panelistas prefirieron la muestra B. Utilizando la tabla N° 10 (Anexo N° 7), con los valores $X = 30$ y $n = 40$, se encontró que la probabilidad es de 0,002; por lo tanto, este resultado fue estadísticamente significativo, llegándose a la conclusión de que el panel interno prefería el puré de frijol B sobre el puré de frijol A. (20), (41).

Nombre:	_____
Fecha:	_____
<p>Pruebe las dos muestras de puré de frijol que tiene enfrente, empezando con la muestra de la izquierda. Haga un círculo al número de la muestra que prefiere. Usted debe escoger una muestra, aunque no esté seguro.</p>	
631	228

Figura N° 6 Boleta para la prueba de preferencia pareada en puré de frijol. (20), (41).

- Ejemplo N° 2: Prueba de ordenamiento utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar la aceptabilidad de la textura de frijol usando la prueba de Friedman. (20), (41).

Se prepararon muestras de frijol cocido, utilizando tres variedades de frijol negro. Se utilizó una prueba de ordenamiento por rangos para obtener una indicación de la muestra con la textura más aceptable. Treinta panelistas no entrenados, fueron seleccionados de entre el personal de la institución (panel interno). Todos los tratamientos se presentaron simultáneamente a cada uno de los panelistas, quienes evaluaron las muestras una sola vez. Había 6 posibilidades para servir las tres muestras, como se indica en la tabla N° 1 Debido a que había 30 panelistas, el orden de presentación de las muestras se balanceó, de manera que cinco panelistas recibieran las muestras en cada uno de los seis posibles órdenes de presentación. En la figura N° 7 se muestra la boleta utilizada en la prueba de ordenamiento por aceptabilidad. A los panelistas se les pidió ordenar las muestras de acuerdo a su aceptabilidad, y evitar clasificar dos muestras en la misma posición, debiendo dar un valor diferente a cada muestra, incluso si les parecía similar. Se asignó un valor de 1

a la muestra más aceptable, un valor de 2 a la muestra que le seguía en grado de aceptabilidad y un valor de 3 a la que tenía la textura menos aceptable. Los valores de ordenamiento dados a cada muestra por los 30 panelistas fueron tabulados como se muestra en la tabla N^o 1. Las diferencias entre el total de pares fueron:

$$C - A = 76 - 33 = 43$$

$$C - B = 76 - 71 = 5$$

$$B - A = 71 - 33 = 38$$

Según la tabla N^o 6 (anexo N^o 7), con 30 panelistas y tres muestras, el valor crítico tabulado para $p = 0,05$ es de 19. Por lo tanto, la textura de las muestras de frijol cocido A y C fueron significativamente diferentes; asimismo, las texturas de las muestras A y B fueron significativamente diferentes. El panel interno consideró que la textura cocida de las variedades de frijol negro B y C eran menos aceptables que la textura del frijol cocido de variedad A. No hubo diferencia en lo que respecta a la aceptabilidad de las variedades B y C. (20), (41).

Nombre: _____	
Fecha: _____	
Pruebe cada una de las muestras de frijol negro en el orden indicado a continuación. Asigne el valor 1 a la que tenga la textura más aceptable; el 2 a la que le siga; y el 3 a la que tenga la textura menos aceptable. Evite asignar el mismo rango a dos muestras.	
Código	Rango asignado
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura N^o 7. Boleta para la prueba de aceptabilidad de la textura del frijol. (20), (41).

Tabla N° 1. Datos de ordenamiento tabulados prueba de aceptabilidad.¹

Panelista	Variedades de frijol negro		
	A	B	C
1	1	2	3
2	1	3	2
3	1	2	3
4	1	2	3
5	1	3	2
6	1	2	3
7	1	2	3
8	1	3	2
9	1	2	3
10	2	1	3
11	1	3	2
12	1	3	2
13	1	3	2
14	1	2	3
15	1	3	2
16	1	2	3
17	1	3	2
18	1	2	3
19	1	2	3
20	1	3	2
21	1	3	2
22	1	2	3
23	1	2	3
24	1	3	2
25	1	3	2
26	2	1	3
27	1	2	3
28	1	3	2
29	1	3	2
30	2	1	3
Total des rangos	33	71	76

¹ Rango superior=1= textura más aceptable; textura moderadamente aceptable= 2; textura menos aceptable = 3 (20), (41).

- Ejemplo N° 3: Prueba hedónica utilizada por un panel interno de consumidores, para determinar el grado de aceptabilidad de diferentes variedades de frijol. (20), (41).

Una prueba hedónica fue llevada a cabo para determinar el grado de aceptabilidad de los consumidores respecto a cinco muestras (tratamientos) de frijol negro cocido, utilizando la escala de categoría de 9 puntos mostrada en la figura N° 8.

Nombre: _____				
Fecha: _____				
<p>Observe y pruebe cada muestra de frijol negro, yendo de izquierda a derecha, como aparece en la boleta. Indique el grado en que le gusta o le desagrada cada muestra, haciendo una marca en la línea correspondiente a las palabras apropiadas en cada columna de código:</p>				
Código _____	Código _____	Código _____	Código _____	Código _____
_____ Me gusta muchísimo	_____ Me gusta muchísimo	_____ Me gusta muchísimo	_____ Me gusta muchísimo	_____ Me gusta muchísimo
_____ Me gusta mucho	_____ Me gusta mucho	_____ Me gusta mucho	_____ Me gusta mucho	_____ Me gusta mucho
_____ Me gusta modera- damente	_____ Me gusta modera- damente	_____ Me gusta modera- damente	_____ Me gusta modera- damente	_____ Me gusta modera- damente
_____ Me gusta poco	_____ Me gusta poco	_____ Me gusta poco	_____ Me gusta poco	_____ Me gusta poco
_____ No me gusta ni me disgusta	_____ No me gusta ni me disgusta	_____ No me gusta ni me disgusta	_____ No me gusta ni me disgusta	_____ No me gusta ni me disgusta
_____ Me disgusta muchísimo	_____ Me disgusta muchísimo	_____ Me disgusta muchísimo	_____ Me disgusta muchísimo	_____ Me disgusta muchísimo
_____ Me disgusta modera- damente	_____ Me disgusta modera- damente	_____ Me disgusta modera- damente	_____ Me disgusta modera- damente	_____ Me disgusta modera- damente
_____ Me disgusta mucho	_____ Me disgusta mucho	_____ Me disgusta mucho	_____ Me disgusta mucho	_____ Me disgusta mucho
_____ Me disgusta muchísimo más	_____ Me disgusta muchísimo más	_____ Me disgusta muchísimo más	_____ Me disgusta muchísimo más	_____ Me disgusta muchísimo más
Comentarios:	Comentarios:	Comentarios:	Comentarios:	Comentarios:

Figura N° 8. Boleta para prueba hedónica de 9 puntos utilizada para evaluar diferentes variedades de frijol. (20), (41).

El inicio de los tiempos de cocción de cada muestra fue escalonado, de manera que las cinco muestras estuvieran listas al mismo tiempo, esto es, diez minutos antes de que el panel iniciara su trabajo. Veintiocho panelistas sin entrenamiento, seleccionados entre el personal de la institución, evaluaron las cinco muestras, probándolas solamente una vez. Muestras de diez gramos de las cinco variedades de frijol, se presentaron simultáneamente a los panelistas. Las muestras fueron presentadas en vasos pequeños de duroport, con tapadera. Habiendo cinco muestras, el número posible de combinaciones para el orden de presentación se eleva a 120; sin embargo, como se contaba solamente con 28 panelistas, fue imposible equilibrar este elevado número de órdenes de presentación, por esta razón, se aleatorizó el orden de presentación para cada panelista.

Después de que cada panelista hubo evaluado las cinco muestras, las categorías descriptivas se convirtieron en puntajes numéricos. Los puntajes se tabularon y analizaron utilizando análisis de varianza. Los puntajes tabulados para los primeros siete panelistas, se muestran en la tabla N^o 2. El análisis de varianza se hizo empleando solamente los puntajes para los siete panelistas.

Para el análisis de la varianza ANOVA, se realizaron los siguientes cálculos: donde N= número total de respuestas individuales, Σ= suma de los valores.

Factor de corrección:

$$FC = \frac{(\text{Gran total})^2}{N} = \frac{163^2}{35} = 759,1$$

Suma total de los cuadrados:

$$SC(T) = \sum (\text{cada respuesta individual})^2 - FC = (2^2 + 1^2 + \dots + 3^2) - 759,1 = 157,9$$

Suma de los cuadrados de los tratamientos:

$$SC(\text{Tr}) = \frac{[\sum (\text{total de cada tratamiento})^2]}{[\text{número de respuestas por tratamiento}]} - FC$$

$$= \frac{[15^2 + 43^2 + 52^2 + 31^2 + 22^2]}{7} = (6223/7) - 759,1 = 889 - 759,1 = 129,9$$

Suma de los cuadrados del error:

$$SC(E) = SC(T) - SC(\text{Tr}) - SC(P) = 157,9 - 129,9 - 7,9 = 20,1$$

Suma de los cuadrados de los panelistas:

$$Sc(P) = \frac{[\sum (\text{total de cada panelista})^2]}{[\text{número de respuestas por panelista}]} - FC$$

$$\frac{[26^2 + 25^2 + 18^2 + 23^2 + 23^2 + 24^2 + 24^2]}{5} - 759,1 = \frac{(3835)}{5} = 759,1 = 767 - 759,1 = 7,9$$

Los valores cuadráticos medios (CM) se calcularon dividiendo los valores SC entre sus respectivos grados de libertad, como se presenta a continuación:

Total de grados de libertad, gl(T) = Número total de respuestas – 1
= N-1 = 35 – 1 = 34

Grados de libertad de los tratamientos, gl(Tr) = Número de tratamientos – 1
= 5-1 = 4

Grados de libertad de los errores, gl(E) = gl(T) - gl(Tr) - gl(P)
= 34 - 4 - 6 = 24

Grados de libertad de los panelistas, gl(P) = Número de panelistas – 1
= 7-1 = 6

Tabla N^o 2. Puntajes de categorías tabulados para la prueba hedónica.¹

Variedades de frijol negro (tratamientos)							Total de panelistas	Media de los panelistas
Panelistas ²	A	B	C	D	E			
1	2	6	8	6	4	26	5,2	
2	1	7	9	4	4	25	5,0	
3	1	6	6	3	2	18	3,6	
4	2	6	6	5	4	23	4,6	
5	2	6	8	4	3	23	4,6	
6	4	7	7	4	2	24	4,8	
7	3	5	8	5	3	24	4,8	
Total de tratamientos	15	43	52	31	22			
				Gran total		163		
Media de los tratamientos	2,1	6,1	7,4	4,4	3,1			

¹ Puntaje más elevado: 9 ("me gusta muchísimo"); puntaje más bajo: 1 ("me disgusta muchísimo").

² Se presentan y analizan solamente las respuestas de 7 de los 28 panelistas. (20), (41).

$$\begin{aligned} \text{Grados de libertad de los errores, } gl(E) &= gl(T) - gl(Tr) - gl(P) \\ &= 34 - 4 - 6 = 24 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Promedio de los cuadrados de los tratamientos, } CM(Tr) &= SC(Tr)/gl(Tr) \\ &= 129,9/4 = 32,48 \end{aligned}$$

$$\text{Promedio de los de los errores, } CM(E) = SC(E)/gl(E) = 20,1/24 = 0,84$$

$$\begin{aligned} \text{Promedio de los cuadrados de los panelistas, } CM(P) &= SC(P)/gl(P) \\ &= 7,9/6 = 1,32 \end{aligned}$$

Los valores F para tratamientos y panelistas, se calcularon dividiendo sus respectivos valores CM entre el CM del error. Los valores F tabulados se obtuvieron a partir de las tablas estadísticas de distribución F (Anexo N° 7, tabla N° 8). Por ejemplo, para los tratamientos con 4 gl en el numerador y 24 gl en el denominador y p 0,05, las tablas indican una relación F de 2,78. El valor F para panelistas, con 6 gl en el numerador y 24 gl en el denominador a un p= 0,05 es 2,51. Para que se puedan considerar significativos a un valor de 5%, los valores F calculados deben ser superiores a los valores F tabulados. Las sumas de los cuadrados, las medias de los cuadrados, grados de libertad y valores F son sumados en la tabla de ANOVA mostrada en la tabla N° 3. (20), (41).

Tabla N° 3. Tabla de análisis de varianza para la prueba hedónica.

Fuente de variación	gl	SC	CM	Relación F	
				Calculada	Tabular (p ≤ 0,05)
Total (T)	34	157,9			
Tratamiento (Tr)	4	129,9	32,48	38,67	2,78
Panelistas (P)	6	7,9	1,32	1,57	2,51
Error (E)	24	20,1	0,84		

Dado que el valor F calculado para tratamientos es de 38,67 y es superior al valor F tabulado que es de 2,78, se llega a la conclusión de que existe una diferencia significativa ($p=0,05$), entre los puntajes hedónicos promedio, para las cinco variedades de frijol. El valor F calculado para los panelistas fue de 1,57. Este valor no fue mayor al valor F tabulado que es de 2,51; por lo tanto, no se encontró un efecto significativo de panelistas. El análisis de varianza indicó que había diferencias significativas entre las cinco muestras de frijol. (20), (41).

Ejemplo de boleta de una prueba descriptiva.

Nombre: _____	
Fecha: _____	
Reconocimiento de sabores básicos	
<p>Pruebe, en orden descendente, cada una de las soluciones en el orden indicado en la boleta. Las soluciones pueden tener un gusto dulce, ácido, salado o amargo. Entre las soluciones con sabores básicos puede haber una o más muestras que tienen solamente agua. Identifique el sabor de la solución de cada uno de los vasos codificados. Enjuáguese la boca con agua antes de degustar y también entre una muestra y otra. Para aclarar la boca se proporcionan también galletas.</p>	
Código	Sabor
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Figura N^o 9. Boleta de prueba de reconocimiento de sabores básicos. (20), (41).

ANEXO N° 7
TABLAS ESTADÍSTICAS

X	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37									
5	625	312	062																																									
6	688	219	031																																									
7		463	125	016																																								
8		727	289	070	008																																							
9			508	180	039	004																																						
10				754	344	109	021	002																																				
11					549	227	065	011	001																																			
12						774	388	146	039	006																																		
13							581	287	082	022	003																																	
14								791	424	180	057	013	002																															
15									607	302	118	035	007	001																														
16										804	464	210	077	021	004	001																												
17											629	332	143	049	013	002																												
18												815	481	238	096	031	008	001																										
19													648	359	167	064	019	004	001																									
20														824	503	283	115	041	012	003																								
21															664	383	189	078	027	007	001																							
22																832	523	286	134	062	017	004																						
23																	678	405	210	083	035	011	003																					
24																		839	541	307	152	064	023	007	002																			
25																			845	557	327	168	076	029	009	002	001																	
26																				856	585	362	200	099	043	016	005	001																
27																					701	442	248	122	062	019	006	002																
28																						851	572	346	185	087	036	013	004															
29																							711	468	286	136	061	024	008	002	001													
30																								856	585	362	200	099	043	016	005	001												
31																									720	473	281	150	071	030	011	003	003	001										
32																										890	597	377	215	100	060	020	007	002	002	001								
33																											728	497	296	163	080	035	014	006	001									
34																											864	608	392	229	121	068	024	009	003	001								
35																												736	500	310	175	090	041	017	006	002								
36																												888	661	405	243	132	065	029	011	004	001							
37																													743	511	324	188	089	047	020	006	003	001						
38																													871	627	418	266	143	073	034	014	005	002						
39																														749	522	337	200	106	053	024	009	003	001					
40																														875	636	430	268	154	081	038	017	006	002	001				
41																															795	633	349	211	117	060	028	012	004	001				
42																															878	644	441	280	164	088	044	020	008	003	001			
43																																761	542	360	222	126	068	032	014	006	002	001		
44																																880	652	451	291	174	096	049	023	010	004	001		
45																																	786	551	371	233	136	072	036	016	007	002	001	
46																																	883	659	461	302	184	104	064	026	011	005	002	001
47																																		771	560	362	243	144	079	040	019	008	003	001
48																																												
49																																												
50																																												

Nota: Se ha omitido la coma del decimal inicial.

Figura N° 10. Prueba binomial de 2 extremos. Probabilidad de X ó más concordantes en n pruebas (p=1/2). (20), (41).

Tabla N° 5. Diferencias Críticas Absolutas de la Suma de Rangos para las Comparaciones de "Todos los Tratamientos" a un Nivel de Significancia de 1%.

Panelistas	Número de muestras									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
3	—	9	12	14	17	19	22	24	27	30
4	8	11	14	17	20	23	26	29	32	36
5	9	13	16	19	23	26	30	33	37	41
6	10	14	18	21	25	29	33	37	41	45
7	11	15	19	23	28	32	36	40	45	49
8	12	16	21	25	30	34	39	43	48	53
9	13	17	22	27	32	36	41	46	51	56
10	13	18	23	28	33	38	44	49	54	59
11	14	19	24	30	35	40	46	51	57	63
12	15	20	26	31	37	42	48	54	60	66
13	15	21	27	32	38	44	50	56	62	68
14	16	22	28	34	40	46	52	58	65	71
15	16	22	28	35	41	48	54	60	67	74
16	17	23	30	36	43	49	56	63	70	77
17	17	24	31	37	44	51	58	65	72	79
18	18	25	31	38	45	52	60	67	74	81
19	18	25	32	39	46	54	61	69	76	84
20	19	26	33	40	48	55	63	70	78	86
21	19	27	34	41	49	56	64	72	80	88
22	20	27	35	42	50	58	66	74	82	90
23	20	28	35	43	51	59	67	75	84	92
24	21	28	36	44	52	60	69	77	85	94
25	21	29	37	45	53	62	70	79	87	96
26	22	29	38	46	54	63	71	80	89	98
27	22	30	38	47	55	64	73	82	91	100
28	22	31	39	48	56	65	74	83	92	101
29	23	31	40	48	57	66	75	85	94	103
30	23	32	40	49	58	67	77	86	95	105
31	23	32	41	50	59	69	78	87	97	107
32	24	33	42	51	60	70	79	89	99	108
33	24	33	42	52	61	71	80	90	100	110
34	25	34	43	52	62	72	82	92	102	112
35	25	34	44	53	63	73	83	93	103	113
36	25	35	44	54	64	74	84	94	105	115
37	26	35	45	55	65	75	85	95	106	117
38	26	36	45	55	66	76	86	97	107	118
39	26	36	46	56	66	77	87	98	109	120
40	27	36	47	57	67	78	88	99	110	121
41	27	37	47	57	68	79	90	100	112	123
42	27	37	48	58	69	80	91	102	113	124
43	28	38	48	59	70	81	92	103	114	126
44	28	38	49	60	70	82	93	104	115	127
45	28	39	49	60	71	82	94	105	117	128
46	28	39	50	61	72	83	95	106	118	130
47	29	39	50	62	73	84	96	108	119	131
48	29	40	51	62	74	85	97	109	121	133
49	29	40	51	63	74	86	98	110	122	134
50	30	41	52	63	75	87	99	111	123	135
55	31	43	54	66	79	91	104	116	129	142
60	32	45	57	69	82	95	108	121	135	148
65	34	46	59	72	86	99	113	126	140	154
70	35	48	61	75	89	103	117	131	146	160
75	36	50	64	78	92	106	121	136	151	166
80	37	51	66	80	95	110	125	140	156	171
85	38	53	68	83	98	113	129	144	160	176
90	40	54	70	85	101	116	132	149	165	181
95	41	56	71	87	103	120	136	153	169	186
100	42	57	73	89	106	123	140	157	174	191

Tabla N° 6. Diferencias Críticas Absolutas de la Suma de Rangos para las Comparaciones de "Todos los Tratamientos" a un Nivel de Significancia de 5%. (20), (41).

Panelistas	Número de muestras									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
3	6	8	11	13	15	18	20	23	25	28
4	7	10	13	15	18	21	24	27	30	33
5	8	11	14	17	21	24	27	30	34	37
6	9	12	15	19	22	26	30	34	37	42
7	10	13	17	20	24	28	32	36	40	44
8	10	14	18	22	26	30	34	39	43	47
9	10	15	19	23	27	32	36	41	46	50
10	11	15	20	24	29	34	38	43	48	53
11	11	16	21	26	30	35	40	45	51	56
12	12	17	22	27	32	37	42	48	53	58
13	12	18	23	28	33	39	44	50	55	61
14	13	18	24	29	34	40	46	52	57	63
15	13	19	24	30	36	42	47	53	59	66
16	14	19	25	31	37	42	49	55	61	67
17	14	20	26	32	38	44	50	56	63	69
18	15	20	26	32	39	45	51	58	65	71
19	15	21	27	33	40	46	53	60	66	73
20	15	21	28	34	41	47	54	61	68	75
21	16	22	28	35	42	49	56	63	70	77
22	16	22	29	36	43	50	57	64	71	79
23	16	23	30	37	44	51	58	65	73	80
24	17	23	30	37	45	52	59	67	74	82
25	17	24	31	38	46	53	61	68	76	84
26	17	24	32	39	46	54	62	70	77	85
27	18	25	32	40	47	55	63	71	79	87
28	18	25	33	40	48	56	64	72	80	89
29	18	26	33	41	49	57	65	73	82	90
30	19	26	34	42	50	58	66	75	83	92
31	19	27	34	42	51	59	67	76	85	93
32	19	27	35	43	51	60	68	77	86	95
33	20	27	36	44	52	61	70	78	87	96
34	20	28	36	44	53	62	71	79	89	98
35	20	28	37	45	54	63	72	81	90	99
36	20	29	37	46	55	63	73	82	91	100
37	21	29	38	46	55	64	74	83	92	102
38	21	29	38	47	56	65	75	84	94	103
39	21	30	39	48	57	66	76	85	95	105
40	21	30	39	48	57	67	76	86	96	106
41	22	31	40	49	58	68	77	87	97	107
42	22	31	40	49	59	69	78	88	98	109
43	22	31	41	50	60	69	79	89	99	110
44	22	32	41	51	60	70	80	90	101	111
45	23	32	41	51	61	71	81	91	102	112
46	23	32	42	52	62	72	82	92	103	114
47	23	33	42	52	62	72	83	93	104	115
48	23	33	43	53	63	73	84	94	105	116
49	24	33	43	53	64	74	85	95	106	117
50	24	34	44	54	64	75	85	96	107	118
55	25	35	46	56	67	78	90	101	112	124
60	26	37	48	59	70	82	94	105	117	130
65	27	38	50	61	73	85	97	110	122	135
70	28	40	52	64	76	88	101	114	127	140
75	29	41	53	66	79	91	105	118	131	145
80	30	42	55	68	81	94	108	122	136	150
85	31	44	57	70	84	97	111	125	140	154
90	32	45	58	72	86	100	114	129	144	159
95	33	46	60	74	88	103	118	133	148	163
100	34	47	61	76	91	105	121	136	151	167

Tabla N^o 7. Distribución de F al Nivel de Significancia de 1%. (20), (41).

$\nu_1 \backslash \nu_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	4052.2	4999.5	5403.3	5624.6	5763.7	5859.0	5928.3	5981.6	6022.5
2	98.503	99.000	99.166	99.249	99.299	99.332	99.356	99.374	99.388
3	34.116	30.817	29.457	28.710	28.237	27.911	27.672	27.489	27.345
4	21.198	18.000	16.694	15.977	15.522	15.207	14.976	14.799	14.659
5	16.258	13.274	12.060	11.392	10.967	10.672	10.456	10.289	10.158
6	13.745	10.925	9.7795	9.1483	8.7459	8.4661	8.2600	8.1016	7.9761
7	12.246	9.5466	8.4513	7.8467	7.4604	7.1914	6.9928	6.8401	6.7188
8	11.259	8.6491	7.5910	7.0060	6.6318	6.3707	6.1776	6.0289	5.9106
9	10.561	8.0215	6.9919	6.4221	6.0569	5.8018	5.6129	5.4671	5.3511
10	10.044	7.5594	6.5523	5.9943	5.6363	5.3858	5.2001	5.0567	4.9424
11	9.6460	7.2057	6.2167	5.6683	5.3160	5.0692	4.8861	4.7445	4.6315
12	9.3302	6.9266	5.9526	5.4119	5.0643	4.8206	4.6395	4.4994	4.3875
13	9.0738	6.7010	5.7394	5.2053	4.8616	4.6204	4.4410	4.3021	4.1911
14	8.8616	6.5149	5.5639	5.0354	4.6950	4.4558	4.2779	4.1399	4.0297
15	8.6831	6.3589	5.4170	4.8932	4.5556	4.3183	4.1415	4.0045	3.8948
16	8.5310	6.2262	5.2922	4.7726	4.4374	4.2016	4.0259	3.8896	3.7804
17	8.3997	6.1121	5.1850	4.6690	4.3359	4.1015	3.9267	3.7910	3.6822
18	8.2854	6.0129	5.0919	4.5790	4.2479	4.0146	3.8406	3.7054	3.5971
19	8.1850	5.9259	5.0103	4.5003	4.1708	3.9386	3.7653	3.6305	3.5225
20	8.0960	5.8489	4.9382	4.4307	4.1027	3.8714	3.6987	3.5644	3.4567
21	8.0166	5.7804	4.8740	4.3688	4.0421	3.8117	3.6396	3.5056	3.3981
22	7.9454	5.7190	4.8166	4.3134	3.9880	3.7583	3.5867	3.4530	3.3468
23	7.8811	5.6637	4.7649	4.2635	3.9392	3.7102	3.5390	3.4057	3.2986
24	7.8229	5.6136	4.7181	4.2184	3.8951	3.6667	3.4959	3.3629	3.2560
25	7.7698	5.5680	4.6755	4.1774	3.8550	3.6272	3.4568	3.3239	3.2172
26	7.7213	5.5263	4.6366	4.1400	3.8183	3.5911	3.4210	3.2884	3.1818
27	7.6767	5.4881	4.6009	4.1056	3.7848	3.5580	3.3882	3.2558	3.1494
28	7.6356	5.4529	4.5681	4.0740	3.7539	3.5276	3.3581	3.2259	3.1195
29	7.5976	5.4205	4.5378	4.0449	3.7254	3.4995	3.3302	3.1982	3.0920
30	7.5625	5.3904	4.5097	4.0179	3.6990	3.4735	3.3045	3.1726	3.0665
40	7.3141	5.1785	4.3126	3.8283	3.5138	3.2910	3.1238	2.9930	2.8876
60	7.0771	4.9774	4.1259	3.6491	3.3389	3.1187	2.9530	2.8233	2.7185
120	6.8510	4.7865	3.9493	3.4796	3.1735	2.9559	2.7918	2.6629	2.5586
∞	6.6349	4.6052	3.7816	3.3192	3.0173	2.8020	2.6393	2.5113	2.4073

Esta tabla da los valores de F para la que $I_F(\nu_1, \nu_2) = 0.01$.

Tabla N^o 8. Distribución de F al Nivel de Significancia de 5%. (20), (41).

$\nu_1 \backslash \nu_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.330	19.353	19.371	19.385
3	10.128	9.5521	9.2766	9.1172	9.0135	8.9406	8.8868	8.8452	8.8123
4	7.7086	6.9443	6.5914	6.3883	6.2560	6.1631	6.0942	6.0410	6.9988
5	6.6079	5.7861	5.4095	5.1922	5.0503	4.9503	4.8759	4.8183	4.7725
6	5.9874	5.1433	4.7571	4.5337	4.3874	4.2839	4.2066	4.1468	4.0990
7	5.5914	4.7374	4.3468	4.1203	3.9715	3.8660	3.7870	3.7257	3.6767
8	5.3177	4.4590	4.0662	3.8378	3.6875	3.5806	3.5005	3.4381	3.3881
9	5.1174	4.2565	3.8626	3.6331	3.4817	3.3738	3.2927	3.2296	3.1789
10	4.9646	4.1028	3.7083	3.4780	3.3258	3.2172	3.1355	3.0717	3.0204
11	4.8443	3.9823	3.5874	3.3567	3.2039	3.0946	3.0123	2.9480	2.8962
12	4.7472	3.8853	3.4903	3.2592	3.1059	2.9961	2.9134	2.8486	2.7964
13	4.6672	3.8056	3.4105	3.1791	3.0254	2.9153	2.8321	2.7669	2.7144
14	4.6001	3.7389	3.3439	3.1122	2.9582	2.8477	2.7642	2.6987	2.6458
15	4.5431	3.6823	3.2874	3.0556	2.9013	2.7905	2.7060	2.6408	2.5876
16	4.4940	3.6337	3.2389	3.0069	2.8524	2.7413	2.6572	2.5911	2.5377
17	4.4513	3.5915	3.1968	2.9647	2.8100	2.6987	2.6143	2.5480	2.4943
18	4.4139	3.5546	3.1599	2.9277	2.7729	2.6613	2.5767	2.5102	2.4563
19	4.3808	3.5219	3.1274	2.8951	2.7401	2.6283	2.5435	2.4768	2.4227
20	4.3513	3.4928	3.0984	2.8661	2.7109	2.5990	2.5140	2.4471	2.3928
21	4.3248	3.4668	3.0725	2.8401	2.6848	2.5727	2.4876	2.4206	2.3661
22	4.3009	3.4434	3.0491	2.8167	2.6613	2.5491	2.4638	2.3965	2.3419
23	4.2793	3.4221	3.0280	2.7955	2.6400	2.5277	2.4422	2.3748	2.3201
24	4.2597	3.4028	3.0088	2.7763	2.6207	2.5082	2.4226	2.3551	2.3002
25	4.2417	3.3852	2.9912	2.7587	2.6030	2.4904	2.4047	2.3371	2.2821
26	4.2252	3.3690	2.9751	2.7426	2.5868	2.4741	2.3883	2.3205	2.2655
27	4.2100	3.3541	2.9604	2.7278	2.5719	2.4591	2.3732	2.3053	2.2501
28	4.1960	3.3404	2.9467	2.7141	2.5581	2.4453	2.3593	2.2913	2.2360
29	4.1830	3.3277	2.9340	2.7014	2.5454	2.4324	2.3463	2.2782	2.2229
30	4.1709	3.3158	2.9223	2.6896	2.5336	2.4205	2.3343	2.2662	2.2107
40	4.0848	3.2317	2.8387	2.6060	2.4495	2.3359	2.2490	2.1802	2.1240
60	4.0012	3.1504	2.7581	2.5252	2.3683	2.2540	2.1665	2.0970	2.0401
120	3.9201	3.0718	2.6802	2.4472	2.2900	2.1750	2.0867	2.0164	1.9588
∞	3.8415	2.9957	2.6049	2.3719	2.2141	2.0986	2.0096	1.9384	1.8799

Esta tabla da los valores de F para la que $I_F(\nu_1, \nu_2) = 0.05$.

ANEXO N° 8

Limites microbianos en base al Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA). 67.04.50:08. (14).

Cuadro N° 1. Límites microbianos para leche en polvo. (14).

1.4 Subgrupo del alimento: Leche en polvo, mezcla en polvo para helados y crema en polvo			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	10	A	Ausencia
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ² UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	5		< 3 NMP/ g

Cuadro N° 2. Límites microbianos para queso madurado. (14).

1.8 Subgrupo del alimento: Quesos madurados y procesados			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	A	< 10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ³ UFC /g
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i>	10		Ausencia
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	10		Ausencia

Cuadro N° 3. Límites microbianos para queso no madurado. (14).

1.9 Subgrupo del alimento: Quesos frescos, no madurados y requesón			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	A	< 10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	7		10 ³ UFC/g
<i>Listeria monocytogenes/25 g</i>	10		Ausencia
<i>Salmonella ssp/25 g</i>	10		Ausencia

Cuadro N° 4. Límites microbianos para grasas y aceites. (14).

2.0 Grupo de Alimento: Grasas y aceites y emulsiones grasas. Incluye todos los productos a base de grasa de origen vegetal, animal o marino o sus mezclas			
2.1 Subgrupo del alimento: Margarina y otras grasas emulsionadas			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	C	< 3 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus (solo para productos que contienen leche y especias)</i>	7		10 ² UFC/g

Cuadro N° 5. Límites microbianos para harinas. (14).

7.0 Grupo de Alimento: Pan y productos de panadería y pastelería. Incluye las categorías relativas al pan y los productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados y los productos de panadería fina dulces, salados y aromatizados.			
7.1 Subgrupo del alimento: Pan, productos de panadería ordinaria y mezclas en polvo. Frescos o congelados.			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	B	< 3 NMP/g

Cuadro N° 6. Límites microbianos para miel de abeja. (14).

11.0 Grupo de Alimentos: Endulzantes, edulcorantes, incluida la miel de abeja.			
11.1 Subgrupo: Miel y jarabes (Syrup)			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo permitido
Recuento de bacterias anaerobias sulfito reductoras (Solo para miel de abeja)	7	C	10 ² UFC/g

Cuadro N° 7. Límites microbianos para néctares. (14).

14.2. Subgrupo del alimento: Néctares			
Parámetro	Categoría	Tipo de Riesgo	Límite Máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	C	<3 NMP/mL

ANEXO N° 10

Parámetros Físicoquímicos establecidos por la Normativa Salvadoreña.

NSO 67.19.01:08 Miel de abejas. Especificaciones.

Tabla N° 9. Parámetros físicoquímicos de miel de abeja. (10).

Determinación	Tipo de miel	Parámetro
Azúcares reductores	Miel de mielato	Mínimo 60%
	Miel de mielato y su mezcla con miel de flores	Mínimo 45%
Humedad	Todo tipo de miel	Máximo 20%
Sacarosa aparente	Miel de flores	Máximo 5%
	Miel de mielato y sus mezclas.	Máximo 10%
Acidez libre máximo	Todo tipo de miel	50 meq / kg
Hidroximetilfurfural	Todo tipo de miel	Máximo 20 mg/kg

NSO 67.03.02:08 Harina de Maíz Nixtamalizado.

Cuadro N° 8 Requisitos Físicos. (11).

Determinación	Límites máximos
Humedad	14%

Materia extraña, no más de 50 fragmentos de insectos en 50 g de harina y exentos de excretas.

NSO 67.23.02 :06 Grasas y Aceites. Margarina. Especificaciones.

Cuadro N° 9. Requisitos mínimos para margarina. (13).

Característica	Mínimo	Máximo
Acidez, en % en masa de ácido oleico.	—	1,0
Índice de peróxido, en miliequivalentes de peróxido por Kg	—	6,0

NSO 67.01.05 : 95 Leche en Polvo. Especificaciones.

Cuadro N° 10. Especificaciones y características ⁽¹⁷⁾.

Leche entera en polvo	Leche en polvo semidescremada	Leche en polvo descremada
Contenido mín. de materia grasa de leche : 26% m/m	Contenido mín. de materia grasa de leche : 1.3% m/m	Contenido máx. de materia grasa de leche : 1.5 % m/m
Contenido máx. de materia grasa de leche : 40 % m/m	Contenido máx. de materia grasa de leche < 26% m/m	Contenido máx. de humedad de leche : 3.5 % m/m
Contenido máx. de humedad de leche : 3.5 % m/m	Contenido máx. de humedad de leche : 3.5 % m/m	

RTCA 64.04.48:08 Alimentos y Bebidas Procesados. Néctares de frutas.

Especificaciones. ⁽¹²⁾.

Cuadro N° 11 Características de calidad.

Característica	Criterio
pH	Máximo de 4,5
Preservantes	Ausentes
Colorantes	Ausentes

NSO 67.01.3:06 Quesos madurados. Especificaciones.Tabla N^o 10. Características físicoquímicas ⁽¹⁶⁾.

Tipo de queso	Humedad % m/m, máx	Grasa % m/m ext. seco mín.	Ext. seco, m/m, % mín
Cheddar	39	48	61
Dambo	46	45	54
Edam	46	40	54
Gouda	43	48	57
Emmental	40	45	60
Gruyere	38	45	62
Provolone	47	45	53
Camembert	56	45	44
Queso duro para rallar	32	32	68
Tilsiter	47	45	53
Pasta Azul	48	50	52
Parmesano	32	32	61
Romano	34	38	66
Monterrey	44	50	56
Queso Mozzarella	52	20	58

Nota : Otros tipos de quesos madurados no especificados en esta tabla, serán sujetos a análisis del laboratorio del MSPAS para clasificarlos dentro de los rangos establecidos en esta tabla.

NSO 67.01.04:06 Quesos no madurados. Especificaciones.Tabla N^o 11. Características físicoquímicas. (15)

Tipo de queso no madurado	Humedad, % en masa , máximo	Grasa láctea, % en masa, en base húmeda
Queso cottage	80,0	mínimo 4,0
Queso cottage bajo en grasa	80,0	máx. 2,0
Queso ricotta (elaborado solamente con suero de leche)	80,0	Mínimo de 0,5 ⁽¹⁾
Queso crema	55,0	no menor de 33,0
Queso crema bajo en grasa	60,0	Menor o igual a 27,0
Queso fresco, bajo en grasa	70, 0	no menos de 4,0
Queso fresco	65,0	no menor de 8,0
Queso de capas	45,0	20 - 33 %
Queso duro	39,0	no menor de 17,0
Queso mozzarella	60,0	no menor de 18,0
Quesillo alto en grasa	60,0	mayor de 15,0
Quesillo bajo en grasa	65,0	Menor o igual a 15,0
Queso de suero o requesón	80,0	No mayor de 18,0 ⁽²⁾
Queso mantequilla	65,0	No menor de 12,0

(1) Cuando se declare leche entre los ingredientes empleados en la elaboración, el requisito será de 4% como mínimo.

(2) La grasa será ajustada de acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación.

ANEXO N^o 11

A.1.03

AOAC Official Method 939.12 Standard Solution of Arsenious Oxide Final Action

A. Reagent

Arsenious oxide.—Use NIST SRM 83. Dry 1 h at 105° immediately before using.

B. Preparation of Standard Solution

Accurately weigh As_2O_3 by difference from small glass-stoppered weighing bottle (use ca 4.95 g/L for 0.1*M*). Dissolve in 1*N* NaOH (50 mL/5 g As_2O_3) in flask or beaker by heating on steam bath. Add ca same volume 1*N* H_2SO_4 . Cool, quantitatively transfer mixture to volumetric flask, and dilute to volume. (Solution must be neutral to litmus, not alkaline.)

$$\text{Normality} = g \text{ } As_2O_3 \times 4000/\text{mL final volume} \times 197.84$$

References: JAOAC 22, 568(1939); 24, 100, 639(1941).

A.1.04

AOAC Official Method 964.24 Buffer Solutions for Calibration of pH Equipment First Action 1964 Final Action 1965

Use H_2O with pH of ≥ 6.5 but ≤ 7.5 , obtained by boiling H_2O 15 min and cooling under CO_2 -free conditions. Store standard buffer solutions except $Ca(OH)_2$ in bottles of chemically resistant glass. Protect phosphate, borax, and $Ca(OH)_2$ buffers from CO_2 . pH values as function of temperature are given in Table 964.24.

(a) *Potassium tetroxalate buffer solution.*—0.0496*M*; 0.05*m*. Transfer 12.61 g $KHC_2O_4 \cdot H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ (air weight) (NIST SRM 189a) to 1 L volumetric flask, dilute to volume with H_2O , and mix thoroughly. (It is not necessary to remove dissolved CO_2 from the H_2O or to dry salt before weighing.) Prepare fresh every 2 months.

(b) *Potassium hydrogen tartrate buffer solution.*—Saturated solution at 25°, 0.034*M*. Add excess (ca 100%) of $KHC_4H_4O_6$ (NIST

SRM 188) to H_2O in glass-stoppered bottle or flask, and shake vigorously; few min shaking is enough for saturation (100 mL H_2O at 25° dissolves ca 0.7 g $KHC_4H_4O_6$). Adjust to 25°, let solid settle, and decant clear solution, or filter if necessary. Discard when mold appears. Few crystals of thymol added during preparation will retard mold growth, and will alter pH by unit. For accuracy of ± 0.01 pH unit, temperature of solution at saturation must be between 20 and 30°.

(c) *Acid potassium phthalate buffer solution.*—0.0496*M*; 0.05*m*. Dissolve 10.12 g dried (2 h at 110°) $KHC_8H_4O_4$ (NIST SRM 185g) in H_2O and dilute to 1 L. (Elaborate precautions for exclusion of atmospheric CO_2 are unnecessary, although solution should be protected against evaporation and contamination with molds. Replace solution if mold appears.)

(d) *Phosphate buffer solution.*—0.0249*M*; 0.025*m*. Dissolve 3.387 g KH_2PO_4 and 3.533 g Na_2HPO_4 (NIST SRM 186e-I and II) in H_2O and dilute to 1 L. (Dry salts 2 h at 110–130° before use.)

(e) *Phosphate buffer solution.*—0.008663*M*, 0.008695*m* KH_2PO_4 and 0.03030*M*, 0.03043*m* Na_2HPO_4 . Dissolve 1.179 g KH_2PO_4 and 4.303 g Na_2HPO_4 (NIST SRM 186e-I and II) in H_2O and dilute to 1 L. (Dry salts 2 h at 110–130° before use.)

(f) *Borax buffer solution.*—0.00996*M*; 0.01*m*. Dissolve 3.80 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ (NIST SRM 187c) in H_2O and dilute to 1 L. (Salt must not be dried in oven before use.) To avoid contamination with CO_2 , stopper bottle except when in use or protect with soda-lime tube. Use buffer solution within 10 min after removal from bottle.

(g) *Sodium bicarbonate-carbonate buffer solution.*—0.0249*M*; 0.025*m* (each). Transfer 2.092 g $NaHCO_3$ (NIST SRM 191a; do not heat) and 2.640 g Na_2CO_3 (NIST SRM 192a; dry 2 h at 275°) to 1 L volumetric flask. Dissolve and dilute to volume with CO_2 -free H_2O .

(h) *Calcium hydroxide buffer solution.*—Saturated solution at 25°, 0.02025*M*. Slowly heat finely granular $CaCO_3$, low in alkalis, to 1000° in Pt dish and maintain at this temperature 45–60 min. Cool in desiccator, and add to H_2O with stirring. Heat to bp with continuous stirring. Cool, and filter on medium fritted glass filter. Dry at 110°, cool, and crush to fine, granular powder.

Place crushed CaO in polyethylene bottle, add H_2O , shake vigorously, let settle, and record temperature. (Keep large excess of $Ca(OH)_2$ in bottle.) For use, filter solution through medium fritted glass filter. Use at same temperature at which saturation took place, and discard filtered solution if it becomes turbid. When more buffer

Table 964.24 pH Values for Standard Buffer Solutions as Function of Temperature

Temperature °C	0.05 <i>m</i> Potassium Tetroxalate	Satd Potassium Hydrogen Tartrate	0.05 <i>m</i> Acid Potassium Phthalate	0.025 <i>m</i> Phosphate	0.008695 <i>m</i> and 0.03043 <i>m</i> Phosphate	0.01 <i>m</i> Borax	0.025 <i>m</i> $NaHCO_3$ and 0.025 <i>m</i> Na_2CO_3	Satd Calcium Hydroxide
	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH	pH
0	1.666	—	4.003	6.982	7.534	9.460	10.321	13.423
5	1.668	—	3.998	6.949	7.501	9.392	10.248	13.207
10	1.670	—	3.996	6.921	7.472	9.331	10.181	13.003
15	1.672	—	3.996	6.898	7.449	9.276	10.120	12.810
20	1.675	—	3.999	6.878	7.430	9.227	10.064	12.627
25	1.679	3.557	4.004	6.863	7.415	9.183	10.014	12.454
30	1.683	3.552	4.011	6.851	7.403	9.143	9.968	12.289
35	1.688	3.549	4.020	6.842	7.394	9.107	9.928	12.133
37	1.691	3.548	4.024	6.839	7.392	9.093	—	12.043
40	1.694	3.547	4.030	6.836	7.388	9.074	9.891	11.984
45	1.700	3.547	4.042	6.832	7.385	9.044	9.859	11.841
50	1.707	3.549	4.055	6.831	7.384	9.017	9.831	11.705
55	1.715	3.554	4.070	—	—	—	—	11.574
60	1.723	3.560	4.085	—	—	—	—	11.449

ANEXO N° 12

44.4.04

AOAC Official Method 969.38

Moisture in Honey

Final Action

A. Direct Drying

Proceed as in 925.45C or D (see 44.1.03), using weighed sample sufficient to yield ca 1 g solids. Add, if necessary, few mL H₂O to incorporate sample thoroughly with the sand. Dry at <70° (preferably 60°) under pressure ≤50 mm Hg (6.7 kPa).

B. By Means of Refractometer

Determine refractometer reading of honey at 20° and obtain corresponding % moisture from Table 969.38. If determination is made at temperature other than 20°, correct reading to standard temperature of 20° according to footnote.

Reference: JAOAC 52, 729(1969).

Table 969.38 Relationship Between Refractive Index and Water Contents of Honey^a

Water Content, %	Refractive Index			Water Content, %	Refractive Index		
	20° C ^b	60° F ^c	40° C		20° C ^b	60° F ^c	40° C
13.0	1.5044	1.5053	1.4998	19.0	1.4890	1.4900	1.4845
13.2	1.5038	1.5048	1.4993	19.2	1.4885	1.4895	1.4840
13.4	1.5033	1.5043	1.4988	19.4	1.4880	1.4890	1.4835
13.6	1.5028	1.5038	1.4983	19.6	1.4875	1.4885	1.4829
13.8	1.5023	1.5033	1.4978	19.8	1.4870	1.4880	1.4824
14.0	1.5018	1.5027	1.4973	20.0	1.4865	1.4875	1.4819
14.2	1.5012	1.5022	1.4968	20.2	1.4860	1.4870	1.4814
14.4	1.5007	1.5017	1.4962	20.4	1.4855	1.4865	1.4809
14.6	1.5002	1.5012	1.4957	20.6	1.4850	1.4860	1.4804
14.8	1.4997	1.5007	1.4952	20.8	1.4845	1.4855	1.4799
15.0	1.4992	1.5002	1.4947	21.0	1.4840	1.4850	1.4794
15.2	1.4987	1.4997	1.4942	21.2	1.4835	1.4845	1.4788
15.4	1.4982	1.4992	1.4937	21.4	1.4830	1.4840	1.4783
15.6	1.4976	1.4986	1.4932	21.6	1.4825	1.4835	1.4777
15.8	1.4971	1.4981	1.4927	21.8	1.4820	1.4830	1.4773
16.0	1.4966	1.4976	1.4922	22.0	1.4815	1.4825	1.4768
16.2	1.4961	1.4971	1.4916	22.2	1.4810		
16.4	1.4956	1.4966	1.4911	22.4	1.4805		
16.6	1.4951	1.4961	1.4906	22.6	1.4800		
16.8	1.4946	1.4956	1.4901	22.8	1.4795		
17.0	1.4940	1.4951	1.4896	23.0	1.4790		
17.2	1.4935	1.4946	1.4891	23.2	1.4785		
17.4	1.4930	1.4940	1.4886	23.4	1.4780		
17.6	1.4925	1.4935	1.4881	23.6	1.4775		
17.8	1.4920	1.4930	1.4876	23.8	1.4770		
18.0	1.4915	1.4925	1.4870	24.0	1.4765		
18.2	1.4910	1.4920	1.4865	24.2	1.4760		
18.4	1.4905	1.4915	1.4860	24.4	1.4755		
18.6	1.4900	1.4910	1.4855	24.6	1.4750		
18.8	1.4895	1.4905	1.4850	24.8	1.4745		
				25.0	1.4740		

^a Values for 20°C and 60°F are Wedmore's calculations (Bee World 36, 197(1955)); 40°C values are calculated from Auerbach and Borries equation (Z. Nahr. Genussm. 22, 353-358(1924)). Values >22.0% were extended by FAO/WHO Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling (1966).

^b If refractive index is measured at temperature above (below) 20°C, add (subtract) 0.00023/F above (below) 20°C before using table.

^c If refractive index is measured at temperature above (below) 60°F, add (subtract) 0.00013/F above (below) 60°F before using table.