

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**Determinación de puntos críticos de control en el proceso de elaboración artesanal de una bebida a base de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet) y su calidad microbiológica en producto final**

**Disertación previa a la obtención del título de Microbióloga**

**JESSICA DAYANA CISNEROS CORRALES**

**QUITO, 2019**

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación en Microbiología de la Srta. Jessica Dayana Cisneros Corrales ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Mtr. Elena Granda Moreno  
DIRECTORA DE LA DISERTACIÓN

Quito, 19 de noviembre de 2019

## **DEDICATORIA**

A Dios, a mis padres, a mi hermano y a toda mi familia, por siempre estar conmigo  
apoyándome.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme culminar una etapa importante en mi vida.

A mis padres Edison y Mery por su amor incondicional y siempre ser mi apoyo.

A mi hermano Patricio, por ser mi ejemplo a seguir y siempre motivarme a ser mejor.

A mis abuelitos, Carmen y Aurelio por estar siempre preocupados y pendientes de mí.

A mis amigos que han estado siempre presentes en las buenas y malas, dándome consejos y compartiendo momentos inolvidables.

A todos mis compañeros y personas con las que compartí muchos momentos durante toda la carrera.

A la Master Elena Granda, mi directora de disertación por ayudarme con sus conocimientos y ser mi guía en este trabajo de investigación.

A aquellos profesores que compartieron sus conocimientos a lo largo de la carrera.

A todos, muchas gracias por haber creído en mí.

## TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN.....	II
DEDICATORIA.....	III
AGRADECIMIENTOS.....	IV
TABLA DE CONTENIDOS.....	V
LISTADO DE FIGURAS.....	VII
LISTADO DE TABLAS.....	VIII
LISTADO DE ANEXOS .....	IX
1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT .....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
3.1. ANTECEDENTES .....	3
3.2. CHOCHO VARIEDAD INIAP 450 ANDINO.....	3
3.3. BEBIDA DE CHOCHO Y SUS COMPONENTES .....	4
3.3.1. JÍCAMA ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) .....	4
3.3.2. CACAO ( <i>Theobroma cacao</i> ) .....	4
3.3.3. CARBOXIMETILCELULOSA (CMC) .....	4
3.4. PUNTO CRÍTICO DE CONTROL .....	5
3.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	5
3.6. OBJETIVOS .....	7
3.6.1. OBJETIVO GENERAL .....	7
3.6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	7
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
4.1. TIPO DE ESTUDIO .....	8
4.2. PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS .....	8
4.2.1. PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO .....	8
4.2.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO .....	10
4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS .....	11
4.3.1. DETERMINACIÓN DE MESÓFILOS AEROBIOS .....	11
4.3.2. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y <i>Escherichia coli</i> ....	12
4.3.3. DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS.....	14
4.3.4. DETERMINACIÓN DE <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
4.5. CONTROL DE CALIDAD .....	16
4.5.1. CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PEPTONADA.....	17

4.5.2. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM MESÓFIOS AEROBIOS .....	17
4.5.3. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM COLIFORMES/ <i>Escherichia coli</i> .....	17
4.5.4. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
5. RESULTADOS .....	18
5.1. RESULTADOS DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO.....	18
5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE CHOCHO .....	23
5.3. CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS (PLACAS PETRIFILM).....	24
5.4. RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PEPTONADA BUFFERADA.....	24
6. DISCUSIÓN.....	24
6.1. PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO .....	24
6.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE CHOCHO.....	26
7. CONCLUSIONES.....	27
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
9. FIGURAS .....	32
10. TABLAS.....	38
11. ANEXOS.....	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Árbol de decisiones para determinar un Punto Crítico de Control (PCC).....	32
<b>Figura 2:</b> Pelado del chocho.....	33
<b>Figura 3:</b> Escaldado del chocho.....	33
<b>Figura 4:</b> Estilado del chocho.....	33
<b>Figura 5:</b> Licuado del chocho.....	34
<b>Figura 6:</b> Extracción o cernido.....	34
<b>Figura 7:</b> Mezclado de ingredientes líquidos y sólidos.....	34
<b>Figura 8:</b> Pasteurización de la bebida de chocho.....	35
<b>Figura 9:</b> Envasado de la bebida de chocho.....	35
<b>Figura 10 :</b> Control positivo Placa Petrifilm de <i>Staphylococcus aureus</i> con cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	36
<b>Figura 11:</b> Control positivo placa <i>Escherichia coli</i> / Coliformes totales con cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048.....	36
<b>Figura 12:</b> Control de Blanco de esterilidad de Placas Petrifilm más Agua Peptonada Bufferada estéril: Placa Petrifilm de Mesófilos Aerobios, <i>Staphylococcus aureus</i> , Coliformes/ <i>Escherichia coli</i> y Mohos y levaduras. ....	37

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Sistema de preguntas para deducir un PCC.....	19
<b>Tabla 2:</b> Resumen de resultados de preguntas para determinar PCC.....	20
<b>Tabla 3:</b> Especificaciones de calidad del producto desamargado mediante el proceso térmico-hídrico.....	20
<b>Tabla 4:</b> Resumen de resultados del análisis microbiológico de la bebida de chocho como producto final.....	23
<b>Tabla 5:</b> Requisitos para el análisis microbiológico del chocho desamargado.....	26
<b>Tabla 6:</b> Resultados de las muestras 1-10 analizadas.....	38
<b>Tabla 7:</b> Resultados de las muestras 11-20 analizadas.....	40
<b>Tabla 8:</b> Resultados de las muestras 21-30 analizadas.....	41

## LISTADO DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> INIAP 450 Andino, variedad de chocho ( <i>Lupinus mutabilis</i> Sweet) .....	43
<b>Anexo 2:</b> Componentes de la bebida de chocho: Jarabe de Jícama, Cacao (Pacari) y CMC (Carboximetilcelulosa) .....	46
<b>Anexo 3:</b> Hoja de control de temperatura y humedad del laboratorio de Nutrición.....	46
<b>Anexo 4:</b> Registro primario de muestras: muestras N° 1-10 y muestras N° 11-30.....	47
<b>Anexo 5:</b> Guía de interpretación Placa Petrifilm Mesófilos Aerobios.....	49
<b>Anexo 6:</b> Ficha Técnica del Agua Peptonada Bufferada.....	53
<b>Anexo 7:</b> Guía de interpretación Placa Petrifilm Coliformes Totales/ <i>Escherichia coli</i> ....	55
<b>Anexo 8:</b> Guía de interpretación Placa Petrifilm Mohos y levaduras.....	59
<b>Anexo 9:</b> Guía de interpretación Placa Petrifilm <i>Staphylococcus aureus</i> .....	63
<b>Anexo 10:</b> Pipeta automática (Código de bienes) .....	66
<b>Anexo 11:</b> Grupo de Placas Petrifilm (Certificados de análisis) .....	67
<b>Anexo 12:</b> Incubadora de 35°C-37°C (Código de bienes) .....	71
<b>Anexo 13:</b> Incubadora de 25°C (Código de bienes) .....	71
<b>Anexo 14:</b> Autoclave (Código de bienes) .....	72
<b>Anexo 15:</b> Norma INEN-NTE 2390:2004.....	73

## 1. RESUMEN

El chocho o tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) es una leguminosa que se produce en la zona andina de América del Sur. Se caracteriza por su alto contenido de proteína, por lo que posee un alto valor nutricional. La bebida de chocho elaborada artesanalmente consiste en un proceso en el cual se obtiene el extracto acuoso del grano y al aumentar ingredientes como jarabe de jícama, cacao, carboximetilcelulosa (CMC) (estabilizante) y esencia de chocolate mejora el producto final tanto en sus condiciones sensoriales como nutricionales.

Para el estudio, se determinó los puntos críticos de control (PCC) en el proceso de producción de esta bebida y se realizó un análisis microbiológico para determinar si la bebida es apta microbiológicamente o no para el consumo humano.

Para obtener los PCC en el proceso de producción de la bebida de chocho se realizó un flujograma para determinar en base a un árbol de decisiones, cuáles fueron los puntos críticos de control. Se evaluó la calidad microbiológica de la bebida de chocho, aplicando la NTE INEN 2390:2004, que establece los parámetros específicos para el uso del chocho desamargado para el consumo humano. Este procedimiento se realizó utilizando Placas Petrifilm para determinar mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos – levaduras, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Para el control de calidad de las Placas Petrifilm se utilizaron cepas ATCC en caldo BHI de *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* entregadas por docencia de la Carrera de Microbiología.

Como resultado, se determinó que los puntos críticos de control en el proceso de producción de la bebida de chocho se encuentran en las etapas de escaldado y pasteurización. Por otro lado, el resultado del análisis microbiológico evidenció la ausencia de los microorganismos antes mencionados, lo que demuestra que la bebida cumple con los requisitos microbiológicos de acuerdo con la NTE INEN 2390:2004.

En conclusión, la bebida de chocho como producto final analizada en este estudio, es apta microbiológicamente para el consumo humano; además la determinación de 2 puntos críticos de control en el proceso de producción.

**Palabras claves:** chocho, bebida de chocho, punto crítico de control (PCC), calidad microbiológica.

## 2. ABSTRACT

Chocho or tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) is a legume that grows in the Andean region of South America. It is characterized by its high protein content; therefore, it has a high nutritional value. The craft chocho drink is a process in which the aqueous extract of the grain is obtained and by increasing ingredients such as jicama syrup, cocoa, carboxymethylcellulose (CMC) (stabilizer) and chocolate essence, improves the final product nutritionally and regarding sensory conditions.

For the study, different critical control points (CCP) in the production process were determined, in addition a microbiological analysis was performed to determine if the beverage is microbiologically suitable or not for human consumption.

To obtain the PCC in the chocho beverage production process, a flowchart was made in which it was determined, based on a decision tree, which were the critical control points. In addition, the microbiological quality of the chocho drink was made by applying NTE: INEN 2390: 2004, which establishes the specific parameters for the use of the debittered chocho for human consumption. This procedure was performed using Petrifilm Plates to determine aerobic mesophiles, total coliforms, molds - yeasts, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. For quality control of the Petrifilm plates, ATCC strains were used in BHI broth containing *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*, delivered by the professors of the Microbiology career.

As a result, it was determined that the critical control points in the chocho beverage production process are in the scalding and pasteurization stages. On the other hand, the result of the microbiological analysis evidenced the absence of the aforementioned microorganisms, which shows that the beverage meets the microbiological requirements according to the NTE: INEN 2390: 2004.

In conclusion, the chocho drink as the final product analyzed in this study is microbiologically suitable for human consumption and in addition, two critical control points were determined in the manufacturing process.

**Keywords:** chocho, chocho drink, critical control point (CCP), microbiological quality, Petrifilm plates

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.1. ANTECEDENTES**

El chocho o tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) es una leguminosa que se produce en la zona andina de América del Sur. En nuestro país este grano es cultivado en la región Sierra (Peralta & Caicedo, 2000). Las provincias con mayor producción en Ecuador son: Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha e Imbabura (Peralta, 2016). Se caracteriza por su alto contenido de proteínas (Chamba, Suquilanda & Vásquez, 2016), por lo cual posee un alto valor nutricional y puede ser usado como un complemento alimenticio (Universidad Católica Sedes Sapientiae, 2015).

En el 2013, el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), investigó acerca de las propiedades nutritivas del chocho comprobando un alto contenido de proteína. El mineral predominante en el chocho es el calcio, con una concentración promedio de 0,48% y otros minerales como: fósforo y hierro. Además, contiene un alto contenido de proteína y grasas (Tapia, Morón, Ayala & Fries, s.f).

#### **3.2. CHOCHO VARIEDAD INIAP 450 ANDINO**

La variedad INIAP 450 ANDINO es un cultivo de hábito de crecimiento herbáceo, precoz, con cierta susceptibilidad a plagas y enfermedades foliares y radicales. El rendimiento de esta variedad es superior en un 183% al rendimiento promedio de ecotipos locales. El grano de esta variedad tiene un diámetro mayor a 8 mm, de color crema y redondo (INIAP, 2010).

La variedad antes mencionada tiene un proceso de eliminación de alcaloides, que consiste en realizar tres procesos: hidratación (14 horas), cocción (45 minutos) y desamargado (3 días con agua en movimiento). Además, se recomienda utilizar agua potable y hervir por 10 minutos el grano antes de consumir (INIAP,2010). (Ver Anexo 1)

Los alcaloides se encuentran en una proporción de 1-4% y general un sabor amargo en el chocho y pueden ser tóxicos. Por lo tanto, deben ser eliminados adecuadamente antes del consumo de esta leguminosa (Fernández, 2017).

### **3.3. BEBIDA DE CHOCHO Y SUS COMPONENTES**

La leche de chocho es una bebida natural que se extrae a través de un proceso artesanal de licuado mediante el cual se obtiene el extracto acuoso del grano (Lita & Vásquez. 2013). Para aumentar el valor nutricional de esta bebida se agregan otros ingredientes como cacao, jarabe de jícama, estabilizantes y esencia de chocolate, que contienen nutrientes como: proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas, entre otros (Rafecas & Codony, 2000; Rossignoli, 2014). Los mismos mejoran el producto final y al agregar estos ingredientes se pueden mejorar las condiciones sensoriales como apariencia, olor y sabor del producto.

#### **3.3.1. JÍCAMA (*Smallanthus sonchifolius*)**

La jícama (*Smallanthus sonchifolius*) es un tubérculo que crece en altitudes medianas en países de Sudamérica (Balladares y Travez, 2009). En Ecuador es conocida como una fruta fresca con gran aporte nutricional, medicinal con un bajo contenido en calorías, además de ser un edulcorante natural. Posee una gran cantidad de agua, proteína, fibra, ceniza, carbohidratos y fructosa-oligosacarina que brinda un sabor dulce (Campaña, 2013) (Ver Anexo 2). El jarabe de jícama es un sustituto ante el uso de azúcar, que se extrae a partir del jugo de dicho tubérculo (Marcial, 2008).

#### **3.3.2. CACAO (*Theobroma cacao*)**

El cacao (*Theobroma cacao*) es una fruta que después de un amplio proceso se utiliza para la elaboración de diferentes productos como el chocolate. El cacao en polvo contiene mayor contenido de manteca de cacao natural, proporciona un agradable sabor en diferentes bebidas y no posee azúcar. Se obtiene cuando las semillas de cacao pasan por un proceso de secado y molido (De La Cruz, Vargas & Del Angel Coronel, s.f) (Ver Anexo 2).

#### **3.3.3. CARBOXIMETILCELULOSA (CMC)**

La carboximetilcelulosa (CMC) es un compuesto orgánico en polvo derivado de la celulosa. No posee sabor, es incoloro, inodoro, no tóxico; permitido por la Unión Europea y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés). Es un estabilizante utilizado en la industria de alimentos. Este producto no es metabolizado por el

cuerpo humano por lo cual su utilización ha sido aprobada en alimentos bajos en calorías (Chemical Food, 2019) (Ver Anexo 2).

### **3.4. PUNTO CRÍTICO DE CONTROL**

“Un punto crítico de control (PCC) es la fase en la que puede aplicarse un control y que es esencial para prevenir o eliminar un peligro relacionado con la inocuidad de los alimentos o para reducirlo a un nivel aceptable” (FAO, 1997).

Dentro de la determinación de un PCC, primero se debe revisar los tipos de peligros identificados (biológicos, químicos y físicos), además la verificación in situ, para evaluar si estos peligros pueden ser controlados con la aplicación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) (FAO, 1997).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) (1997), la determinación de un PCC puede verse facilitado por la aplicación de un árbol de decisiones que consiste en una serie sistemática de cuatro preguntas destinadas a determinar si el peligro identificado es o no un PCC (Ver figura 1).

Además, se debe tomar en cuenta que para responder las preguntas de determinación de Puntos Críticos de Control es necesario contar con un flujograma de procesos. Según la FAO (1997), un flujograma de procesos es una representación sistemática de la secuencia de fases u operaciones llevadas a cabo en la producción o elaboración de un determinado producto alimenticio. De esta manera se puede ofrecer un producto final libre de peligros químicos, físicos y biológicos que cuenten con la inocuidad adecuada para el consumidor.

### **3.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

Ejecutar un análisis microbiológico de calidad es fundamental, debido a que establece si el alimento es apto o no para el consumo (FAO, 1997). Mediante la determinación de diferentes parámetros se especifica la cantidad de microorganismos que pueden estar presentes en el alimento o en el producto final (Moragas & De Pablo, 2017). Estos parámetros se encuentran establecidos y estandarizados por diferentes entidades de control como la FAO, la cual regula los requisitos generales para la higiene de alimentos a partir de Normas Alimentarias (FAO, 1998).

La contaminación por microorganismos en alimentos se puede producir en cualquier etapa del proceso de fabricación, por lo tanto, debe existir una manipulación adecuada de todos los componentes que se utilizan al procesar este producto y determinar los posibles puntos críticos de control (Pelayo, 2008).

Debido a que el producto tiene una elaboración artesanal y parte de una matriz leguminosa cruda (chocho), se consideró analizar los parámetros microbiológicos descritos en la “NTE INEN<sup>1</sup> 2390:2004 Leguminosas. Grano desamargado de Chocho. Requisitos”. Esta normativa indica los requisitos de calidad que debe cumplir el grano de chocho desamargado para consumo humano y son: composición química, análisis microbiológico y análisis físico (INEN, 2005).

Dentro de los microorganismos a ser analizados están indicadores de contaminación como son: Mesófilos aerobios, Coliformes totales, Mohos, levaduras; y los indicadores específicos como *Escherichia coli*. Además, debido a que hay manipulación directa del producto en los procesos de retiro de la cáscara y lavado, se quiere descartar una contaminación cruzada de portadores asintomáticos de *Staphylococcus aureus* en la matriz chocho.

Los mesófilos aerobios son microorganismos capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura entre 20° y 45°C siendo su temperatura óptima entre 30° y 40°C (ANMAT, 2014). Es importante la determinación de estos microorganismos debido a que reflejan la calidad sanitaria, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima en el proceso de producción (Campuzano, Mejía, Madero y Pabón, 2015).

Según la OPS (2018), los coliformes totales y *Escherichia coli* son microorganismos indicadores de la familia Enterobacteriaceae -que incluyen coliformes ambientales y los de origen fecal- y muestran contaminación del agua y alimentos. Estas bacterias son bacilos Gram negativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos, los cuales fermentan la lactosa con producción de gas y se desarrollan a una temperatura de 35°-37°C durante 24 – 48 horas (Campuzano, Mejía, Madero y Pabón, 2015).

Los hongos son organismos eucariontes, que producen esporas, no tienen clorofila y que presentan diferentes formas, incluidos mohos y levaduras (Universidad Nacional del

---

<sup>1</sup> NTE INEN es la abreviatura para Norma Técnica Ecuatoriana del Instituto Ecuatoriano de Normalización

Nordeste, 2007). Los mohos son hongos multicelulares filamentosos con micelio verdadero. Las levaduras son hongos unicelulares anaerobios de forma esférica u ovalada (Campuzano, Mejía, Madero y Pabón, 2015). Estos microorganismos pueden producir toxinas que afectan a la salud humana o el deterioro de alimentos (OPS, 2018).

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva de forma esférica que se agrupa en racimos y se desarrolla a una temperatura de 35°-37°C (Perdomo y Meléndez, 2004). Es un microorganismo potencialmente patógeno, que produce un grupo de enzimas y citotoxinas, que incluyen hemolisinas, nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasa que pueden causar intoxicación en el huésped al ingerir alimentos contaminados (Campuzano, Mejía, Madero y Pabón, 2015). Además, es una de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Zendejas, Avalos y Soto, 2014).

Debido a la problemática, se propone resolver las siguientes preguntas de investigación: a) ¿Existe la presencia de coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos, levaduras, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en una bebida de chocho elaborada artesanalmente como producto final? b) ¿La bebida de chocho elaborada artesanalmente es apta microbiológicamente para el consumo? y c) ¿Cuáles son los puntos críticos de control en el proceso de elaboración de la bebida de chocho?

### **3.6. OBJETIVOS**

#### **3.6.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar los Puntos Críticos de Control en el proceso de elaboración artesanal de una bebida a base de chocho y la calidad microbiológica en el producto final.

#### **3.6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar mediante técnicas microbiológicas la calidad de la bebida de chocho como producto final en cumplimiento de Normas INEN.
- Determinar indicadores de contaminación en la bebida de chocho para realizar las acciones correctivas en el proceso de elaboración de la misma.

- Determinar indicadores específicos de contaminación en la bebida de chocho para realizar las acciones correctivas en el proceso de elaboración de la bebida de chocho.
- Determinar los puntos críticos de control en el proceso de elaboración de la bebida de chocho.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. TIPO DE ESTUDIO**

El estudio fue de tipo descriptivo-experimental. De tipo experimental porque se determinó la calidad microbiológica de la bebida de chocho como un producto final de consumo humano. Además, el tipo de investigación fue descriptiva debido a que se determinó cuáles fueron los puntos críticos de control en el proceso de obtención de dicho producto. Finalmente, el estudio fue cuantitativo al considerar la cantidad de microorganismos presentes en el producto final y cualitativo al describir los puntos críticos de control presentes en la producción de la bebida de chocho.

### **4.2. PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS**

El muestreo fue aleatorio, se realizó el día en el que se finalizó la producción de la bebida de chocho. Se tomó 6 frascos de 220 ml que se encontraban en refrigeración a una temperatura de 4-6°C.

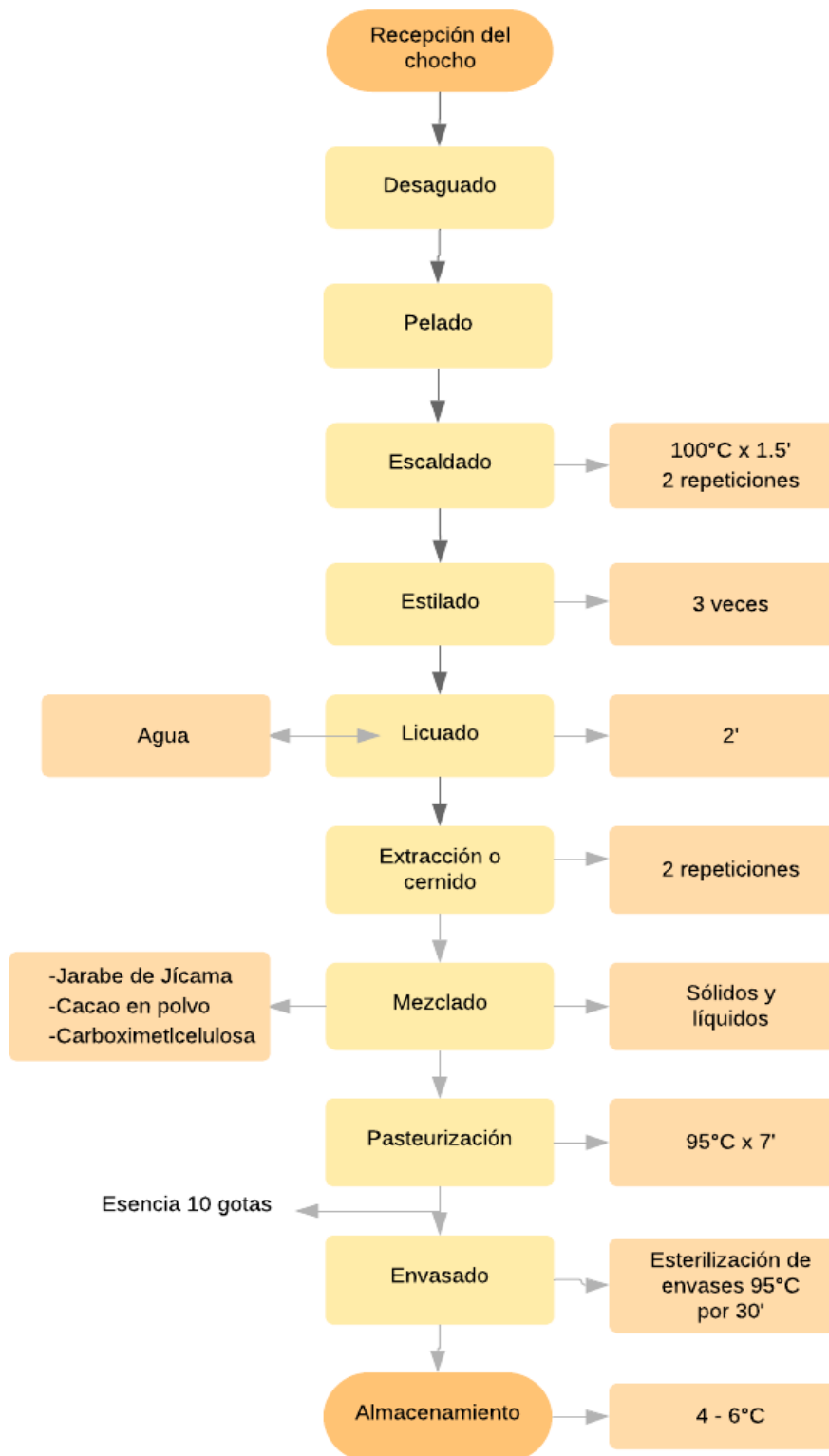
#### **4.2.1. PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO**

El estudio se realizó en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, en el Laboratorio de Nutrición perteneciente a la Facultad de Enfermería, en donde se elaboró la bebida de chocho de forma artesanal.

Se registró la temperatura y humedad del laboratorio de Nutrición utilizando un Termohigrómetro (CBPUCE 0807617) antes, durante y al término de la producción de la bebida de chocho. La temperatura del laboratorio fue de 22°C hasta 25.3°C y a una humedad del 20%, la cual se mantuvo estable durante toda la producción, los registros constan en la Hoja de control de Temperatura y Humedad (Ver Anexo 3).

El procedimiento para la obtención de la bebida se describe en el siguiente flujograma:

## Diagrama de flujo de la elaboración de una bebida de chocho



#### 4.2.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

**Recepción del chocho:** Se receipta el chocho seco y se pesa la cantidad a utilizar en la producción

**Desaguado:** Se coloca los chochos en agua potable para remojarlos y así eliminar su sabor amargo. Posteriormente se enjuaga con agua potable para eliminar impurezas.

**Pelado:** Se retira la cáscara del chocho (la cáscara no es utilizada en el proceso de producción, se utiliza únicamente el chocho pelado y lavado) (Figura 2).

**Escaldado:** Se realiza a una temperatura de 100°C por 1.5 minutos. Se realiza este proceso por duplicado y en el segundo escaldado se agrega bicarbonato de sodio. Esto tiene como objetivo eliminar los restos de alcaloides que posee el chocho (Figura 3).

**Estilado:** Se lava los chochos con una abundante cantidad de agua potable para eliminar las impurezas que puedan existir después del proceso de escaldado (Figura 4).

**Licuadao:** Los chochos se licuan con agua embotellada en una licuadora o thermomix en una proporción peso/volumen (40% chochos / 60% agua) (Figura 5).

**Extracción o cernido:** En esta etapa se extrae el líquido después de licuar los granos de chochos. Se lo realiza en dos repeticiones, con dos mallas de filtración diferentes (Figura 6).

**Mezclado:** Se realiza la mezcla en alícuotas de los ingredientes líquidos (Jarabe de jícama) y sólidos (Cacao y CMC) con la bebida de chocho obtenida (Figura 7).

**Pasteurización:** Este tratamiento térmico se lo realiza a una temperatura de 95°C por 7 minutos. El objetivo de este proceso es eliminar y destruir microorganismos patógenos que puedan estar presentes en la bebida de chocho y que podrían afectar a la salud del consumidor (Figura 8).

**Envasado:** Después del proceso de pasteurización la bebida se envasa en recipientes de vidrio previamente esterilizados (30 minutos a 95°C). Al momento del envasado se coloca en cada recipiente el aroma a chocolate y se cierra. (Figura 9).

**Almacenamiento:** La bebida de chocho se coloca en refrigeración a una temperatura de 4-6°C.

### 4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Para garantizar la inocuidad de la bebida de chocho se realizó pruebas microbiológicas, con la determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos/levaduras y patógenos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Una vez finalizado el proceso de elaboración de la bebida de chocho, los 6 recipientes que contenían las muestras de 220 ml se trasladaron al laboratorio 108 en el edificio de Microbiología a una temperatura de 7°C en un cooler.

Se realizó un registro primario de las muestras recibidas antes del análisis dentro del laboratorio (Ver Anexo 4). Se sembró 30 muestras en total. El primer día se tomó dos recipientes de 220 ml de muestra que fueron alicuotadas en diez recipientes estériles de plástico para muestras de orina y se realizó diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  y se sembró las tres diluciones en las diferentes Placas Petrifilm. El restante de las muestras se mantuvo en refrigeración por dos días.

El segundo día se alicuoto las muestras de la bebida de chocho en nuevos recipientes estériles de plástico para muestras de orina y se realizó diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  de las cuales, se sembró las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ . El tercer día se realizó el mismo procedimiento con diez muestras y se realizó la siembra de las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ .

#### 4.3.1. DETERMINACIÓN DE MESÓFILOS AEROBIOS

Para el recuento de mesófilos aerobios, se usó Placas Petrifilm que es un sistema de medio de cultivo que contiene nutrientes de métodos estándar, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de bacterias aerobias (3M, 2019).

Se usó el método AOAC método oficial 990.12 Incubar 48 h ( $\pm$  3 h) a 35 °C ( $\pm$  1 °C).

#### Materiales y medios de cultivo

- Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul (DR 44435) (Ver Anexo 10).

- Placas Petrifilm (Ver Anexo 5).
- Recipientes estériles de plástico para muestras de orina.
- Tubos de ensayo de 15ml.
- Autoclave (CBPUCE 02122218) (Ver Anexo 14).
- Difusores.
- Incubadora (CBPUCE 0213275) (Ver Anexo 12).
- Agua peptonada Bufferada (Ver Anexo 6).

## **Procedimiento**

### **Preparación de la muestra**

- Medir 10 ml de la muestra dentro de un contenedor estéril (recipiente estéril de plástico para muestras de orina).
- Adicionar 90 ml del diluyente (Agua Peptonada Bufferada).
- Mezclar u homogeneizar la muestra durante 1 minuto.
- Colocar la Placa Petrifilm en una superficie plana y levantar la película superior.
- Con la ayuda de una pipeta, colocar 1 ml de la muestra en el centro de la placa.
- Dejar que la película superior caiga sobre la dilución.
- Colocar el dispersor sobre la película superior y ejercer suavemente presión para distribuir el inóculo sobre el área circular.
- Dejar reposar por 1 minuto antes de someter las placas a incubación.
- Incubar las placas a una temperatura de 35°C por 48 horas en grupos de no más de 20 placas.
- Después de las 48 horas de incubación las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otra fuente de luz amplia. Consultar la Guía de interpretación cuando lea los resultados (Ver Anexo 5).

#### **4.3.2. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES Y *Escherichia coli***

Para el recuento de *Escherichia coli* y coliformes totales se usó Placas Petrifilm que contiene nutrientes de Bilis Rojo Violeta, un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad glucuronidasa y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Aproximadamente el 97% de las colonias de *Escherichia coli* producen beta

glucuronidasa la que a su vez forma un precipitado azul asociado a la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por parte de los Coliformes y *Escherichia coli*. Cerca del 95% de las *Escherichia coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm (3M, 2019).

Se usó el método AOAC método oficial 991.14 Para Coliformes: Incubar 24 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C) Para *E. coli*: Incubar 48 hrs. (+/- 2 hrs) a 35°C (+/- 1°C).

### **Materiales y medios de cultivo**

- Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul (DR 44435) (Ver Anexo 10).
- Placas Petrifilm (Ver Anexo 7).
- Recipientes estériles de plástico para muestras de orina.
- Tubos de ensayo de 15ml.
- Autoclave (CBPUCE 02122218) (Ver Anexo 14).
- Difusores.
- Incubadora (CBPUCE 0213275) (Ver Anexo 12).
- Agua peptonada Bufferada (Ver Anexo 6).

### **Procedimiento**

#### **Preparación de la muestra**

- Medir 10 ml de la muestra dentro de un contenedor estéril (recipiente estéril de plástico para muestras de orina).
- Adicionar 90 ml del diluyente (Agua Peptonada Bufferada).
- Mezclar u homogeneizarla muestra durante 1 minuto.
- Colocar la Placa Petrifilm en una superficie plana y levantar la película superior.
- Con la ayuda de una pipeta, colocar 1 ml de la muestra en el centro de la placa.
- Dejar que la película superior caiga sobre la dilución.
- Colocar el dispersor sobre la película superior y ejercer suavemente presión para distribuir el inóculo sobre el área circular.
- Dejar reposar por 1 minuto antes de someter las placas a incubación.

- Incubar las placas a una temperatura de 35°C por 24 horas para coliformes y por 48 horas para *Escherichia coli* en grupos de no más de 20 placas.
- Después de las 24 y 48 horas de incubación respectivamente las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otra fuente de luz amplia. Consultar la Guía de interpretación cuando lea los resultados (Ver Anexo 7).

#### **4.3.3. DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS**

Las Placas Petrifilm de recuento de mohos y levaduras es un medio de cultivo listo que contiene un agente gelificante en agua fría, nutrientes y un tinte indicador para proporcionar contraste y facilitar el conteo (3M, 2019).

Se usó el método United States: Yeast and Mold Counts in Foods: AOAC Official Method 997.02

#### **Materiales y medios de cultivo**

- Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul (DR 44435) (Ver Anexo 10).
- Placas Petrifilm (Ver Anexo 8).
- Recipientes estériles de plástico para muestras de orina.
- Tubos de ensayo de 15ml.
- Autoclave (CBPUCE 02122218) (Ver Anexo 14).
- Difusores.
- Incubadora (CBPUCE 02162337) (Ver Anexo 13).
- Agua peptonada Bufferada (Ver Anexo 6).

#### **Procedimiento**

##### **Preparación de la muestra**

- Medir 10 ml de la muestra dentro de un contenedor estéril (recipiente estéril de plástico para muestras de orina).
- Adicionar 90 ml del diluyente (Agua Peptonada Bufferada).
- Mezclar u homogeneizar la muestra durante 1 minuto.
- Colocar la Placa Petrifilm en una superficie plana y levantar la película superior.
- Con la ayuda de una pipeta, colocar 1 ml de la muestra en el centro de la placa.

- Dejar que la película superior caiga sobre la dilución.
- Colocar el dispersor de mohos y levaduras sobre la película superior y ejercer suavemente presión para distribuir el inóculo sobre el área circular.
- Dejar reposar por 1 minuto antes de someter las placas a incubación.
- Incubar las placas a una temperatura de 20-25°C por 3 a 5 días en grupos de no más de 20 placas.
- Después de 3-5 días de incubación respectivamente las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otra fuente de luz amplia. Consultar la Guía de interpretación cuando lea los resultados (Ver Anexo 8).

#### **4.3.4. DETERMINACIÓN DE *Staphylococcus aureus***

La Placa Petrifilm de conteo Express Staph es un sistema de medio de cultivo que contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio cromogénico modificado de Baird Parker en la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus*. Las colonias rojo-violetas en la placa son *Staphylococcus aureus*. Si se observa colonias sospechosas se debe utilizar el disco Petrifilm Staph Express que contiene colorante y ácido desoxirribonucleico (ADN). *Staphylococcus aureus* produce desoxirribonucleasa (DNasa) y la DNasa reacciona con el tinte para formar zonas rosadas (3M, 2019).

Se usó el método AOAC Official Method 2003.07 for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Processed and Prepared Foods.

#### **Materiales y medios de cultivo**

- Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul (DR 44435) (Ver Anexo 10).
- Placas Petrifilm (Ver Anexo 9).
- Recipientes estériles de plástico para muestras de orina.
- Tubos de ensayo de 15ml.
- Autoclave (CBPUCE 02122218) (Ver Anexo 14).
- Difusores.
- Incubadora (CBPUCE 0213275) (Ver Anexo 12).
- Agua peptonada Bufferada (Ver Anexo 6).

## Procedimiento

### Preparación de la muestra

- Medir 10 ml de la muestra dentro de un contenedor estéril (recipiente estéril de plástico para muestras de orina).
- Adicionar 90 ml del diluyente (Agua Peptonada Bufferada).
- Mezclar u homogeneizar la muestra durante 1 minuto.
- Colocar la Placa Petrifilm en una superficie plana y levantar la película superior.
- Con la ayuda de una pipeta, colocar 1 ml de la muestra en el centro de la placa.
- Dejar que la película superior caiga sobre la dilución.
- Colocar el dispersor sobre la película superior y ejercer suavemente presión para distribuir el inóculo sobre el área circular evitando que se produzcan burbujas.
- Dejar reposar por 1 minuto antes de someter las placas a incubación.
- Incubar las placas a una temperatura de 35°C por 24 horas en grupos de no más de 20 placas.
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otra fuente de luz amplia. Consultar la Guía de interpretación cuando lea los resultados (Ver Anexo 9).
- Si no se observan colonias después de las 24 horas de incubación el test está completo. Si existen colonias color rojo-violeta se debe colocar el disco de termonucleasa en la Placa Petrifilm e incubar por 1-3 horas a 35°C y contar todas las zonas rosadas.

### 4.5. CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad tanto para el agua peptonada bufferada y para las Placas Petrifilm para mesófilos aerobios, coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se utilizaron cepas puras de referencia entregadas por docencia de la Carrera de Microbiología en caldo de BHI, las mismas que fueron;

- *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Las Placas Petrifilm poseen un certificado de análisis entregado por el proveedor de las mismas (Ver Anexo 11).

## **Materiales y medios de cultivo**

- Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul (DR 44435) (Ver Anexo 10)
- Placas petrifilm (Ver Anexo 5, 7, 8 y 9)
- Tubos de ensayo de 15ml
- Autoclave (CBPUCE 02122218) (Ver Anexo 14)
- Difusores
- Incubadora (CBPUCE 0213275) (Anexo 12)
- Agua peptonada Bufferada (Ver Anexo 6)

### **4.5.1. CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PEPTONADA**

Para el control de calidad del agua peptonada bufferada:

- Tomar 1ml de dicha agua.
- Colocar en cada una de las placas petrifilm de: Coliformes / *Escherichia coli*, mesófilos aerobios, *Staphylococcus aureus* y mohos/levaduras.
- Incubar a las temperaturas y tiempos indicados por el proveedor.
- Leer resultados y consultar las Guías de Interpretación (Ver Anexo 5, 7, 8 y 9).

### **4.5.2. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM MESÓFILOS AEROBIOS**

Para el control de calidad de las placas de mesófilos aerobios:

- Realizar una suspensión de una cepa de *Escherichia coli* en un tubo de agua peptonada bufferada con 9 ml.
- Tomar 1 ml de la suspensión realizada.
- Colocar en la placa Petrifilm.
- Incubar a una temperatura de 35°C por 48 horas en grupos de no más de 20 placas.
- Leer resultados y consultar la Guía de interpretación (Ver Anexo 5).

### **4.5.3. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM COLIFORMES/*Escherichia coli***

Para el control de calidad de las placas de Coliformes / *Escherichia coli*:

- Realizar una suspensión de una cepa de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* en un tubo de agua peptonada bufferada.

- Tomar 1 ml de la suspensión realizada.
- Colocar en la Placa Petrifilm.
- Incubar las placas a una temperatura de 35°C por 24 horas para coliformes y por 48 horas para *Escherichia coli* en grupos de no más de 20 placas.
- Leer resultados y consultar la Guía de interpretación (Ver Anexo 7).

#### **4.5.4. CONTROL DE CALIDAD PLACAS PETRIFILM *Staphylococcus aureus***

Para el control de calidad de las placas de *Staphylococcus aureus*:

- Realizar una suspensión de una cepa de dicho *Staphylococcus aureus* en un tubo de agua peptonada bufferada.
- Tomar 1 ml de la suspensión realizada.
- Colocar en la Placa Petrifilm.
- Incubar las placas a una temperatura de 35°C por 24 horas en grupos de no más de 20 placas.
- Si no se observan colonias después de las 24 horas de incubación el test está completo. Si existen colonias color rojo-violeta se debe colocar el disco de termonucleasa en la Placa Petrifilm e incubar por 1-3 horas a 35°C y contar todas las zonas rosadas.
- Leer resultados y consultar la Guía de interpretación (Ver Anexo 9).

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. RESULTADOS DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO**

Para determinar los Puntos Críticos de Control se debe responder un sistema de preguntas establecidas en un “árbol de decisión para punto crítico de control” (Ver Figura 9).

**Tabla 1:** Sistema de preguntas para deducir PCC.

<b>OPERACIÓN DEL PROCESO</b>	¿Existen medidas preventivas de control?	¿Ha sido la fase específicamente concebida para eliminar o reducir a un nivel aceptable la posible presencia de un peligro?	¿Podría producirse una contaminación con peligros identificados superior a los niveles aceptables, o podrían estos aumentar a niveles inaceptables?	¿Se eliminarán los peligros identificados o se reducirá su presencia a un nivel aceptable en una fase posterior?
<b>Desaguado</b>	SI	NO	NO	-
<b>Pelado</b>	SI	NO	NO	-
<b>Escaldado</b>	SI	SI	SI	NO
<b>Estilado</b>	SI	NO	NO	-
<b>Liculado</b>	SI	NO	NO	-
<b>Extracción o cernido</b>	SI	NO	NO	-
<b>Mezclado</b>	SI	NO	NO	-
<b>Pasteurización</b>	SI	SI	SI	NO
<b>Envasado (Esterilización de envases)</b>	SI	NO	NO	-
<b>Almacenamiento</b>	SI	NO	NO	-

Realizado por: Jessica Cisneros

A continuación se resume, el resultado obtenido por el árbol de decisiones para determinar los puntos críticos de control:

**Tabla 2:** Resumen de resultados de preguntas para determinar PCC

<b>Operación</b>	<b>Decisión</b>
Desaguado	No es un punto de control
Pelado	No es un punto de control
<b>Escaldado</b>	<b>Si es un punto de control</b>
Estilado	No es un punto de control
Licuada	No es un punto de control
Extracción o cernido	No es un punto de control
Mezclado	No es un punto de control
<b>Pasteurización</b>	<b>Si es un punto de control</b>
Envasado	No es un punto de control
Almacenamiento	No es un punto de control

Realizado por: Jessica Cisneros

Con este análisis se determinó 2 puntos críticos de control, definidos en las siguientes operaciones:

- **Escaldado:** En este punto se somete al chocho a una temperatura de 100°C para eliminar restos de alcaloides que le dan un sabor amargo que no fueron eliminados anteriormente en el desaguado.

El chocho para consumo humano debe tener un color, sabor y olor con especificaciones establecidas, después de estar sometido a un proceso térmico hídrico de acuerdo a la INEN 2390. (Ver Anexo 15).

**Tabla 3:** Especificaciones de calidad del producto desamargado mediante el proceso térmico-hídrico

<b>Descripción</b>	Producto comestible limpio húmedo.
<b>Presentación</b>	Natural, uniforme, color blanco – crema preferentemente.
<b>Olor</b>	Característico, libre de olores extraños.

<b>Sabor</b>	Característico del chocho, libre del sabor amargo.
--------------	--

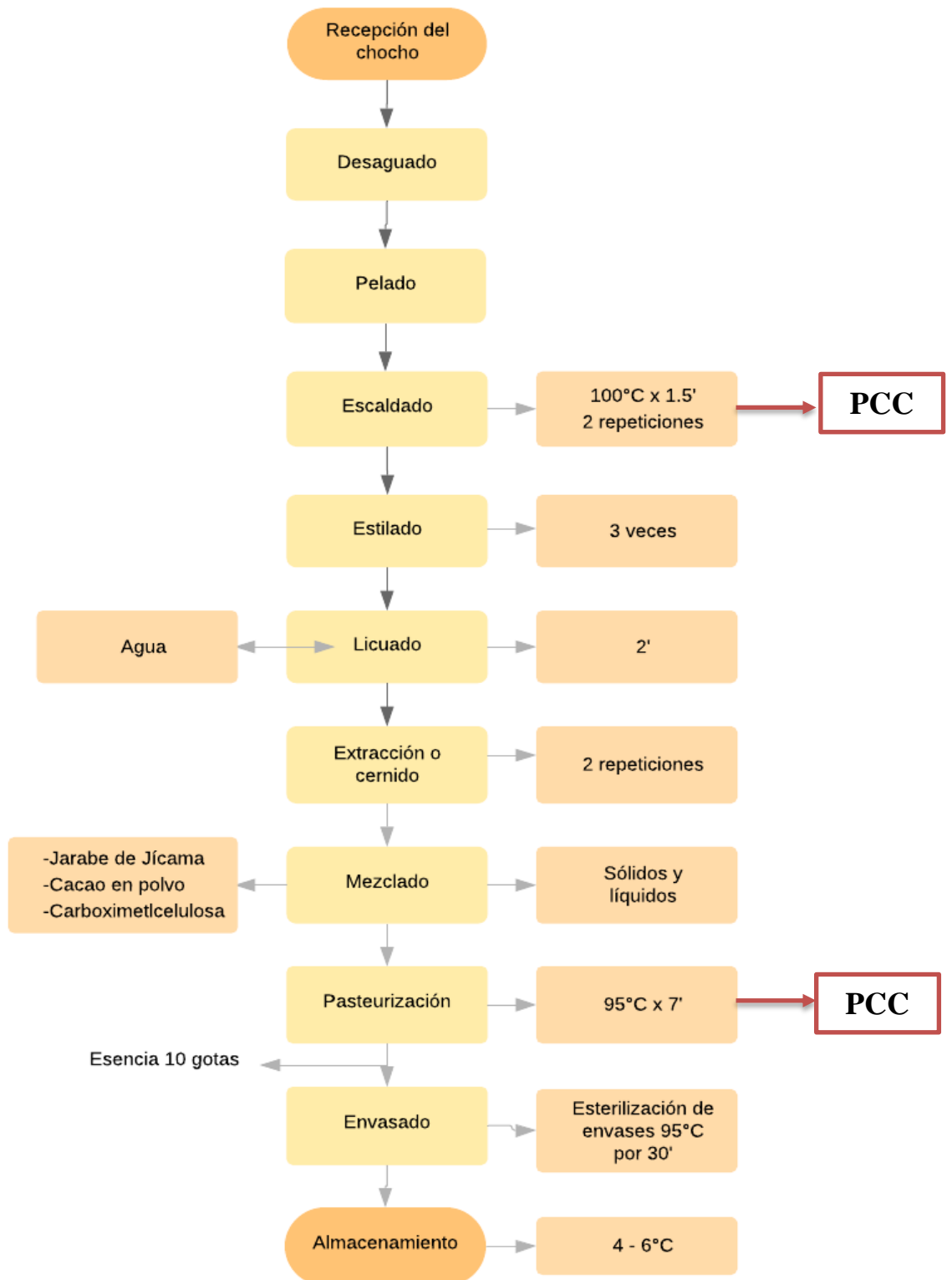
Fuente: Norma INEN 2390:2004-2005-09.

Realizado por: Jessica Cisneros

- **Pasteurización:** En este proceso la bebida de chocho que se encuentra ya mezclada con todos los ingredientes adicionales es sometida a una temperatura de 95°C por 7 minutos para eliminar microorganismos que podrían presentarse en dicho producto por la elaboración artesanal.

## Diagrama de flujo de la elaboración de una bebida de chocho y sus respectivos

### PCC



## 5.2. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE CHOCHO

Para este estudio se procesaron 30 muestras en total, las mismas que fueron analizadas en bloques de 10 muestras en tres días consecutivos, las diluciones realizadas fueron 3 ( $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$ ) en el primer día, a partir del segundo se procesaron únicamente las diluciones -2 y -3. (Ver Tablas completas 6, 7 y 8).

Los parámetros microbiológicos determinados fueron:

- Recuento de Aerobios Mesófilos (UFC/ml)
- Recuento de Coliformes Totales / *Escherichia coli* (UFC/ml)
- Recuento de *Staphylococcus aureus* (A/P) (Ausencia/Presencia)
- Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)

A continuación, en la Tabla 1 se resume los resultados obtenidos de los parámetros microbiológicos:

**Tabla 4:** Resumen de resultados del análisis microbiológico de la bebida de chocho como producto final.

Parámetro	Resultado	Unidades
Recuento de Aerobios Mesófilos	< 10	UFC/ml
Recuento de Coliformes Totales / <i>Escherichia coli</i>	< 10	UFC/ml
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	<10	UFC/ml
Recuento de mohos y levaduras	< 10	UFC/ml

Realizado por: Jessica Cisneros

Las UFC/ml de los microorganismos analizados son menores a los parámetros establecidos por la INEN 2390:2004. Por lo que esta bebida no conlleva riesgo microbiológico al consumidor (Ver Anexo 15).

### **5.3. CONTROL DE CALIDAD DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS (PLACAS PETRIFILM)**

Dentro del control de calidad realizado a las placas Petrifilm para confirmar la viabilidad de estas, se utilizaron cepas de referencia y se demostró el crecimiento de los microorganismos evaluados con las características propias de cada uno en cada Placa Petrifilm (Ver Figura 10 y 11).

### **5.4. RESULTADOS DE CONTROL DE CALIDAD DEL AGUA PEPTONADA BUFFERADA**

En el control de calidad del agua peptonada bufferada se evidenció la ausencia de crecimiento de microorganismos en cada una de las Placas Petrifilm, es decir que el agua peptonada bufferada se encontraba en condiciones aptas para ser utilizada y sin contaminación microbiológica (Ver Figura 12).

## **6. DISCUSIÓN**

### **6.1. PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL EN LA PRODUCCIÓN DE LA BEBIDA DE CHOCHO**

La determinación de puntos críticos de control en la producción de la bebida de chocho es importante debido a que este proceso debe tener un control y permite disminuir o eliminar un peligro que se relaciona a la inocuidad de alimentos.

Para la determinación de los puntos críticos de control la herramienta idónea a utilizarse es el árbol de decisiones, el mismo que permite la puntualización correcta de los PCC en el proceso de producción de la bebida de chocho. Es de suma importancia los prerrequisitos mantenidos antes del proceso para que la calidad de las materias primas utilizadas sea la esperada y así obtener un producto final que cumpla los requisitos de inocuidad referidos en una normativa.

Es importante que el personal aplique buenas prácticas de producción en el proceso de elaboración de la bebida de chocho para disminuir los riesgos de contaminación. Durante el proceso de producción artesanal se usó equipos de protección individual; el personal que participó en la producción utilizó adecuadamente mandil, guantes, cofia y mascarilla antes, durante y después de la producción. También es importante la limpieza y

desinfección de las superficies y el equipo a usarse. Por lo tanto en la producción de la bebida de chocho se controló la limpieza de todas las áreas donde se trabajó, estas fueron previamente desinfectadas con alcohol antiséptico para eliminar microorganismos.

Los equipos utilizados fueron lavados y desinfectados antes de su uso. Además, el material de dichos equipos fue de acero inoxidable. El objetivo e importancia de trabajar con este material es impedir la contaminación de las materias primas o el crecimiento de bacterias. Por otra parte, el material es resistente a la corrosión (ALSIMET, 2017). En esta producción el uso de un thermomix o licuadora es un punto importante debido a que se debe lavar con cuidado las aspás que tiene este equipo.

El control de humedad en la producción de alimentos es importante debido a que se puede controlar la mejora en la conservación del alimento. Además al vigilar este parámetro evitamos el desarrollo indeseable de hongos y levaduras (Van Der Heijden y Haan, 2012). El rango de humedad del chocho desamargado se encuentra entre el 72%–75% (INIAP, 2004).

El control de temperatura del ambiente y en cada proceso térmico es de suma importancia por lo que su registro se lo realizó tanto antes y durante la producción, como en el escaldado (PCC), pasteurización (PCC) y la esterilización de los envases (pre requisito). Este control fue cumplido de acuerdo con lo indicado en el flujograma de proceso.

El escaldado es un proceso térmico que asegura la eliminación de restos de alcaloides que provocan el sabor amargo en el chocho y la pasteurización es un proceso térmico con el cual se reducen o se eliminan microorganismos patógenos que pueden estar presentes en la bebida de chocho.

La temperatura para el almacenamiento del producto final en refrigeración fue de 4° C. El efecto de la temperatura en los alimentos y en el desarrollo de bacterias patógenas tiene diferentes rangos: bajo los 5°C se retrasa el crecimiento y la multiplicación de bacterias, entre 60°C – 70°C la reproducción es escasa o nula y sobre los 70°C se destruyen, con excepción de microorganismos esporulados (Chavarrías, 2014; FAO, 2016).

El agua para desamargar el chocho debe cumplir con diferentes requisitos, por lo tanto el agua que se utiliza en este proceso debe ser agua potable, que presente

características propias como ser: incolora, inodora y libre de gérmenes que puedan ejercer una influencia nociva en el grano desamargado (INIAP, 2001). Se debe tomar en cuenta que el agua para desamargar el chocho se debe hervir con el grano durante un tiempo determinado y después llevar a un proceso de lavado o enjuague.

## 6.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE CHOCHO

De acuerdo con los resultado obtenidos y presentados anteriormente la bebida de chocho analizada microbiológicamente para los indicadores de contaminación Mesófilos Aerobios, Coliformes totales, Mohos y Levaduras, y parámetros específicos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, es apta microbiológicamente para el consumo humano de acuerdo con la NTE INEN 2390:2004 (Ver Tabla 5).

**Tabla 5:** Requisitos para el análisis microbiológico del chocho desamargado

REQUISITOS	UNIDAD	VALOR	METODO DE ENSAYO
Recuento aerobios totales	UFC/g	$18 \times 10^2 - 1 \times 10^3$	NTE INEN 1 529-5
Recuento coliformes totales	NMP/g	$10 - 10^2$	NTE INEN 1 529-7
Recuento de hongos y levaduras	UFC/cm <sup>3</sup>	$0 - 5 \times 10^2$	NTE INEN 1 529-10
<i>Escherichia coli</i>		Ausencia	NTE INEN 1 529-8
Tipificación <i>E. Coli</i> 0157 HT		Ausencia	NTE INEN 1 529-8
UFC = Unidades Formadoras de Colonias. NMP = Número Más Probable.			

Fuente: Norma INEN 2390:2004-2005-09.

Dentro del recuento de mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos y levaduras el resultado reflejó <10 UFC/ml, además se confirmó la ausencia de *Escherichia coli* por lo tanto la tipificación de *Escherichia coli* 0157 HT no fue necesaria. De la misma manera, la determinación de *Staphylococcus aureus* se realizó debido a la manipulación que existe dentro de la producción de la bebida de chocho, el resultado fue la ausencia de este microorganismo.

## 7. CONCLUSIONES

1. Se logró determinar 2 Puntos Críticos de Control en el proceso de elaboración artesanal de la bebida de chocho, que son el escaldado y la pasteurización, dichos procesos térmicos aseguran que se elimine microorganismos que pueden estar presentes en la bebida de chocho.
2. Se demostró que la calidad microbiológica del producto final cumplió con lo solicitado en la norma NTE INEN 2390:2004 debido a que existe ausencia o menor cantidad de UFC/ml en cuanto a indicadores de contaminación como fueron mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos y levaduras e indicadores específicos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
3. La bebida de chocho elaborada artesanalmente es apta microbiológicamente para consumo humano con el cumplimiento de buenas prácticas de producción y los PCC del proceso de producción.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (2014). Microorganismos Indicadores. Recuperado de: [http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis\\_microbiologico\\_de\\_los\\_alimentos\\_Vol\\_III.pdf](http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf)
- Alsimet. (2017). Acero inoxidable: un imprescindible en la industria alimentaria. Recuperado de: <http://www.alsimet.es/es/noticias/acero-inoxidable-industria-alimentaria>
- Balladares, M., & Travez, B. (2009). Evaluación de seis morfotipos (ECU-1247, ECU-1251, ECU-9109, ECU-12767 del Banco Germoplasma del INIAP; San Buenaventura y Loco) de jícama (*Smallanthus sonchifolius*) con tres fertilizaciones de fondo en San José Pichul – Cotopaxi (Tesis de grado). Recuperado de: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/853/1/T-UTC-0614.pdf>
- Betelgeux. (s.f). Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia. Recuperado de: [https://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo\\_boletin\\_Desinfectantes\\_y\\_Modo\\_de\\_accion\\_en\\_IIAA.pdf](https://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_Desinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf)
- Campaña, J. (2013). Investigación y análisis de las propiedades nutricionales de la jícama y la aplicación a la gastronomía (Tesis de grado). Recuperado de: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11797/1/53124\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11797/1/53124_1.pdf)
- Campuzano, S., Mejía, D., Madero, C., & Pabón, S. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
- Chamba, M., Suquilanda, F., & Vásquez, E. (2016). Producción y comercialización de chocho. (*Lupinus mutabilis* Sweet) en el cantón Saraguro de la provincia de Loja. *Universidad Nacional de Loja*, 5 (1), 92-102. Recuperado de: <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/81>
- Chavarrías, M. (2014). El control de la temperatura en los alimentos. Recuperado de: <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/el-control-de-la-temperatura-en-los-alimentos.html>
- Chemical Food (2019). Carboximetilcelulosa (CMC). Recuperado de: [http://www.achemicalfood.com/pdf\\_datasheet.php?products\\_id=14](http://www.achemicalfood.com/pdf_datasheet.php?products_id=14)
- De La Cruz, J., Vargas, M., & Del Angel Coronel, O. (s.f). Cacao: Operaciones Poscosecha. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-au995s.pdf>
- FAO. (1997). Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos. Recuperado de: [www.fao.org/input/download/standards/394/CXG\\_021S.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/394/CXG_021S.pdf)

- FAO. (1997). Sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) y directrices para su aplicación. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/y1579s/y1579s03.htm>
- FAO. (1997). Ejemplo de un árbol de decisiones para identificar los PCC. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/y1390s/y1390s0g.htm>
- FAO. (1998). Código internacional recomendado revisado de prácticas-principios generales de higiene de los alimentos. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/W6419S/w6419s00.htm#Contents>
- FAO. (2016). Manipuladores de alimentos. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i5896s.pdf>
- Fernández, E. (2017). Determinación del contenido de antinutrientes en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451 y Criollo) (Tesis de grado). Recuperado de: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/14472/Tesis%20Final.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2006). Usos alternativos del chocho. Recuperado de: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/298/1/iniapscbd333.pdf>
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2013). INIAP investigó propiedades nutritivas del chocho, alternativa para una mejor alimentación. Recuperado de: <https://www.agricultura.gob.ec/iniap-investigo-propiedades-nutritivas-del-chocho-alternativa-para-una-mejor-alimentacion/>
- Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2010). INIAP 450 Andino variedad de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Recuperado de: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2584/1/iniapscpd169.pdf>
- Lita, C., & Vásquez, A. (2013). *Estudio de factibilidad para la creación de una empresa de producción y comercialización de leche de chocho saborizada en la ciudad de Ibarra, Provincia de Imbabura*. (Disertación de Ingeniería en Contabilidad y Auditoría CPA) (Tesis de grado). Recuperado de: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2987/1/02%20ICA%20642%20TESIS.pdf>
- Marcial, N. (2008). Desarrollo de tecnología para la elaboración de jarabe con alto contenido de FOS a partir de jícama (*Smallanthus sonchifolius*). Recuperado de: <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/522>
- Ministerio de Salud República de Chile. (2018). Reglamento sanitario de los alimentos. Recuperado de: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/chi9315.pdf>
- Organización Panamericana de la Salud. (2018). Peligros biológicos: Inocuidad de alimentos – Control Sanitario – HACCP. Recuperado de: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es)
- Peralta, E. (2016). El chocho en Ecuador. Recuperado de: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3938/1/iniapscdpCD99.pdf>

- Peralta, I & Caicedo, V. (2000). El chocho: proteína vegetal y potencial económico. Recuperado de: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/144/1/El%20chocho%20prote%C3%ADna%20vegetal.pdf>
- Perdomo, I., & Meléndez, P. (2004). Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigénicos a partir de alimentos. *UNAL*, 33 (1), 59-69. Recuperado de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/1663/2321>
- Rafecas, M., & Codony, R. (2000). Estudio nutricional del cacao y productos derivados. Recuperado de: [http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista\\_marzo\\_02/VCongreso\\_publicaciones/Conferencias/cacao.pdf](http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_marzo_02/VCongreso_publicaciones/Conferencias/cacao.pdf)
- República del cacao. (s.f). Cacao en polvo. Recuperado de: <https://es.republicadelcacao.com/products/cacao-powder-latinamerica>
- Rossignoli, D. (2014). Investigación de la jícama y propuesta de cocina de autor (Tesis de grado). Recuperado de: <https://repositorio.uide.edu.ec/handle/37000/401>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (1990). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y *E. coli*. Recuperado de: <https://ia803007.us.archive.org/22/items/ec.nte.1529.8.1990/ec.nte.1529.8.1990.pdf>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (1990). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias. Recuperado de: <https://ia801602.us.archive.org/8/items/ec.nte.1529.7.1990/ec.nte.1529.7.1990.pdf>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (1998). Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad. Recuperado de: <https://ia801902.us.archive.org/33/items/ec.nte.1529.10.1998/ec.nte.1529.10.1998.pdf>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2005). Leguminosas. Grano desamargado de chocho. Requisitos. Recuperado de: <https://ia601903.us.archive.org/14/items/ec.nte.2390.2005/ec.nte.2390.2005.pdf>
- Servicio Ecuatoriano de Normalización. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Recuperado de: <https://ia801900.us.archive.org/4/items/ec.nte.1529.5.2006/ec.nte.1529.5.2006.pdf>
- Socorro, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
- Tapia, M., Morón, C., Ayala, G., & Fries, M. (s.f). Valor nutritivo y patrones de consumo. Recuperado de: [http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP\\_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/p rodveg/cdrom/contenido/libro10/cap04.htm](http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/p rodveg/cdrom/contenido/libro10/cap04.htm)

Universidad Católica Sedes Sapientiae. (2015). El tarwi: nutritivo y medicinal. Recuperado de: <https://camp.ucss.edu.pe/blog/tarwi-proyecto-fundo-chipta/>

Universidad Nacional del Nordeste. (2007). Reino Fungi. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/fungi/fungi.htm>

Van Der Heijden, M., & Haan, D. (2012). Optimización de la humedad del alimento manteniendo su calidad. Recuperado de: <https://www.engormix.com/balanceados/articulos/humedad-en-alimentos-t29431.htm>

## 9. FIGURAS

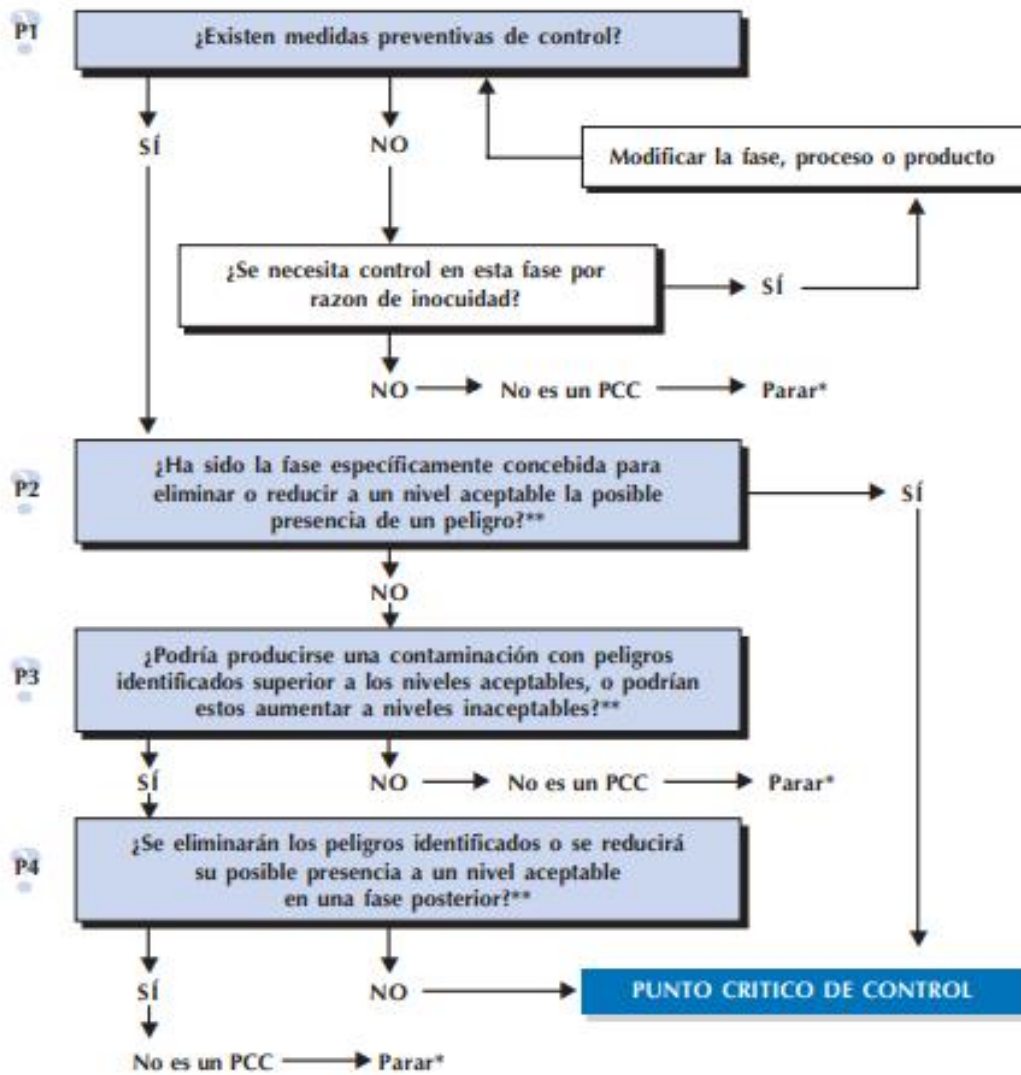


Figura 1: Árbol de decisiones para determinar un Punto Crítico de Control (PCC).

Fuente: (FAO, 2017).



**Figura 2: Pelado del chocho**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 3: Escaldado del chocho**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 4: Estilado del chocho**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 5: Licuado del chocho**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 6: Extracción o cernido**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 7: Mezclado ingredientes sólidos y líquidos**

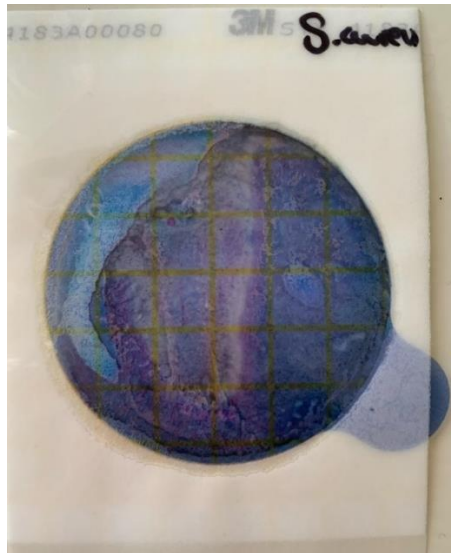
**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 8: Pasteurización de la bebida de chocho**  
**Fuente: Jessica Cisneros**

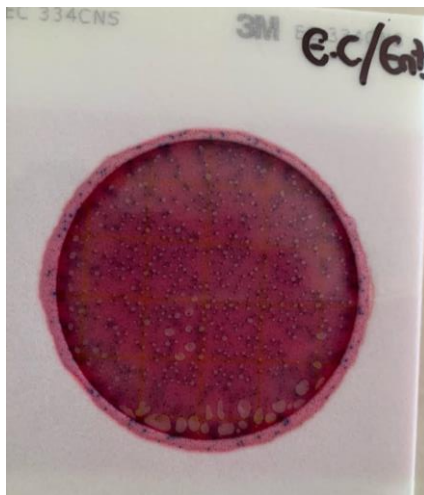


**Figura 9: Envasado de la bebida de chocho**  
**Fuente: Jessica Cisneros**



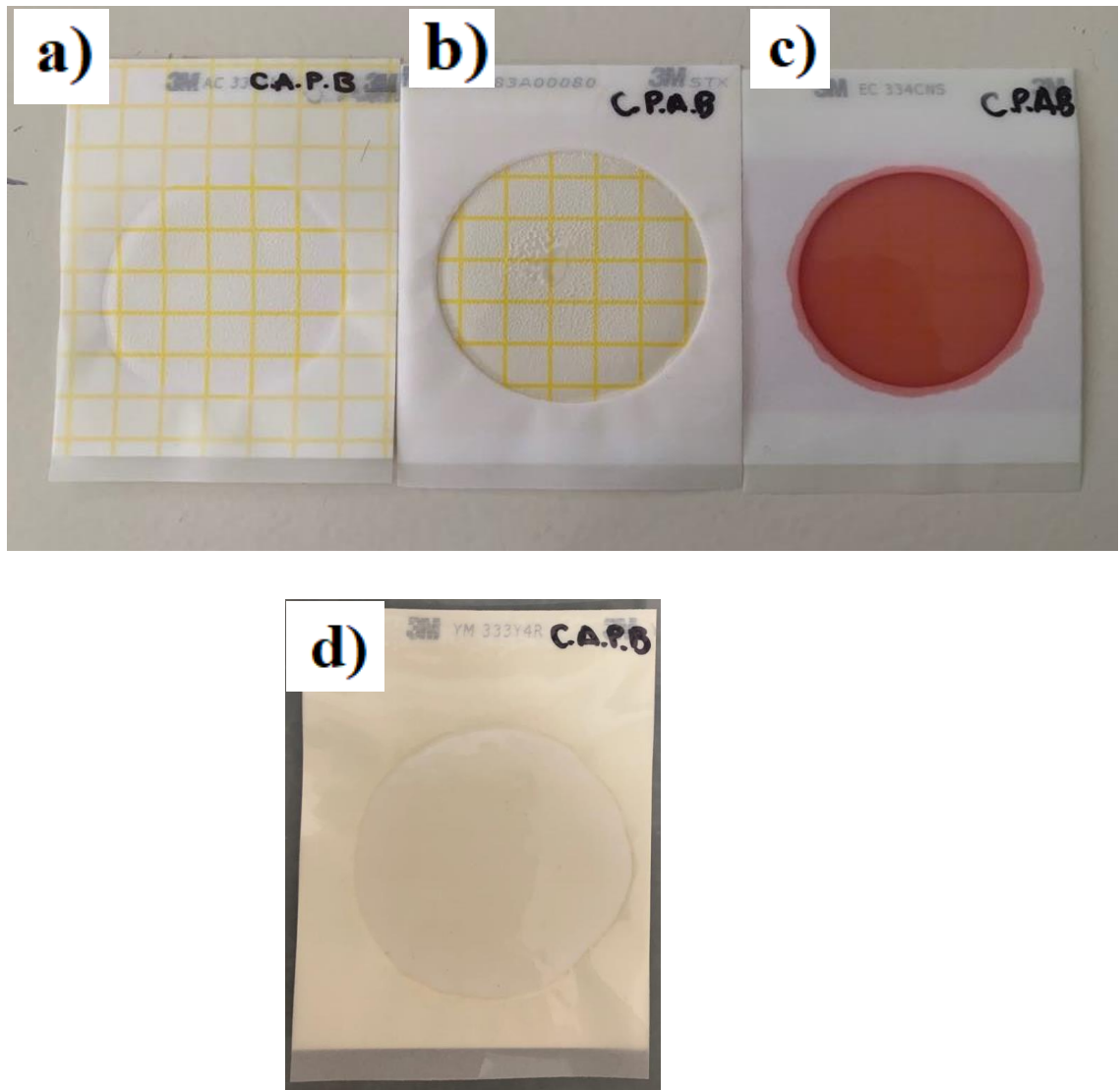
**Figura 10: Control positivo Placa Petrifilm de *Staphylococcus aureus* con cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 11: Control positivo placa *Escherichia coli* / Coliformes totales con cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048**

**Fuente: Jessica Cisneros**



**Figura 12: Control de Blanco de esterilidad de Placas Petrifilm más Agua Peptonada Bufferada estéril: a) Placa Petrifilm de Mesófilos Aerobios, b) *Staphylococcus aureus*, c) Coliformes/*Escherichia coli* y d) Mohos y levaduras.**

## 10. TABLAS

**Tabla 6: Resultados de las muestras 1 a la 10**

### RESULTADOS MUESTRAS DE LA 1 A LA 10 ANALIZADAS

		(UFC/ml)			Presencia / Ausencia	
N° de muestra	Diluciones	Aerobios Mesófilos	Coliformes Totales	Mohos y Levaduras	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
1	10 <sup>-1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10
1	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
1	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
2	10 <sup>-1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10
2	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
2	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
3	10 <sup>-1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10
3	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
3	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
4	10 <sup>-1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10
4	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
4	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
5	10 <sup>-1</sup>	<10	<10	<10	<10	<10
5	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
5	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC

<b>6</b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<10	<10	<10	<10	<10
<b>6</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>6</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>7</b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<10	<10	<10	<10	<10
<b>7</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>7</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>8</b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<10	<10	<10	<10	<10
<b>8</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>8</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>9</b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<10	<10	<10	<10	<10
<b>9</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>9</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	1	SC	SC	SC	SC
<b>10</b>	<b>10<sup>-1</sup></b>	<10	<10	<10	<10	<10
<b>10</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>10</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC

SC: sin crecimiento

Realizado por: Jessica Cisneros

**Tabla 7: Resultados de las muestras 11 a la 20**

**RESULTADOS MUESTRAS DE LA 11 A LA 20 ANALIZADAS**

		(UFC/ml)			Presencia / Ausencia	
N° de muestra	Diluciones	Aerobios Mesófilos	Coliformes Totales	Mohos y Levaduras	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
11	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
11	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
12	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
12	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
13	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
13	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
14	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
14	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
15	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
15	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
16	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
16	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
17	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
17	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
18	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
18	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC

19	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
19	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
20	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
20	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC

SC: sin crecimiento

Realizado por: Jessica Cisneros

**Tabla 8: Resultados de las muestras 21 a la 30**

**RESULTADOS MUESTRAS DE LA 21 A LA 30 ANALIZADAS**

		(UFC/ml)			Presencia / Ausencia	
N° de muestra	Diluciones	Aerobios Mesófilos	Coliformes Totales	Mohos y Levaduras	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
21	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
21	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
22	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
22	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
23	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
23	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
24	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
24	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
25	10 <sup>-2</sup>	SC	SC	SC	SC	SC
25	10 <sup>-3</sup>	SC	SC	SC	SC	SC

<b>26</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>26</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>27</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>27</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>28</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>28</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>29</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>29</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>30</b>	<b>10<sup>-2</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC
<b>30</b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	SC	SC	SC	SC	SC

SC: sin crecimiento

**Realizado por: Jessica Cisneros**

## 11. ANEXOS

### Anexo 1: INIAP 450 Andino, variedad de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet)



#### INIAP 450 ANDINO

##### VARIEDAD DE CHOCHO PARA LA SIERRA ECUATORIANA

Carlos Caicedo V., Ing. M. BA. Eduardo Peralta I., Ing. Agr. M.C.  
Ángel Murillo I., Ing. Agr. M.Sc. Marco Rivera M., Ing. Amb.  
José Pinzón Zh., Agr.

#### INTRODUCCIÓN

El chocho es una leguminosa andina importante para la alimentación de la población y en los sistemas de producción de los pequeños y medianos productores de la Sierra. Tiene alrededor de 50% de proteína, ácidos grasos esenciales, además de carbohidratos, vitaminas y minerales. Se cultiva en áreas agroecológicas secas y arenosas ubicadas entre los 2.600 y 3.400 m.s.n.m., y es una alternativa de rotación y asociación con otros cultivos como cereales y tubérculos.

Por lo anterior y considerando los bajos niveles de producción y productividad, la erosión genética y el mantenimiento del consumo *per cápita* en la población urbana y rural, el INIAP desde hace 22 años a través del Programa de Cultivos Andinos y luego del Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos de la Estación Experimental Santa Catalina, está realizando actividades para fortalecer la investigación, promoción y desarrollo de esta especie.

La variedad **INIAP 450 ANDINO** es de hábito de crecimiento herbáceo, precoz, con cierta susceptibilidad a plagas y enfermedades foliares y radiculares. El rendimiento de esta variedad es superior en un 183% al rendimiento promedio de ecotipos locales (1350 a 1500 kg/ha). El grano es de calidad, tiene un diámetro mayor a 8 mm, es de color crema y redondo.

#### ORIGEN DE LA VARIEDAD

La variedad **INIAP 450 ANDINO**, fue obtenida de una población de germoplasma introducida de Perú, en 1992. El mejoramiento se realizó por selección y las primeras evaluaciones se realizaron en surcos triples y en 1993 se consideró como promisorio y fue introducida al Banco de Germoplasma del INIAP con la identificación de ECU-2659. Desde entonces se ha evaluado en varios ambientes y en 1999 se decidió entregar como variedad mejorada INIAP 450 ANDINO.

## Continuación Anexo 1:

### CARACTERÍSTICAS IMPORTANTES

#### 1. Morfológicas

Tipo de crecimiento	Herbáceo
Tipo de raíz	Pivotante
Color de planta juvenil	Verde intenso
Forma de hojas	Digitadas
Color de hojas	Verde
Forma del tallo principal	No prominente
Largo de inflorescencia central (cm)	28
Color de las alas	Púrpura
Color de la quilla	Crema
Color de la banda marginal del estandarte	Amarillo
Número de vainas en el eje central	10 a 14
Forma de la vaina	Oblonga
Largo de vainas (cm)	11
Color de vaina a la floración	Verde
Color de vaina a la cosecha	Café/crema
Número de granos por vaina a la cosecha	6 a 8

#### 2. Agronómicas y de adaptación

Días a la floración en el eje central	76 a 125
Días al envainamiento en el eje central	100 a 132
Días a la cosecha	167 a 225
Rendimiento, t ha-1	0.33 a 1.5
Número de vainas por planta	8 a 28
Altura de planta (cm)	90 a 185
Tolerancia a plagas	Susceptible
Tolerancia a enfermedades	Susceptible
Tolerancia al volcamiento	Tolerante
Tolerancia a granizadas	Ligeramente tolerante
Tolerancia a heladas	Ligeramente tolerante

#### 3. De calidad

Color de grano seco	Blanco-crema
Forma de grano	Oval aplanado
Tamaño de grano (mm)	8
Alcaloides (% Lupanina)	3.92
Grano de primera (%)*	83.1
Proteína (%)	45.02
Fibra cruda (%)	10.31
Grasa (%)	19.07
Calcio (%)	0.14
Energía (cal g-1)	5668
Azúcares totales (%)	6.45
Almidón total (%)	2.99

\* Selección con tamiz de 8 mm

### MANEJO DEL CULTIVO

#### 1. ZONIFICACIÓN

Provincias de la Sierra, con énfasis de Carchi hasta Cañar.

#### 2. PREPARACIÓN DEL SUELO

En suelos arenosos realizar labores de rastrada y surcada con tractor o yunta, y en casos que amerite realizar labores de arada.

#### 3. FERTILIZACIÓN

Aplicar 60 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (fósforo) a la siembra y abonos foliares antes de la floración (200 g de Librel BMX /ha).

#### 4. SIEMBRA Y DENSIDAD POBLACIONAL

Época de siembra:	diciembre-marzo
Cantidad de semilla por ha:	40-50 kg de semilla (1 qq)
Número de planta/ha:	127.500 a 170.000
Distancia entre surcos:	60 a 80 cm.
Distancia entre sitios:	30 cm.
Número de semillas por sitio:	3

#### 5. CONTROL DE MALEZAS

**Manual:** realizar la primera deshierba o rascadillo entre los 30 y 45 días y la segunda deshierba y aporque a los 60 días.

**Químico:** En casos extremos (abundante maleza, lluvia persistente, falta de mano de obra) se recomienda aplicar Paraquat (Gramoxone), en dosis de 2 litros por hectárea; para lo cual se debe emplear pantallas plásticas laterales para evitar quemar a las plantas de chocho.

#### 6. COMBATE DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

##### PLAGAS Y ENFERMEDADES

Los plaguicidas se deben aplicar únicamente cuando sea necesario y después de haber comprobado la presencia de una plaga o enfermedad en niveles que puedan causar daño.

## Continuación Anexo 1:

PLAGA	CONTROL
Mosca de la semilla	Gaucho (Imidacloprid): 3 cc/kg semilla.
	Semevin (Thiodicarb): 20 cc/kg semilla.
	Deltrametrina (Decis): 400 cc/ha (en drench).
	Orthene 75 (Acefato): 500 g/ha (en drench).
Trozadores	Deltrametrina (Decis): 400 cc/ha
Cutzo	<i>Beauveria</i> sp., o preparación anticipada de suelos.
Chinche	Orthene 75 (Acefato): 500 g/ha.
Barrenador del ápice	Deltrametrina (Decis): 400 cc/ha.
Barrenador del tallo	Orthene 75 (Acefato): 500 g/ha.
Trips	Spinosad (Tracer 120 SC): 150 cc/ha.
	Cigarral (Imidacloprid): 600 cc/ha.
Plagas del grano en campo	Cosecha oportuna.
Plagas del grano en almacén	Ambiente seco, limpio y ventilado.
ENFERMEDAD	CONTROL
Antracnosis	Benlate (Benomil): 250 g/ha.
	Derosal 500 SC (Carbendazim): 240 cc/ha.
Cercospora	Kocide 101 (Hidróxido de cobre): 750 cc/ha.

**NOTA:** Las recomendaciones no implican compromiso comercial.

### 7. COSECHA Y TRILLA

**Grano comercial:** cortar los racimos de vainas con hoz o manualmente.

**Semilla:** seleccionar plantas sanas y cosechar por separado los ejes centrales.

La trilla se puede hacer en forma manual o con trilladoras estacionarias.

### 8. SECADO Y CLASIFICADO

Una vez trillado se deberá secar el grano hasta obtener un porcentaje de 12 a 13% de humedad.

Para la clasificación se utiliza un tamiz de 4 mm de diámetro para eliminar impurezas y un tamiz de 8 mm para separar el grano de primera calidad.

### 9. ALMACENAMIENTO

Utilizar bodegas con ventilación, libre de insectos y con baja humedad relativa.

### 10. ELIMINACION DE ALCALOIDES

Realizar tres procesos: hidratación (14 horas), cocción (45 minutos) y desamargado (3 días con agua en movimiento). En el proceso se recomienda utilizar agua potable y siempre hervir por 10 minutos el grano, antes de consumir.

### 11. COSTOS DE PRODUCCION

El costo de producción de 1 ha de chocho, estimado a junio de 2010 es de US\$ 1.363,00, con un promedio de rendimiento de 30 qq/ha.



### Plegable Divulgativo No. 169

Estación Experimental Santa Catalina  
Programa Nacional de Leguminosas y Granos Andinos  
Telefax: 2693-360 • E-mail: [legumin@pi.pro.ec](mailto:legumin@pi.pro.ec)  
Octubre, 2010 Quito - Ecuador



GOBIERNO NACIONAL DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

**Econ. Rafael Correa Delgado**  
PRESIDENTE CONSTITUCIONAL

**Dr. Ramón Espinel Martínez**  
MINISTRO DE AGRICULTURA, GANADERÍA  
ACUACULTURA Y PESCA

**Dr. Julio César Delgado Arce**  
DIRECTOR GENERAL DEL INIAP

Reimpresión financiada por el Proyecto de Seguridad  
y Soberanía Alimentaria

**Anexo 2: Componentes de la bebida de chocho: Jarabe de Jícama, Cacao (Pacari) y CMC (Carboximetilcelulosa)**



a) Jarabe de jícama; b) Cacao; c) Carboximetilcelulosa

**Anexo 3: Hoja de control de temperatura y humedad del laboratorio de Nutrición**

27 - Agosto - 2019

REGISTRO DE TEMPERATURA Y HUMEDAD			
EQUIPO / LABORATORIO	HORA	TEMPERATURA °C	HUMEDAD
Laboratorio Nutrición	09h30	22°C	20 %
"	10h30	22.7°C	20 %
"	11h30	24.5°C	20 %
"	12h30	25.3°C	20 %
"	13h30	24.9°C	20 %
"	14h30	23.5°C	20 %

**Realizado por: Jessica Cisneros**

**Anexo 4: Registro primario de muestras. Muestras N°1-10 y muestras N° 11-30.**

**REGISTRO PRIMARIO**

**N° de muestra:** M01 - M10

**Fecha y hora de toma de muestra:** 15h15  
27/08/2019

**Estado de muestra:** Líquido

**Color:** Café oscuro - Marrón

**Olor:** Característico - Chocolate

**Condiciones de toma de muestra y transporte:**

7°C en cooler.  
Recibida en recipiente de vidrio

**Otras observaciones:**

Fecha de análisis: 27 - Agosto - 2019

**Análisis a realizarse:**

Mesófilos aerobios  
Coliformes totales /E. coli  
S. aureus  
Mohos y levaduras

**Encargado de análisis:** Jessica Cisneros

**Realizado por: Jessica Cisneros**

**REGISTRO PRIMARIO**

**Nº de muestra:** M11 - M30

**Fecha y hora de toma de muestra:** 15h15  
27/08/2019

**Estado de muestra:** Líquido

**Color:** Cede oscuro - Marrón

**Olor:** Característico - Chocado

**Condiciones de toma de muestra y transporte:**

- Muestra en refrigeración
- Recipiente de vidrio

**Otras observaciones:**

Fecha de análisis 28-08-2019

**Análisis a realizarse:**

Mesófilos aerobios  
Coliformes Totales / E. coli  
S. aureus  
Mohos y Levaduras

**Encargado de análisis:** Jessica Osneiros

## Anexo 5: Guía de interpretación de Placas Petrifilm de Mesófilos Aerobios

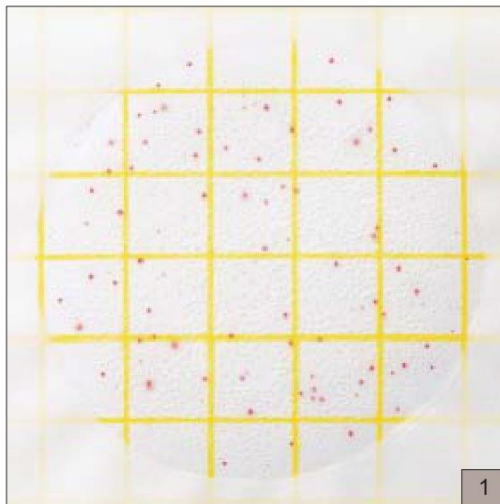
**3M**

Interpretation Guide

### **Petrifilm™** Aerobic Count Plate

This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates. For more information, contact the official 3M Microbiology Products representative nearest you.

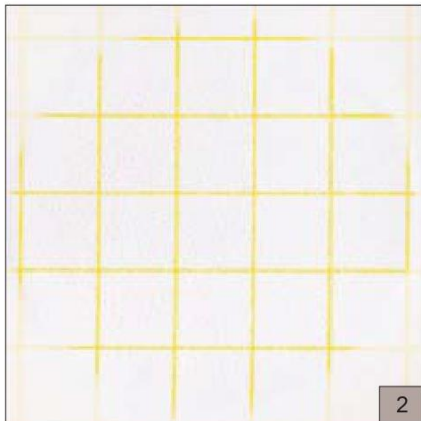
The Petrifilm Aerobic Count (AC) plate is a ready-made culture medium system that contains Standard Methods nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and an indicator that facilitates colony enumeration. Petrifilm AC plates are used for the enumeration of aerobic bacteria.



#### **Aerobic Bacteria Count = 152**

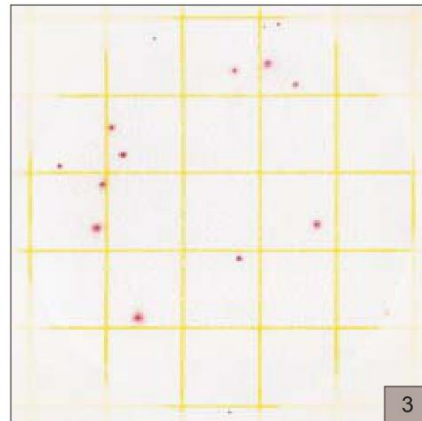
A red indicator dye in the plate colors the colonies. Count all red colonies regardless of their size or color intensity.

## 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate



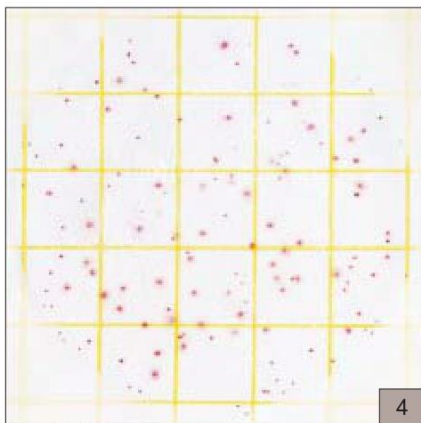
**Count = 0**

It is easy to interpret the Petrifilm AC plate. Figure 2 shows a Petrifilm AC plate without colonies.



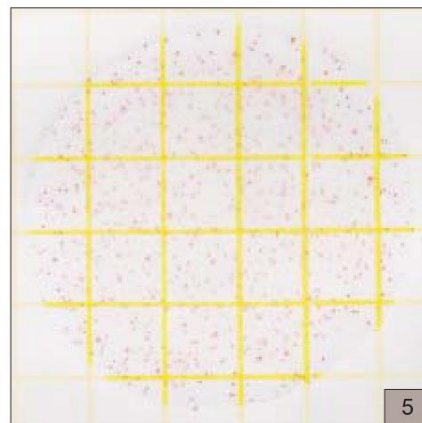
**Count = 16**

Figure 3 shows a Petrifilm AC plate with a few bacterial colonies.



**Count = 143**

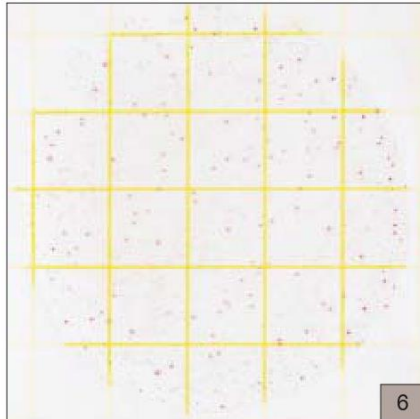
The preferable counting range on a Petrifilm AC plate is 25–250 colonies. See figure 4.



**Estimated Count = 560**

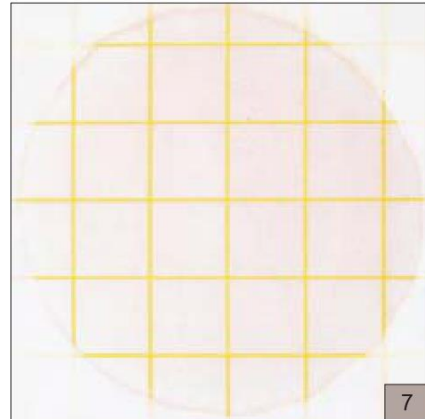
When colonies number more than 250, as in figure 5, estimate the count. Determine the average number of colonies in one square (1 cm<sup>2</sup>) and multiply it by 20 to obtain the total count per plate. The inoculated area on a Petrifilm AC plate is approximately 20 cm<sup>2</sup>.

## TNTC (Too Numerous to Count) To obtain a more accurate count, dilute the sample further



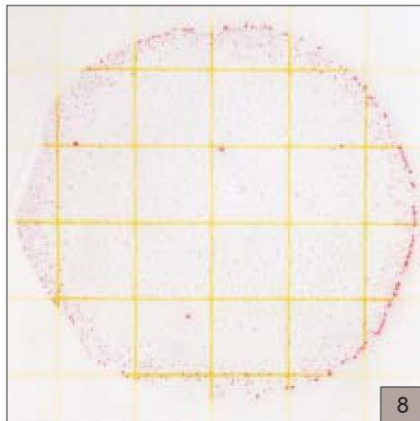
Count = TNTC (Estimated count =  $10^6$ )

Figure 6 shows a Petrifilm AC plate with colonies that are too numerous to count (TNTC).



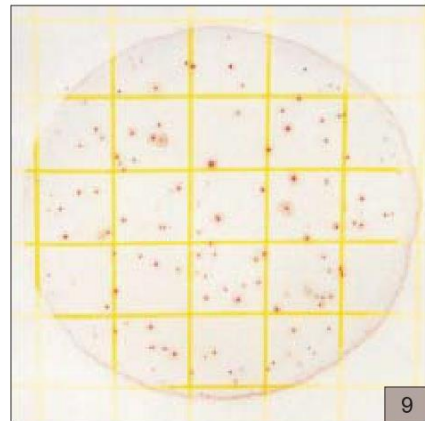
Count = TNTC (Estimated count =  $10^6$ )

With very high counts, the entire growth area may turn pink, as shown in figure 7. You might observe individual colonies only at the edge of the growth area. Record this as a TNTC result.



Count = TNTC (Estimated count =  $10^6$ )

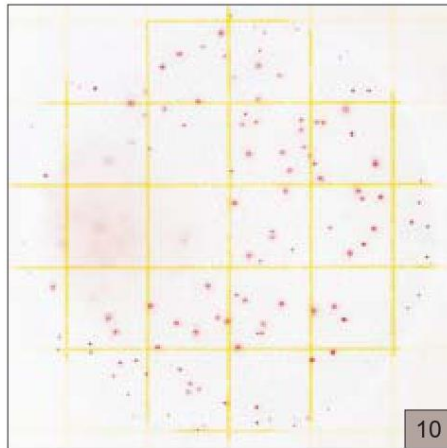
Occasionally, distribution of colonies appears uneven, as shown in figure 8. This is also an indication of a TNTC result.



Count = TNTC (Estimated count =  $10^6$ )

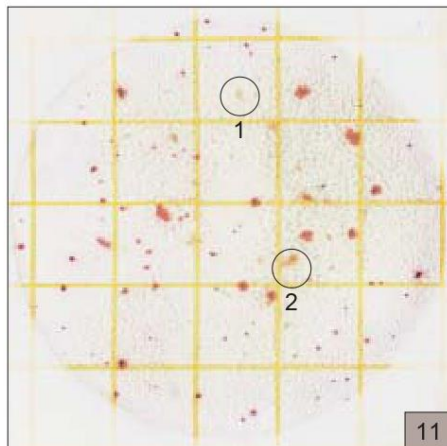
The colonies on the Petrifilm AC plate in figure 9 appear countable at first glance. However, when you look closely at the edge of the growth area, you can see a high concentration of colonies. Record this as a TNTC result.

## Gel Liquefaction and Food Particles



### Estimated Count = 160

A few species of bacteria liquify the gel in the Petrifilm AC plate, as shown in figure 10. When this occurs, determine the average count in a few unaffected squares and then multiply it by 20 to obtain the estimated count. Do not count red spots within the liquified area.



### Count = 83

Because colonies on Petrifilm AC plates are red, you can distinguish them from opaque, irregularly shaped food particles (see circles 1 and 2).

## Anexo 6: Ficha técnica del Agua Peptonada Bufferada

# Technical Specification Sheet



### Buffered Peptone Water (BPW) (NCM0003)

#### Intended Use

Buffered Peptone Water (BPW) is used for the non-selective pre-enrichment of *Salmonella* spp. from food and is not intended for use in the diagnosis of disease or other conditions in humans.

#### Description

Edel and Kamelmacher found that food preservation techniques involving heat, desiccation, preservatives, high osmotic pressure, or pH changes cause sublethal injury to *Salmonella* spp. Pre-enrichment in a non-selective medium allows for repair of cell damage and facilitates the recovery of *Salmonella*. Lactose Broth is frequently used for this purpose, but it may be detrimental to recovering *Salmonellae*. Buffered Peptone Water maintains a high pH over the pre-enrichment period and allows in repair of injured cells that may be sensitive to low pH. This is particularly important for vegetable specimens which have a low buffering capacity. Buffered Peptone Water is used in standard methods.

#### Typical Formulation

Enzymatic Digest of Casein	10.0 g/L
Sodium Chloride	5.0 g/L
Disodium Hydrogen Phosphate (anhydrous)	3.5 g/L
Potassium Dihydrogen Phosphate	1.5 g/L
Final pH: 7.2 ± 0.2 at 25°C	

Formula may be adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

#### Precaution

Refer to SDS

#### Preparation

1. Dissolve 20 g of the medium in one liter of purified water.
2. Mix thoroughly.
3. Autoclave at 121°C for 15 minutes.

#### Test Procedure

Refer to appropriate references for specific procedures using Buffered Peptone Water.

#### Quality Control Specifications

**Dehydrated Appearance:** Powder is homogeneous, free flowing, and white to light beige.

**Prepared Appearance:** Prepared medium is clear, with no to light precipitate and colorless to pale yellow.

**Expected Cultural Response:** Cultural response in Buffered Peptone Water incubated aerobically at 33-38°C and examined for growth after 18 - 24 hours incubation.

Microorganism	Approx. Inoculum (CFU)	Expected Growth
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	10-100	Good growth
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	10-100	Good growth
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC® 14028	10-100	Good growth
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC® 13076	10-100	Good growth

The organisms listed are the minimum that should be used for quality control testing.



620 Leshar Place • Lansing, MI 48912  
800-234-5333 (USA/Canada) • 517-372-9200  
foodsafety@neogen.com • foodsafety.neogen.com

Effective Date: 12/4/2018

Revision: 0

# Technical Specification Sheet



## **Results**

Growth is indicated by turbidity.

## **Expiration**

Refer to expiration date stamped on the container. The dehydrated medium should be discarded if not free flowing, or if the appearance has changed from the original color. Expiry applies to medium in its intact container when stored as directed.

## **Limitation of the Procedure**

Due to nutritional variation, some strains may be encountered that grow poorly or fail to grow on this medium.

## **Storage**

Store dehydrated culture media at 2 – 30°C away from direct sunlight. Once opened and recapped, place the container in a low humidity environment at the same storage temperature. Protect from moisture and light by keeping container tightly closed.

## **References**

1. Edel, W., and E. H. Kampelmacher. 1973. Bull World Hlth. Org. 48:167-174.
2. Angelotti, R. 1963. Microbiological quality of foods. Academic Press, New York.
3. Sadvski, A. Y. 1977. J. Food Technol. 12:85-91.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (eds.). 2015. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Effective Date: 12/4/2018

Revision: 0



620 Leshar Place • Lansing, MI 48912  
800-234-5333 (USA/Canada) • 517-372-9200  
foodsafety@neogen.com • foodsafety.neogen.com

## Anexo 7: Guía de interpretación de Placas Petrifilm de Coliformes Totales / *Escherichia coli*.

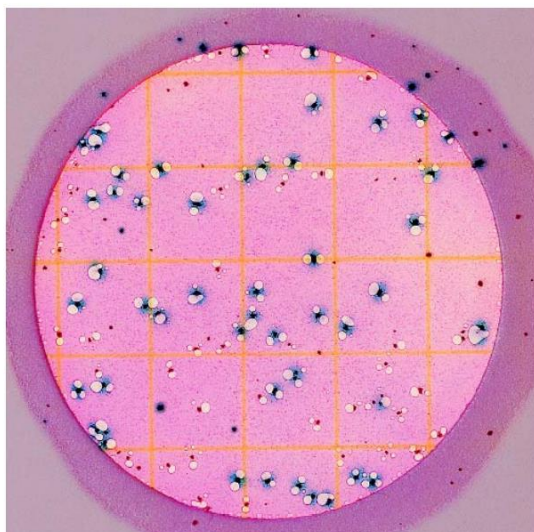
### **3M** Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

Guía de interpretación

Esta guía lo familiarizará con las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales. Para mayor información contáctese con el representante autorizado de productos microbiológicos de 3M más cercano.

Las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad Glucoronidasa y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Aproximadamente el 97% de las colonias de *E. coli* producen beta glucoronidasa la que a su vez forma un precipitado azul asociado a la colonia. La película superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por parte de los Coliformes y *E. coli*. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo azuladas asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm<sup>MR</sup> EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC internacional y el Manual de Bacteriología Analítica (BAM) de la US FDA define Coliformes como bacilos Gram negativos que producen ácido y gas de la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias de Coliformes en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> EC durante su crecimiento van generando ácido, por lo que el indicador de pH va oscureciendo o profundizando el color del gel. El gas queda atrapado alrededor de la colonia confirmando la presencia de un coliforme.



La identificación de *E. coli* puede variar entre los países (Vea las recomendaciones de uso en la sección incubación, las temperaturas y tiempos sugeridos)

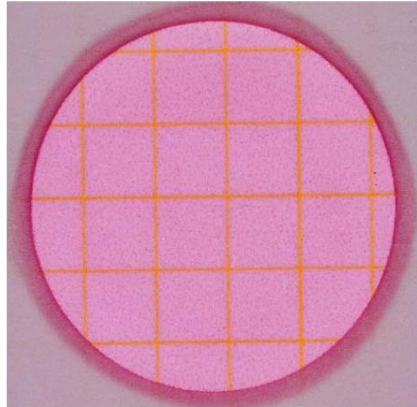
Método validado AOAC internacional  
**Conteo de *E. coli* = 49** (colonias azules con gas)  
**Conteo de Coliformes Totales = 87** (colonias rojas y azules con gas)

Verifique según las normas locales de su país la aplicación del sistema de conteo y referencia.

No use esta placa para la detección de *E. coli* 0157:H7. Como la mayoría de otros medios para identificación de *E. coli* y Coliformes, esta placa no señalará la presencia de la cepa 0157.

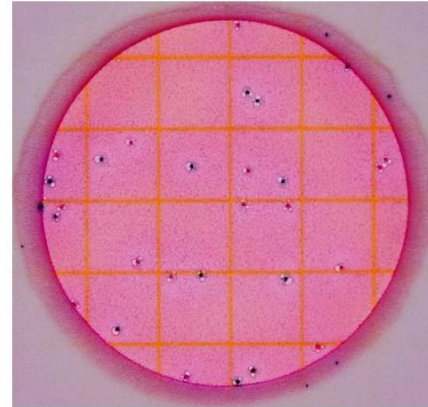
**3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup>**  
**para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales**

Guía de interpretación



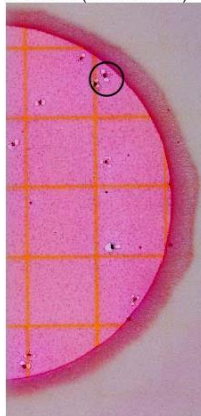
**Conteo de *E. coli* / Coliformes = 0**

Observe el cambio del color del gel desde las Figuras 2 hasta la 8. Al aumentar el conteo de *E. coli* o Coliformes, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado. Las burbujas de fondo son características del gel y no son resultado del crecimiento de Coliformes (ver recuadro 1).

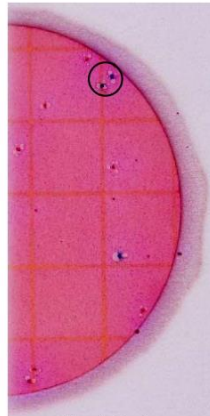


**Conteo de *E. coli* = 13**  
**Conteo de Coliformes = 28**

El rango recomendado de conteo en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales es de 15 a 150 colonias. No cuente las colonias que ha crecido en la zona de hule espuma por cuanto han sido removidas de la influencia del medio.



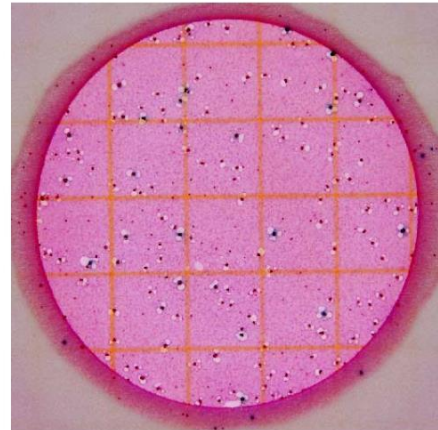
Luz posterior



Luz de frente

**Conteo de *E. coli* = 3**

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia. El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.



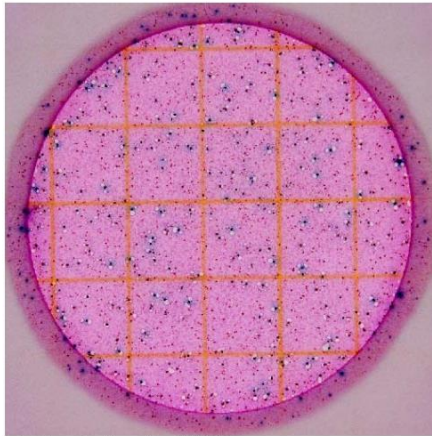
**Conteo de *E. coli* = 17**  
**Conteo de Coliformes = 150 "estimado"**

El área circular de crecimiento es de 20 cm<sup>2</sup> aproximadamente. Conteos estimados pueden hacerse en placas que contengan más de 150 colonias, a través del conteo de cuadros representativos y determinando el promedio por cuadrado. Multiplique el promedio por 20 y determine el valor estimado por placa.

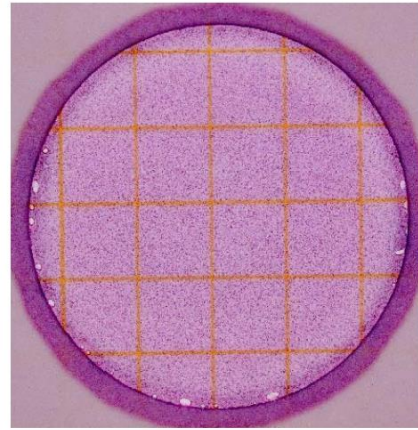
# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

Guía de interpretación

MNPC (muchos números para contar), para obtener mejores resultados, diluya su muestra.



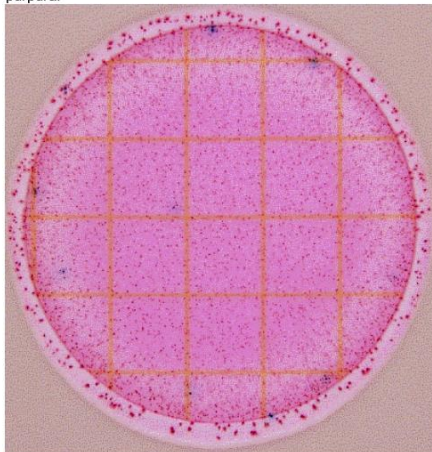
Conteo de *E. coli* = MNPC



Conteo de *E. coli* = MNPC

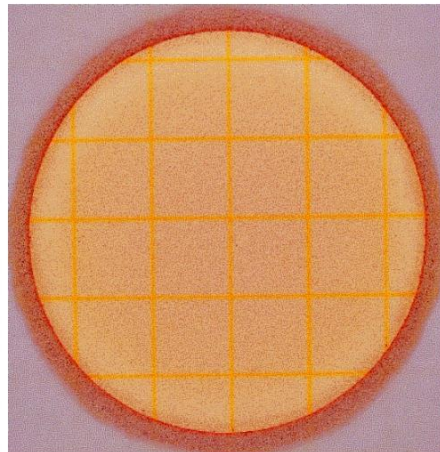
La Placa Petrifilm<sup>MR</sup> EC con crecimiento excesivo (MNPC = muy numeroso para contar) tienen una de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/u oscurecimiento del color del gel de color rojo a rojo púrpura.

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.



Conteo de *E. coli* = 8 (presuntivo)  
Conteo de Coliformes = MNPC

Altas concentraciones de *E. coli* pueden ocasionar que el área de crecimiento cambie a color rojo púrpura.



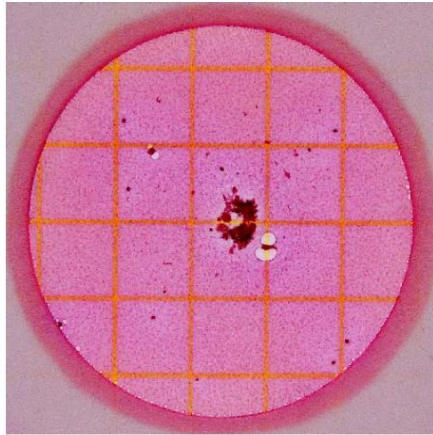
Conteo Total = MNPC

Cuando existe presencia de gran número de organismos no Coliformes como *Pseudomonas* en las Placas Petrifilm<sup>MR</sup> EC el gel cambia a color amarillento. Reporte conteo estimado MNPC para Coliformes y realice nuevas siembras a mayor dilución.

# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> para el Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales

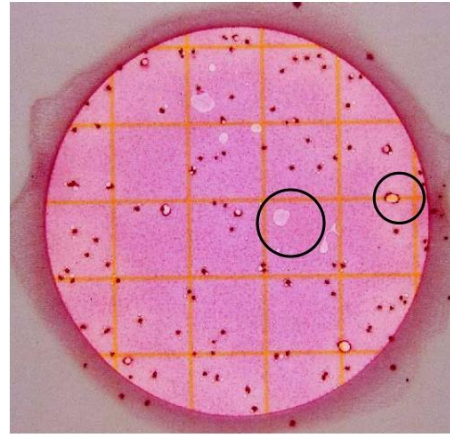
Guía de interpretación

Burbujas de aire y partículas de productos



Conteo de Coliformes = 3

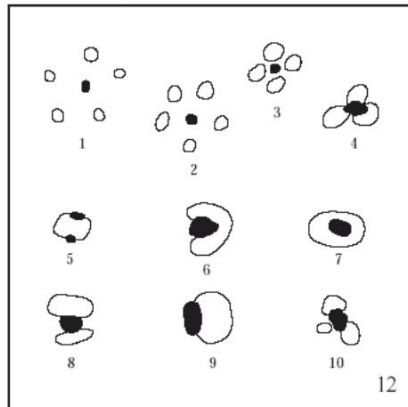
Las partículas de alimentos son de forma irregular y no están asociadas con burbujas de gas.



Conteo de Coliformes = 78

Las burbujas pueden resultar de una inoculación inadecuada de la Placa Petrifilm<sup>MR</sup>, estas son de forma irregular y no están asociadas con una colonia roja. Vea el círculo en la parte central de la placa.

La forma o patrón de las burbujas puede variar. El gas puede romper la colonia como se observa en el círculo del lado derecho de la placa.



Los ejemplos 1 – 10 muestra varios patrones o formas de burbujas de gas asociadas con las colonias. Todas deben ser enumeradas.

## Anexo 8: Guía de interpretación de Placas Petrifilm de Mohos y levaduras

**3M**

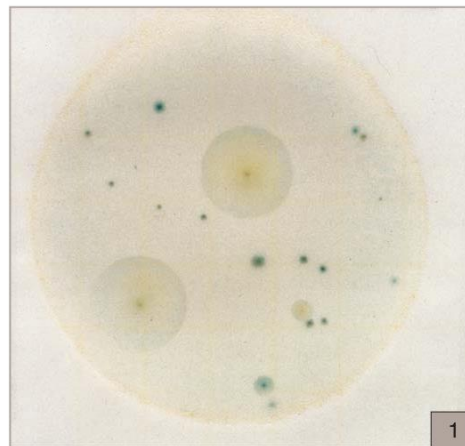
Interpretation Guide

**Petrifilm™**

**Yeast and Mold Count Plate**

This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates. For more information, contact the 3M Microbiology representative nearest you.

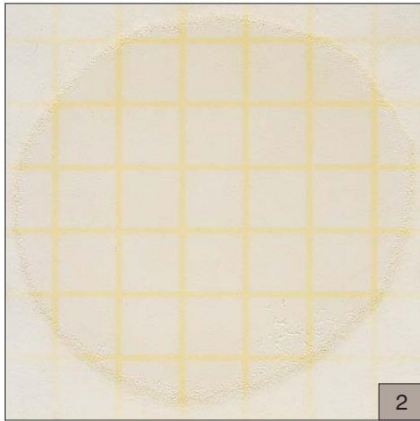
The Petrifilm™ Yeast and Mold (YM) Count Plate is a ready-made culture medium that contains a cold-water soluble gelling agent, nutrients and an indicator dye to provide contrast and facilitate counting.



**Total Count = 20**  
**Yeast Count = 16**  
**Mold Count = 4**

This Petrifilm YM Plate contains both yeast colonies and mold colonies.

## 3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plate



### Yeast and Mold Count = 0

Figure 2 shows a Petrifilm YM Plate without yeast or molds.

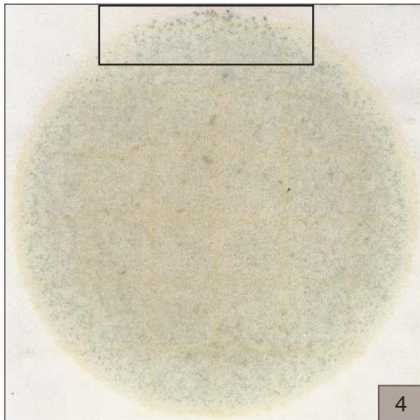


### Estimated Total Count ~ 500

### Estimated Yeast Count ~ 480

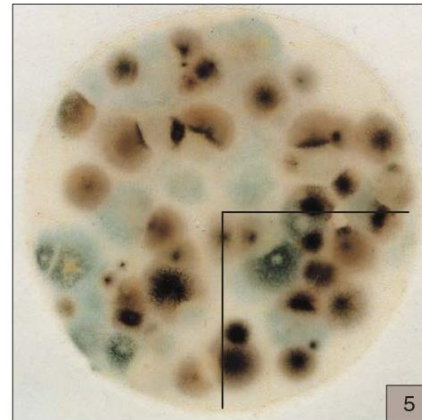
### Mold Count = 21

When colonies number more than 150, estimate the count. Determine the average number of colonies in one square (1 cm<sup>2</sup>) and multiply it by 30 to obtain the total count per plate. The inoculated area is approximately 30 cm<sup>2</sup>. Yeast colonies may range in color from tan (as in this example) to pink to blue-green.



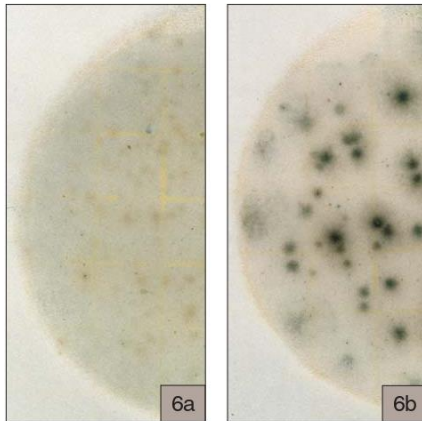
### Estimated Yeast Count ~ TNTC (actual count > 10<sup>6</sup>)

The Petrifilm YM Plate in figure 4 contains yeast colonies too numerous to count (TNTC). The small, blue colonies at the edge of the plate (highlighted in the box) are present throughout the entire plate although less visible.



### Estimated Mold Count ~ 64

The mold colonies in figure 5 are beginning to crowd and overlap each other on the plate. Count each colony margin or focus. The plate can be divided into sections to assist in counting. In this example, approximately 1/4 of the plate was counted, then the number of colonies counted was multiplied by 4 to get the estimated count on the plate. The section shown has 16 molds.

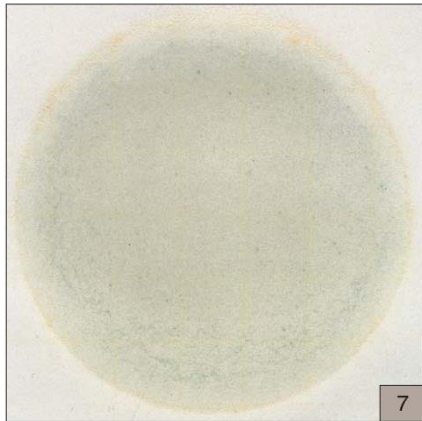


Mold Count - TNTC

Mold Count = 64

Plates in figures 6a and 6b are the same sample. Figure 6a is a 1:10 dilution and has colonies that are small, faint and numerous, making it difficult to count. Figure 6b is a 1:100 dilution and shows how diluting product to obtain a colony count of less than 150 colonies makes counting easier. As with most growth media, in a highly competitive environment (such as figure 6a), typical colony growth will be inhibited. For heavily contaminated samples such as these, higher dilutions are recommended for a more accurate count and more typical colony growth (as in figure 6b).

### PHOSPHATASE REACTION



Yeast and Mold Count = 0



Yeast and Mold Count = 0

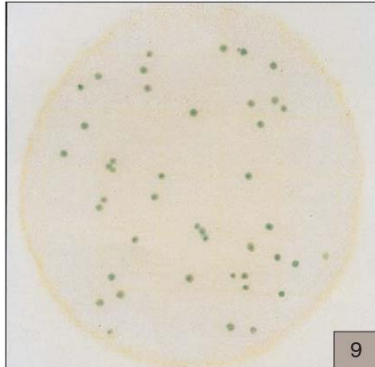
Petrifilm YM Plates utilize a phosphatase indicator dye. Therefore, some food products that contain phosphatase may cause a blue color reaction to occur on the Petrifilm YM Plate. Two types of color reactions are sometimes seen: a uniform blue background color or intense, blue spots. Figure 7 shows uniform blue background color and figure 8 shows intense blue spots which are often seen with spices or granulated products. Figure 8 also shows food particles that yielded phosphatase.

To reduce a phosphatase reaction, follow one or more of these techniques:

1. **Dilute Sample:** Further sample dilution will minimize blue background color or reduce the number of intense blue spots.
2. **Sample Preparation:** Mix sample and let settle for 3–5 minutes before plating. Draw sample from center portion of sample container or use filtered homogenizer bag to avoid plating large particles.
3. **Check and Note:** Observe plates within 24–36 hours of incubation and make note of any color change to aid in final interpretation.

# Macroscopic Differentiation

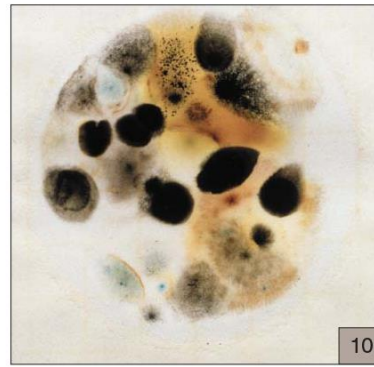
If it is necessary to differentiate yeast and mold colonies on Petrifilm Yeast and Mold Plates, look for one or more of the following typical characteristics mentioned below.



**Yeast Count = 43**

**Figure 9 shows typical yeast colonies. Characteristics typical of yeast include:**

- Colony is small
- Colony has defined edges
- Colony color can range from tan to blue-green
- Colony may appear raised
- Colony typically is uniform in color, no center focus (dark center)



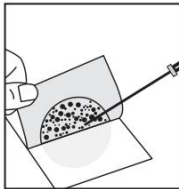
**Mold Count = 29**

**Figure 10 shows typical mold colonies. Characteristics typical of mold include:**

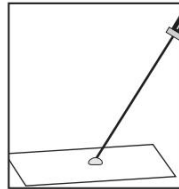
- Colony grows large
- Colony has diffuse edges
- Colony color may vary as molds produce a variety of pigments (i.e., brown, beige, orange, blue-green)
- Colony appears flat
- Colony usually has a center focus (i.e., usually darker in color, may also be different color)

# Microscopic Differentiation

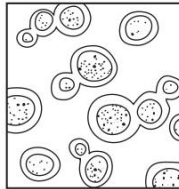
Yeasts and molds are closely related and cannot always be distinguished from each other without microscopic examination.



**Figure 11**  
To isolate colonies for further identification, lift the top film and pick from the colony within the gel using a loop or similar device.



**Figure 12**  
Transfer the colony to a drop of sterile water on a microscope slide, cover with a coverslip, and view under a microscope.



**Figure 13**  
Yeast typically appear oval and may show budding.



**Figure 14**  
Mold typically appear as branching or thread-like filaments (mycelium).



**Figure 15**  
Molds shown above are in various stages of germination.



**3M Microbiology**  
3M Center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1-800-228-3957  
microbiology@mmm.com  
www.3M.com/microbiology

**3M Canada**  
Post Office Box 5757  
London, Ontario N6A4T1  
Canada  
1-800-563-2921

**3M Europe**  
Laboratoires 3M Santé  
Boulevard de l'Oise  
95029 Cergy Pontoise Cedex  
France  
33 1 30 30 85 71

**3M Latin America**  
Avenida Santa Fe 55, Santa Fe  
C.P. 01210 Mexico City  
Mexico  
5255-5270-0400

**3M AsiaPacific**  
9 Tagore Lane,  
Singapore 787472  
65-64548611

**3M Japan**  
31-1, Tamagaradai, 2-Chome  
Setagaya-Ku, Tokyo  
158-8583, Japan  
81-3-3709-8289

**3M Australia/New Zealand**  
9 - 15 Chilvers Road  
Thornleigh, NSW 2120  
Australia  
1300 363 878



Recycled Paper  
40% pre-consumer  
10% post-consumer  
Printed in U.S.A.  
© 3M 2004  
70-2008-4208-4 (14-35)ii

## Anexo 9: Guía de interpretación de Placas Petrifilm de *Staphylococcus aureus*.

**3M**

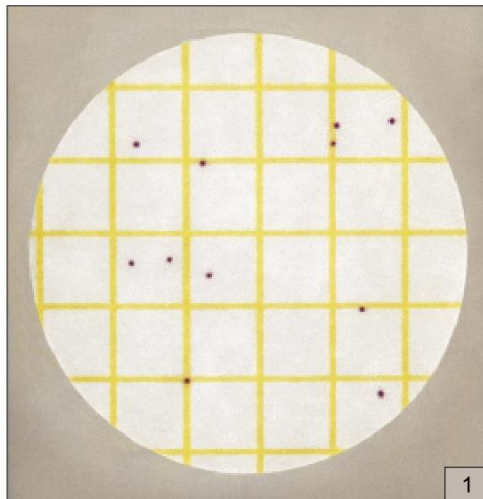
Interpretation Guide

### **Petrifilm™** Staph Express Count Plate

This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates. For more information, contact the 3M Microbiology representative nearest you.

The Petrifilm™ Staph Express Count Plate is a sample-ready culture medium system which contains a cold-water-soluble gelling agent. The chromogenic, modified Baird-Parker medium in the plate is selective and differential for *Staphylococcus aureus*. Red-violet colonies on the plate are *S. aureus*.

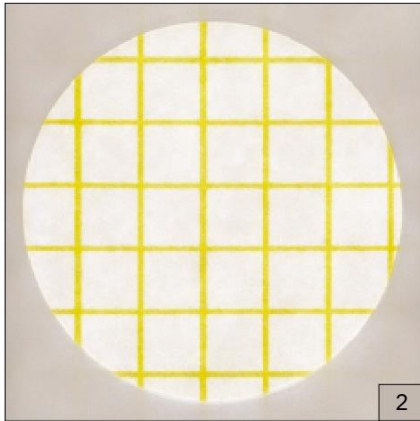
If you encounter background flora in your staph testing, the 3M Petrifilm Staph Express Disk may be used to identify *S. aureus* from all suspect colonies. The Petrifilm Staph Express Disk should be used whenever colonies other than red-violet are present on the plate; for example, black colonies or blue-green colonies. The Petrifilm Staph Express Disk contains a dye and deoxyribonucleic acid (DNA). *S. aureus* produces deoxyribonuclease (DNase) and the DNase reacts with the dye to form pink zones. When the disk is inserted into the plate, *S. aureus* (and occasionally, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus intermedius*) produce a pink zone. *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. intermedius* comprise the majority of the group of organisms commonly known as coagulase-positive staphylococci. Most other types of bacteria do not produce pink zones.



#### ***S. aureus* Count = 11**

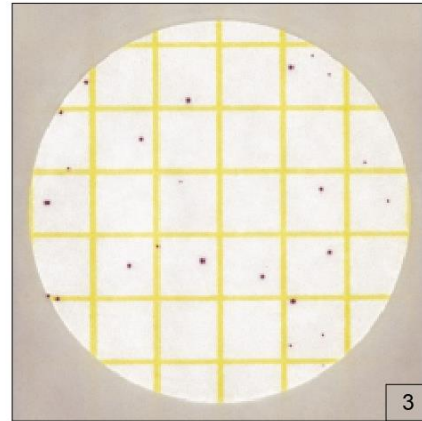
This picture shows only red-violet colonies. Count all red-violet colonies as *S. aureus*. The test is complete.

## 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plate



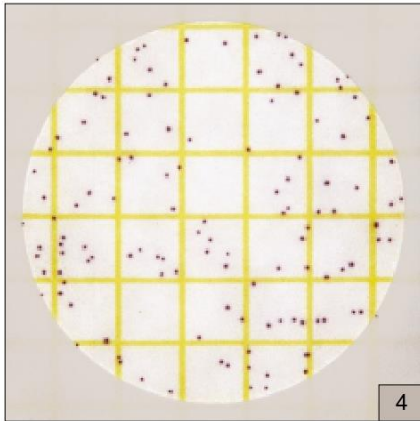
### ***S. aureus* Count = 0**

This Petrifilm Plate has no colonies after 24 hours of incubation. The test is complete.



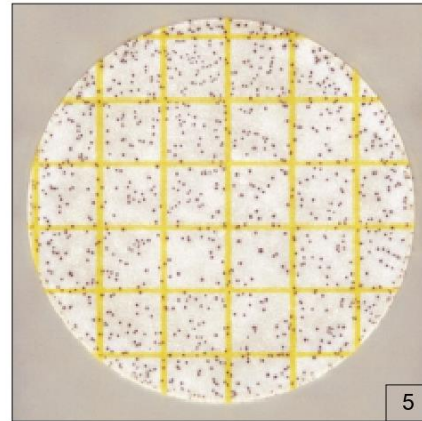
### ***S. aureus* Count = 24**

*S. aureus* colonies may vary in size. Count all red-violet colonies regardless of size. Use an illuminated magnifier so that the colonies are easier to see. The test is complete.



### ***S. aureus* Count = 122**

The recommended counting limit on a Petrifilm Staph Express Count Plate is 150 *S. aureus* colonies. The plate in Figure 4 is approaching the counting limit. The test is complete.



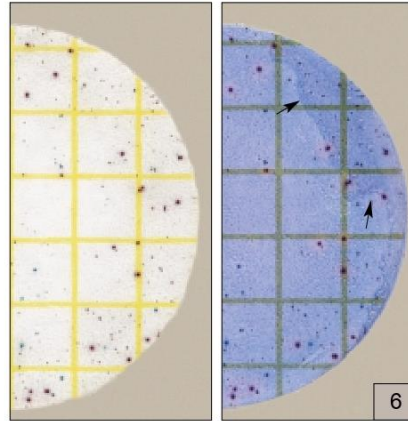
### **Estimated *S. aureus* Count ~ 850E**

When the number of *S. aureus* colonies exceeds 150, the colonies become too numerous to count (TNTC). Estimate the count or dilute your sample further. To estimate the count, count the colonies in one representative square and multiply that number by 30.

# 3M™ Petrifilm™ Staph Express Disk

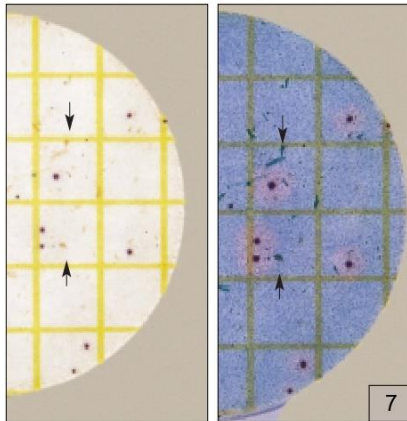
The Petrifilm Staph Express Disk should be used whenever colonies other than red-violet are present on the plate – for example, black or blue-green colonies – as they may obscure *S. aureus*. Black colonies may or may not be *S. aureus*. Blue-green colonies are not *S. aureus*.

When the disk is inserted into the plate and they are incubated, pink DNase zones form. Pink zones are *S. aureus* the majority of the time but occasionally may be *S. hyicus* or *S. intermedius*. The group of organisms commonly known as coagulase - positive staphylococci is mainly comprised of *S. aureus*, *S. hyicus* and *S. intermedius*.



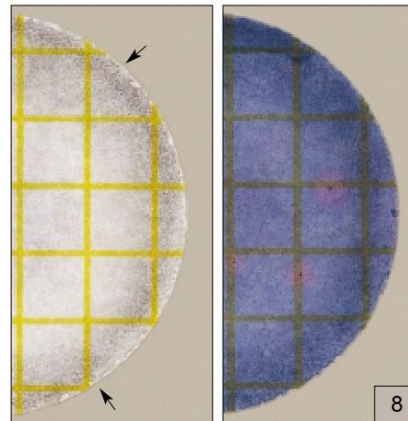
***S. aureus* Count = 17**

Count pink zones as *S. aureus*, regardless of the size of the zone. The arrows in the figure show gel splitting. Gel splitting does not affect the performance.



***S. aureus* Count = 7**

Food particles in this figure are irregularly shaped. *S. aureus* is easier to enumerate once the disk has been inserted because the zones are more clearly distinguished from the food.




***S. aureus* Count = 3**

Individual colonies are difficult to see due to food and/or large numbers of background bacteria as depicted by discoloration of the plate in this figure. Insert the disk and count pink zones as *S. aureus*.

**Anexo 10: Pipeta de volumen variable de 100 – 1000 ul**



## Anexo 11: Certificados de análisis de las Placas Petrifilm



Created by Authorized Personnel: Lois Johnson, 2019-02-25

Manufacture Date: 2019-02-18

Expiration Date: 2020-08-18

---

### Product Manufacturing Certificate

### Certificate of Analysis

---

Product: 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates 6400, 6403, 6406 or 6442  
 Batch: 3343HJ  
 Stock Number: 70-2005-7212-4 or 70-2006-7784-0 or 70-2005-7215-7 or 70-2007-7071-0  
 ERP Number: 7100039310 or 7100048022 or 7100039374 or 7100047858

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> ATCC 19257	≥-3.0*	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥-3.0*	Pass

\*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar medium.

#### ISO 11133:2014 Performance Testing

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013)	Productivity Ratio ≥ 0.7	Pass
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633 (WDCM 00003)	Productivity Ratio ≥ 0.7	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012)	Productivity Ratio ≥ 0.7	Pass
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (WDCM 00034)	Productivity Ratio ≥ 0.7	Pass
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (WDCM 00058)	Productivity Ratio ≥ 0.7	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency.

3M Health Care  
 3M Center, Building 275-5W-05  
 St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
 Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 8

# AC

Aerobic Count Plate



Created by Authorized Personnel: Lola Johnson, 2019-04-29

Manufacture Date: 2019-04-23

Expiration Date: 2020-10-21

### Product Manufacturing Certificate

### Certificate of Analysis

Product: 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 6404 or 6414 or 6444  
Batch: 334CNS  
Stock Number: 70-2005-7213-2 or 70-2005-9014-2 or 70-2007-7073-6  
ERP Number: 7100039312 or 7100039397 or 7100047857

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥-3.0*, blue with gas	Pass
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51816	≥-3.0*, red with gas	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Productivity Ratio ≥ 0.5	Pass
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 14506	No Growth	Pass
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	No Growth	Pass
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Atypical Growth	Pass

\*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar medium.

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency.

3M Health Care  
3M Center, Building 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 7

**EC**  
*E. coli*/Coliform Count Plate



Created by Authorized Personnel: Lola Johnson, 2019-02-14

Manufacture Date: 2019-02-05

Expiration Date: 2020-08-05

### Product Manufacturing Certificate

### Certificate of Analysis

Product: 6407, 6417 or 6445 3M™ Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plates  
Batch: 333Y4R  
Stock Number: 70-2005-6124-2 or 70-2005-9015-9 or 70-2007-7904-2  
ERP Number: 7100039379 or 7100039423 or 7100047854

Organism Tested	Minimum Growth	Result
<i>Aspergillus niger</i> , M6	Productivity Ratio $\geq$ 0.7	Pass
<i>Paecilomyces</i> species, M10	Productivity Ratio $\geq$ 0.7	Pass
<i>Botrytis</i> species, M97	Productivity Ratio $\geq$ 0.7	Pass
<i>Hansenula anomala</i> , Y28	Productivity Ratio $\geq$ 0.7	Pass
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Y41	Productivity Ratio $\geq$ 0.7	Pass
<i>Enterococcus faecalis</i>	No Growth	Pass
<i>Acinetobacter</i> species	No Growth	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency and is an FDA registered drug and device site.

3M Health Care PO Box 5227  
Brookings, SD 57006-5227 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 6

**YM**  
Yeast and Mold Count Plate



Created by Authorized Personnel: Jarosław Matczak, 2019-02-28

Manufacture Date: 2019-02-11

Expiration Date: 2020-08-11

**Product Manufacturing Certificate**

**Certificate of Analysis**

Product: 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates 6446, 6490 or 6491  
 Batch: 4183A00080  
 Stock Number: 70-2007-9229-2 or 70-2007-9230-0 or 70-2007-9228-4  
 ERP Number: 7100090291 or 7100090292 or 7100090307

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49476	Productivity Ratio ≥ 0.5	Pass
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	No or Atypical Growth	Pass
<i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC 9372	No or Atypical Growth	Pass

**ISO 11133:2014 Performance Testing**

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (WDCM 00032)	Productivity Ratio ≥ 0.5	Pass
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (WDCM 00034)	Productivity Ratio ≥ 0.5	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013)	No Growth	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012)	No Growth	Pass
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 (WDCM 00036)	No or Atypical Growth	Pass
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305 (WDCM 00159)	No or Atypical Growth	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Wrocław is certified to ISO 9001 through an independent agency.

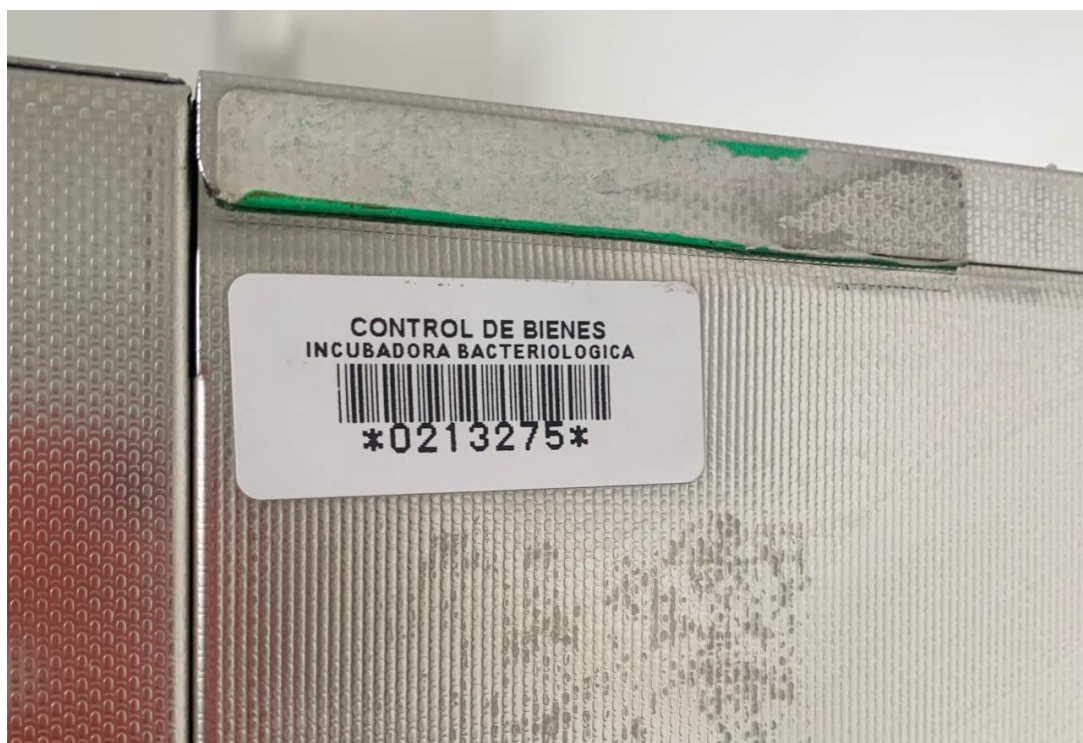
3M Health Care  
 3M Center, Building 275-5W-05  
 St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
 Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 11

**STX**  
 Staph Express Count Plate

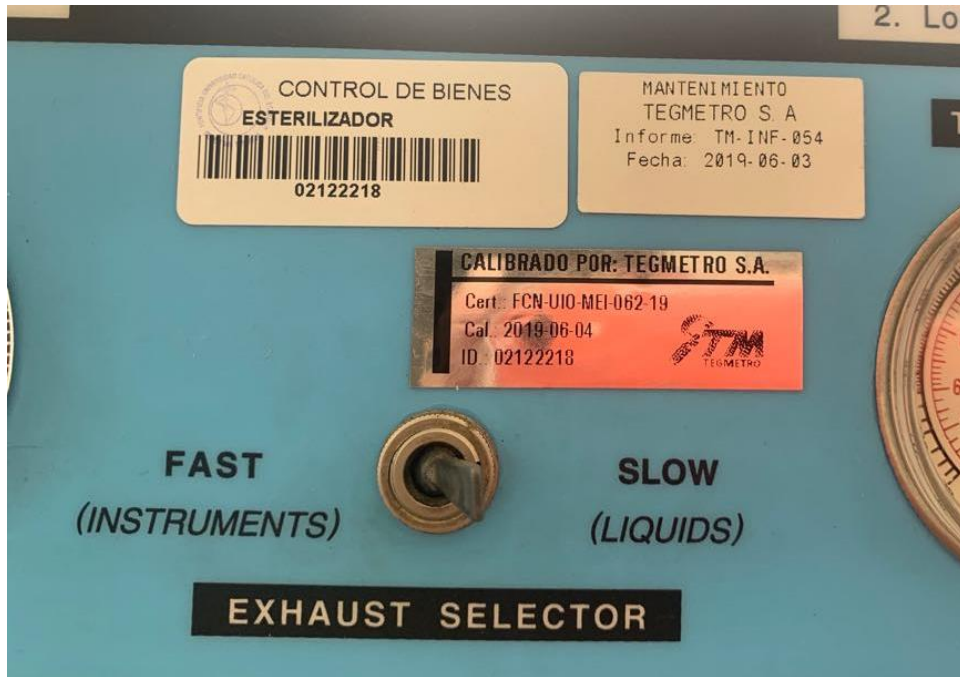
**Anexo 12: Incubadora de 35° - 37°C (Código de bienes)**



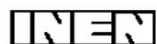
**Anexo 13: Incubadora de 25°C (Código de bienes)**



**Anexo 14: Autoclave-Esterilizador (Código de bienes)**



## Anexo 15: Norma NTE-ENEN 2390:2004



### INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

---

---

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA**

**NTE INEN 2 390:2004**

---

---

### **LEGUMINOSAS. GRANO DESAMARGADO DE CHOCHO. REQUISITOS.**

#### **Primera Edición**

PULSES. LUPIN UNBITTER GRAIN. SPECIFICATIONS.

First Edition

---

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, granos, granos y cereales, chocho, requisitos.  
AG 05.04-415  
CDU: 633.3  
CIU: 1110  
ICS: 67.060

**Norma Técnica  
Ecuatoriana  
Voluntaria**

**LEGUMINOSAS.  
GRANO DESAMARGADO DE CHOCHO.  
REQUISITOS.**

**NTE INEN  
2 390:2004  
2005-09**

### 1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos de calidad que debe cumplir el grano de chocho desamargado para consumo humano.

### 2. DEFINICIONES

2.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 2 389 y, las que a continuación se detallan:

2.1.1 *Grano desamargado.* Producto comestible limpio húmedo, que ha sido sometido a un proceso de desamargamiento (térmico-hídrico), de color predominantemente blanco-crema, sabor y olor característico, libre de olores extraños y del sabor amargo.

2.1.2 *Grano imperfecto.* Grano de chocho no hidratado, manchado interna o externamente, decolorado, delgado o desnudo y todo pedazo de grano de chocho, cualquiera que sea su tamaño.

2.1.3 *Grano dañado.* Grano que ha sufrido deterioro, debido a la acción de microorganismos y otras causas.

2.1.3.1 *Grano dañado por microorganismos.* Grano que ha sido alterado en sus características organolépticas debido a la acción de microorganismos dañinos.

2.1.3.2 *Granos desnudos y/o pelados.* Comprende todo grano de chocho desprovisto total o parcialmente de su cáscara (testa o cubierta).

2.1.4 *Olores objetables.* Todos aquellos olores diferentes del característico del grano de chocho desamargado.

2.1.5 *Chocho infectado.* Grano con presencia parcial o total de microorganismos vivos como hongos, bacterias y levaduras.

2.1.6 *Chocho limpio.* Aquel que no contiene impurezas.

2.1.7 *Grado muestra.* Es el grano de chocho que no cumple con los requisitos de calidad establecidos en esta norma.

### 3 CLASIFICACIÓN

3.1 El grano de chocho de acuerdo al porcentaje que queda retenido en los tamices de 9 mm (28/64 plg.), 8 mm (26/64 plg.) y 7 mm (25/64 plg.) (NTE INEN 1 515) se clasifica en los siguientes tipos:

3.1.1 *Grano de chocho tipo I.* Es aquel formado por granos de color uniforme, retenidos en una criba o zaranda de 9,0 mm de diámetro.

3.1.2 *Grano de chocho tipo II.* Es aquel formado por granos de color uniforme, que pasan la criba de 9,0 mm y quedan retenidos sobre la criba de 7,0 mm.

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, granos, granos y cereales, chocho, requisitos.

#### 4. DISPOSICIONES GENERALES

##### 4.1 Designación

4.1.1 El grano de chocho desamargado para el consumo humano se designa por su nombre y tipo seguido de la norma de referencia.

Ejemplo: Grano de chocho desamargado Tipo I. NTE INEN 2 390.

#### 5. REQUISITOS

##### 5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El grano de chocho desamargado para el consumo humano debe cumplir los requisitos indicados en las tablas 1, 2 y 3.

**TABLA 1: Composición química proximal del chocho desamargado**

REQUISITOS	UNIDAD	VALOR	MÉTODO DE ENSAYO
Humedad	%	72 – 75	INEN 1 235
Materia Seca	%	28 – 25	INEN 1 235
Proteína	%	50 – 52	AOAC 955.04
Grasa	%	19 – 24	AOAC 920.85
Fibra	%	7 – 9	AOAC 962.09
Cenizas	%	1,9 – 3,0	AOAC 942.05
ELN. (ver nota 1)	%	12,0 – 22,0	Por diferencia
Energía	cal/g	5 369 – 6 476	Aplicación de la Ecuación 1
Alcaloides	%	0,02 - 0,07	Von Baer, D. y colaboradores. 1979 (ver nota 2)

Nota 1: ELN. = Extracto Libre de Nitrógeno = 100 – [fibra + proteína + grasa + cenizas].

Nota 2: Método modificado por Vera, C., Escuela Politécnica Nacional, 1982, Quito.

**TABLA 2: Análisis microbiológico del chocho desamargado**

REQUISITOS	UNIDAD	VALOR	METODO DE ENSAYO
Recuento aerobios totales	UFC/g	$18 \times 10^2 - 1 \times 10^3$	NTE INEN 1 529-5
Recuento coliformes totales	NMP/g	$10 - 10^2$	NTE INEN 1 529-7
Recuento de hongos y levaduras	UFC/cm <sup>3</sup>	$0 - 5 \times 10^2$	NTE INEN 1 529-10
<i>Escherichia coli</i>		Ausencia	NTE INEN 1 529-8
Tipificación <i>E. Coli</i> 0157 HT		Ausencia	NTE INEN 1 529-8

UFC = Unidades Formadoras de Colonias.  
NMP = Número Más Probable.

**TABLA 3: Análisis físico del chocho desamargado**

REQUISITOS	UNIDAD	VALOR
Chocho dañado (clima), máx.	%	0,2
Chocho dañado (insectos), máx.	%	0,2
Con alteración de color, máx.	%	0,2
Material vegetal extraño, máx.	%	0,05
Material mineral, máx.	%	0,001

5.1.2 El grano de chocho desamargado para el consumo humano debe estar libre de contaminantes químicos.

(Continúa)

5.1.3 El color, sabor, olor del grano de chocho desamargado para el consumo humano se determina por evaluación sensorial, de acuerdo con las especificaciones de calidad del producto, establecidas en la tabla 4:

**TABLA 4: Especificaciones de calidad del producto desamargado mediante el proceso térmico-hídrico**

<b>Descripción</b>	Producto comestible limpio húmedo
<b>Presentación</b>	Natural, uniforme, color blanco-crema preferentemente
<b>Olor</b>	Característico, libre de olores extraños
<b>Sabor</b>	Característico del chocho, libre del sabor amargo

## 5.2 Requisitos complementarios

5.2.1 La temperatura ambiente en el área de pesado, empaclado y sellado no debe pasar de los 17°C.

### 5.2.2 Comercialización

5.2.2.1 *Selección.* El grano de chocho desamargado debe ser seleccionado antes del empaclado; en esta etapa se elimina granos de mala calidad. El grano debe presentar un color blanco-crema preferentemente, uniforme, sabor y olor característicos. El grano de color azulado y/o verde, al igual que otros defectos detectables visualmente en estado húmedo, debe ser separado y desechado.

5.2.2.2 *Pesada.* La pesada debe realizarse en forma aséptica, para evitar que el grano se contamine.

### 5.2.3 Disposiciones sobre la presentación

5.2.3.1 El contenido de cada envase debe ser homogéneo y estar constituido únicamente por granos de chocho desamargado del mismo origen genético, calidad y tipo.

5.2.4 *Almacenamiento.* Para prolongar la vida útil del producto al granel o en bolsas de plástico, el grano se debe mantener en refrigeración. También se puede congelarlo, en este caso se produce una ligera modificación de la textura a partir de los seis meses de almacenamiento.

## 6. INSPECCIÓN

### 6.1 Muestreo

6.1.1 El muestreo se efectuará de acuerdo a la NTE INEN 1 233.

### 6.2 Aceptación o rechazo

6.2.1 Si la muestra ensayada no cumple con uno o más de los requisitos indicados en esta norma, se considera no apta para el consumo humano y se rechaza el lote.

6.2.2 En caso de discrepancia, se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tales efectos.

6.2.2.1 Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso, será motivo para rechazar el lote.

6.3 La inspección del grano desamargado de chocho para consumo humano debe ser efectuado por la autoridad competente, quien elaborará su informe basado en las normas establecidas en nuestro país o país de origen.

(Continúa)

## 7. MÉTODOS DE ENSAYO

**7.1 Cálculo de la energía.** Se realiza aplicando la siguiente ecuación:

$$E = [(grasa \times 0,0972) + (proteína \times 0,0539) + (fibra \times 0,0458) + (ELN \times 0,0422)] \times 1\ 000 \quad (\text{Ec. 1})$$

En donde:

E = energía, cal/g.

**7.1.1** Los resultados obtenidos son similares a los realizados con la bomba calorimétrica.

### 7.2 Determinación de alcaloides

**7.2.1** *Determinación cuantitativa de alcaloides* [Bon Vaer D. y colaboradores, 1979 (Método modificado por la Escuela Politécnica Nacional, por Vera, C. Julio, 1982, Quito)]

#### 7.2.1.1 Procedimiento

- Pesar 0,2 g de muestra de chocho previamente molida y homogenizada en un mortero.
- Agregar 0,6 g de Oxido de Aluminio Básico, mezclar bien hasta formar un polvo impalpable.
- Añadir 0,2 ml de KOH al 15%, mezclar bien hasta formar una pasta homogénea.
- Transferir a tubos de centrifuga y agregar 6 ml de cloroformo p.a. Mezclar con una varilla y centrifugar por 2 minutos (entre 1 500 y 3 000 rpm).
- Recibir la fase clorofórmica en vasos perfectamente limpios provistos de embudos con algodón en la base del cono, repetir las extracciones por lo menos 10 veces, hasta que 1 ml del último extracto evaporado a sequedad en un vaso de 50 ml, suspendido en 4 ó 5 gotas de ácido sulfúrico 0,01N presente reacción negativa con 3 ó 4 gotas del reactivo de Dragendorf.
- Se lava el embudo por dentro y por fuera con aproximadamente 15 ml de cloroformo.
- Se recogen todos los lavados en el vaso de los extractos, evaporar con calor suave sin llegar a sequedad, dejando en la etapa final 1 ml, que desaparecerá rápidamente al enfriar en un recipiente con agua fría.
- Se agrega 5 ml de ácido sulfúrico 0,01N, dos gotas de rojo de metilo y se titula el exceso de ácido con NaOH 0,01N.
- El contenido de alcaloides se reporta como lupanina.

#### 7.2.1.2 Cálculos

1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01N equivale a 2,48 mg de lupanina.

$$\% \text{ alcaloides} = \frac{V \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ gastado} \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times 24,8 \times \text{factor de corrección}}{\text{Masa de la muestra}} \quad (\text{Ec. 2})$$

## 8. ENVASADO

**8.1** Los granos de chocho desamargados deben envasarse de tal manera que se proteja adecuadamente el producto.

**8.2** El material empleado dentro de los envases debe ser nuevo, limpio y de calidad tal que evite cualquier daño externo o interno al producto.

**8.3** Los envases deben satisfacer las características de calidad, higiene, ventilación y resistencia para asegurar una manipulación, transporte y conservación adecuados de los granos de chocho desamargado. Los envases deben estar exentos de cualquier materia u olor extraños.

**8.4** El empaçado se debe realizar en condiciones asépticas.

(Continúa)