



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA
EN ALIMENTOS
Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA



Tema: Estandarización de procesos de control de calidad para análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las grasas de una curtiduría de Ambato.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Carla Michelle Larcos Castro

Tutor: Nelly Esther Flores Tapia, PhD.

Ambato – Ecuador

Febrero – 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Nelly Esther Flores Tapia

CERTIFICA

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Titulación y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 15 de Enero de 2024

PhD. Nelly Esther Flores Tapia

C.I. 1716253305

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Carla Michelle Larcos Castro, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carla Michelle Larcos Castro', written over a horizontal line.

Carla Michelle Larcos Castro

C.I. 1851035665

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Carla Michelle Larcos Castro', written over a horizontal line.

Carla Michelle Larcos Castro

C.I. 1851035665

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldas

1802706596

Dr. Pablo Vinicio Tuza Alvarado

1104063241

Ambato, 05 de Febrero de 2024

DEDICATORIA

A Dios por darme sabiduría, salud, fortaleza, entendimiento y capacidad para culminar mi mayor meta.

A mis padres, John Larcos y Wilma Castro por ser el pilar fundamental durante este proceso, por su apoyo y amor incondicional, los amo infinitamente.

A mi hermana Johana por darme ánimos constantemente, por escucharme, por todos sus consejos, su apoyo en todo momento y por ser mi paño de lágrimas.

A mis sobrinos Isma y Tommy por siempre sacarme una sonrisa, por sus travesuras y locuras que me llenan de alegría, les quiero con todo mi corazón.

A Danny por su amor, paciencia y apoyo infinito durante este proceso, y por siempre creer en mí.

A los Ingenieros, ayudantes de laboratorio y cada uno de mis amig@s que formaron parte de este largo caminar.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a mis seres queridos que están en el cielo y siempre los llevo en mi corazón.

Mishell.

AGRADECIMIENTO

Doy gracias a Dios por ser mi guía, brindarme salud y fortaleza para seguir adelante y no rendirme durante mi trayectoria universitaria.

A mis padres, hermana, sobrinos, abuelita, Freddy y Tita María, quienes han sido mi verdadera familia, les agradezco su amor y apoyo. Resalto el agradecimiento a mis padres, su dedicación y sacrificio me han permitido llegar a la meta, no tengo palabras para agradecerles todo lo que diariamente hacen por mí.

A mi tutora de tesis, Dra. Nelly Flores, al Ing. Geovany Freire y demás ayudantes de laboratorio, por sus enseñanzas y apoyo académico, sobretodo por su paciencia.

A mi compañero de vida, Danny, le agradezco su compañía, motivación, apoyo, amor y paciencia, ayudándome a superar cada desafío. Gracias también por sus ocurrencias y risas que nunca faltaron.

A mis amig@s quienes estuvieron pendientes de este largo viaje, especialmente a Naty, quien me ayudó a despejar mis dudas y por siempre estar presente.

A la curtiduría de la ciudad de Ambato, que nunca se negó a proporcionarnos las muestras, les agradezco su cooperación y por brindarme la oportunidad de aprender sobre esta industria.

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato y sus docentes, gracias por aportarnos sus conocimientos.

De todo corazón,

Muchas gracias a todos!

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

| | |
|--|------|
| APROBACIÓN DEL TUTOR..... | ii |
| AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN..... | iii |
| DERECHOS DE AUTOR..... | iv |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO..... | v |
| DEDICATORIA..... | vi |
| AGRADECIMIENTO..... | vii |
| ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS..... | viii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xii |
| RESUMEN EJECUTIVO..... | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO..... | 1 |
| 1.1. Antecedentes Investigativos..... | 1 |
| 1.1.1. La Industria curtiembre..... | 1 |
| 1.1.2. La industria curtiembre a nivel mundial..... | 1 |
| 1.1.3. La industria curtiembre en Ecuador..... | 2 |
| 1.1.4. Descripción del proceso de curtido y acabado del cuero..... | 3 |
| 1.1.5. Impacto ambiental generado por los residuos sólidos y líquidos..... | 5 |
| 1.1.6. Residuos generados tras el proceso de curtición..... | 5 |
| 1.1.7. Grasas bovinas..... | 7 |
| 1.1.8. Caracterización fisicoquímica de las grasas bovinas..... | 8 |
| 1.1.9. Caracterización microbiológica de las grasas bovinas..... | 10 |
| 1.1.10. Eliminación de las grasas residuales de curtiembre..... | 12 |
| 1.1.11. Subproductos elaborados a partir de las grasas..... | 12 |
| 1.1.12. Detalles del control de calidad para reutilizar las grasas..... | 13 |
| 1.1.13. Proceso de estandarización para elaborar productos a partir de las grasas | 14 |
| 1.2. Objetivos..... | 16 |
| 1.2.1. Objetivo General..... | 16 |
| 1.2.2. Objetivos Específicos..... | 16 |
| 1.3. Hipótesis..... | 17 |
| 1.3.1. Hipótesis nula..... | 17 |
| 1.3.2. Hipótesis alternativa..... | 17 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA | 18 |
| 2.1. Materiales | 18 |
| 2.1.1. Equipos de laboratorio | 18 |
| 2.1.2. Reactivos de laboratorio..... | 19 |
| 2.1.3. Instrumentos de laboratorio..... | 20 |
| 2.2. Métodos..... | 21 |
| 2.2.1. Elaboración de un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos de acuerdo con la Norma INEN 1313:2012..... | 21 |
| 2.2.1.1. Muestreo y preparación de la muestra para los análisis posteriores .. | 21 |
| 2.2.1.2. Determinación de humedad..... | 21 |
| 2.2.1.3. Determinación del índice de acidez | 22 |
| 2.2.1.4. Determinación del índice de peróxidos..... | 23 |
| 2.2.1.5. Determinación del índice de saponificación | 24 |
| 2.2.1.6. Determinación del índice de rancidez..... | 24 |
| 2.2.2. Diseño de un protocolo para análisis microbiológicos de la grasa en base a la Norma AOAC 920.30..... | 25 |
| 2.2.2.1. Recuento de Enterobacterias | 25 |
| 2.2.2.2. Detección de Salmonella..... | 26 |
| 2.2.2.3. Recuento de Mohos y Levaduras | 26 |
| 2.2.3. Implementación de un método de inocuidad utilizado para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas..... | 27 |
| 2.2.3.1. Proceso de fundición y filtración de la grasa | 27 |
| 2.2.3.2. Filtración final y almacenamiento..... | 27 |
| CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 28 |
| 3.1. Análisis y discusión de los resultados..... | 28 |
| 3.1.1. Elaboración de un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos de acuerdo con la Norma INEN 1313:2012..... | 29 |
| 3.1.2. Diseño de un protocolo para análisis microbiológicos de la grasa en base a la Norma AOAC 920.30..... | 33 |
| 3.1.3. Implementación de un método de inocuidad utilizado para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas..... | 36 |
| 3.2 Verificación de hipótesis | 82 |
| CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 83 |

| | |
|---|-----|
| 4.1. Conclusiones | 83 |
| 4.2. Recomendaciones..... | 85 |
| MATERIALES DE REFERENCIA..... | 86 |
| Anexos..... | 95 |
| Anexo A. Grasa del proceso de descarnado y almacenamiento..... | 95 |
| Anexo B. Obtención de la grasa y muestreo (semanal)..... | 95 |
| Anexo C. Resultados visuales obtenidos en los análisis fisicoquímicos (semanales)..... | 96 |
| Anexo D. Resultados visuales obtenidos en los análisis microbiológicos (quincenales)..... | 97 |
| Anexo E. Resultados visuales del almacenamiento final de las grasas..... | 98 |
| Anexo F. Análisis de costos de equipos, materiales y reactivos para la implementación del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos.. .. | 99 |
| Anexo G. Descripción del espacio para la implementación del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos..... | 101 |
| Anexo H. Descripción de la zona de reactivos dentro del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos..... | 101 |
| Anexo I. Permisos necesarios para la compra de reactivos controlados..... | 102 |
| Anexo J. Descripción del personal calificado para realización de los análisis fisicoquímicos | 103 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Exportaciones e importaciones de cuero de origen bovino a escala mundial | 2 |
| Tabla 2. Principales residuos sólidos generados en la etapa de curtido | 6 |
| Tabla 3. Composición química de la grasa bovina | 8 |
| Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos para caracterizar las grasas..... | 9 |
| Tabla 5. Parámetros microbiológicos para caracterizar las grasas | 11 |
| Tabla 6. Equipos de laboratorio..... | 18 |
| Tabla 7. Reactivos de laboratorio | 19 |
| Tabla 8. Instrumentos de laboratorio | 20 |
| Tabla 9. Caracterización fisicoquímica de la grasa de descarnado | 29 |
| Tabla 10. Resultados de los análisis microbiológicos de la grasa de descarnado | 33 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|---|
| Figura 1. Diagrama de flujo entradas y salidas del proceso de curtido | 4 |
|--|---|

RESUMEN EJECUTIVO

En Ecuador, la industria del cuero juega un papel crucial en la economía, siendo un sector estratégico que contribuye significativamente al desarrollo del país. Durante el procesamiento de las pieles bovinas se generan entre 70 y 230 kg de desechos derivados del proceso de descarnado en el cual se incluyen las grasas. Este tipo de residuo sólido se deposita en rellenos sanitarios, alcanzando entre 5 y 7 toneladas al día generando olores desagradables, atrayendo animales no deseados e incrementando las enfermedades respiratorias y dermatológicas.

Con la finalidad de reducir la contaminación provocada por estas grasas, el presente trabajo tiene como objetivo estandarizar los procesos de control de calidad para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de esta materia prima. Los procedimientos aplicados se han basado en normativas reconocidas como; Norma INEN 1313:2012 y Norma AOAC 920.39. Se han extraído pautas de otras normativas vigentes como; ISO 11133:2014 y ARCSA. Estas metodologías han sido adaptadas a muestras de grasa bovina para la posterior implementación de un manual de procedimientos operativos, esto permitirá que estas cuenten con un correcto control de calidad previo a su salida al mercado, reduzca el impacto ambiental y permita a las industrias de curtiembre ahorrar en los costos adicionales asociados con la eliminación de estos desechos.

En conclusión, la gestión adecuada de la grasa bovina, respaldada por un sólido control de calidad, ofrece la posibilidad de aprovechar este recurso de manera eficiente. Para lograrlo, se proponen parámetros metodológicos y económicos necesarios para implementar un laboratorio de control de calidad.

Palabras claves: Biotecnología ambiental, microbiología ambiental, gestión de residuos, control de calidad, POE, curtiembre, grasa bovina.

ABSTRACT

In Ecuador, the leather industry plays a crucial role in the economy, being a strategic sector that significantly contributes to the country's development. During the processing of bovine hides, between 70 and 230 kg of waste is generated from the fleshing process, including fats. This type of solid waste is deposited in landfills, reaching between 5 and 7 tons per day, generating unpleasant odors, attracting unwanted animals, and increasing respiratory and dermatological diseases.

To reduce the pollution caused by these fats, the present work aims to standardize quality control processes for physicochemical and microbiological analyses of this raw material. The applied procedures have been based on recognized standards such as INEN Standard 1313:2012 and AOAC Standard 920.39. Guidelines have been extracted from other current standards such as ISO 11133:2014 and ARCSA. These methodologies have been adapted to bovine fat samples for the subsequent implementation of a manual of operational procedures. This will enable them to have proper quality control before entering the market, reduce environmental impact, and allow tannery industries to save on additional costs associated with waste disposal.

In conclusion, proper management of bovine fat, supported by robust quality control, offers the possibility of efficiently utilizing this resource. To achieve this, methodological and economic parameters necessary for implementing a quality control laboratory are proposed.

Keywords: Environmental biotechnology, environmental microbiology, waste management, quality control, POE, tannery, bovine fat.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. La Industria curtiembre

La industria curtiembre es un sector que se encarga del procesamiento de la piel animal para su posterior uso en la fabricación de productos de cuero **(Buitrago & Coca, 2018)**. Presenta un elevado índice de demanda en cuanto a recursos naturales produciendo una gran cantidad de residuos contaminantes, principalmente en el uso extremo de sustancias químicas utilizadas en el proceso de curtido **(Hasan, 2022)**.

A pesar de los desafíos ambientales, la industria curtiembre desempeña un papel crucial en la economía global, ya que el cuero es ampliamente utilizado en la fabricación de calzado, prendas de vestir, muebles y accesorios **(Bashar, 2022)**. Dichos productos son demandados a nivel mundial, generando más de 80000 millones de dólares anualmente, y se prevé que esta cifra siga incrementándose a medida que aumenta la población y la urbanización en los países **(Hasan, 2022)**.

1.1.2. La industria curtiembre a nivel mundial

La producción mundial de dichas pieles ha sido una tendencia de crecimiento y desarrollo desde la década de 1960, destacándose principalmente en países industrializados **(Jácome et al, 2021)**. Algunos de los principales países productores de cuero a nivel mundial incluyen a China, India, Italia, España y Estados Unidos. La industria curtidora también ha enfrentado desafíos en relación con cuestiones ambientales, ya que el proceso de curtido puede ser perjudicial para el medio ambiente si no se lleva a cabo de manera responsable **(Benalcazar, 2019)**.

Tabla 1

Exportaciones e importaciones de cuero de origen bovino a escala mundial.

| País | Exportaciones (\$) | Importaciones (\$) |
|----------------|---------------------------|---------------------------|
| China | 38,712,702 | 6,008,157 |
| Italia | 13,391,207 | 4,904,940 |
| Francia | 12,815,552 | 5,531,095 |
| México | 5,655,932 | 1,140,926 |
| Vietnam | 5,291,248 | - |
| Alemania | 3,035,301 | 5,086,031 |
| India | 2,735,834 | - |
| Países Bajos | 2,168,744 | 2,315,787 |
| España | 1,655,306 | 2,229,240 |
| Estados Unidos | 1,608,212 | 17,447,423 |
| En el mundo | 103,263,120 | 93,594,776 |

Nota. La Tabla 1 indica la cantidad de exportaciones e importaciones de cueros y pieles bovinas producidas en el año 2022. Elaboración propia basada en las estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas, página web (**Trade Map, 2022**).

1.1.3. La industria curtiembre en Ecuador

Ecuador es uno de los principales países dedicados a la producción de pieles animales, primordialmente de ganado vacuno, que son empleadas como materia prima en la elaboración de calzado y gelatina (**Tapia et al., 2019**). Tungurahua es una de las provincias destacada por la mayor producción de cuero en el país. Un estudio realizado por **Masabanda et al. (2022)** menciona que, el 60,6% de las curtiembres en Ecuador se localizan en Tungurahua, seguida por Imbabura, Azuay y Cotopaxi.

De acuerdo con la información proporcionada por la **Superintendencia de Compañías (2021)** se estima que, alrededor de 80 curtiembres operan en Ecuador, abarcando tanto compañías de gran envergadura como medianas y pequeñas empresas. Este hecho subraya la relevancia de esta industria como generadora de producción y empleo para numerosos hogares en Ecuador.

También, la industria curtidora en Ecuador es un sector relevante, aunque quizás no tan grande en comparación con algunos de los principales productores de cuero a nivel mundial. El país ha logrado cierto reconocimiento en la exportación de productos de cuero, especialmente a países de América Latina y otros mercados internacionales **(Silva & Morales, 2022)**.

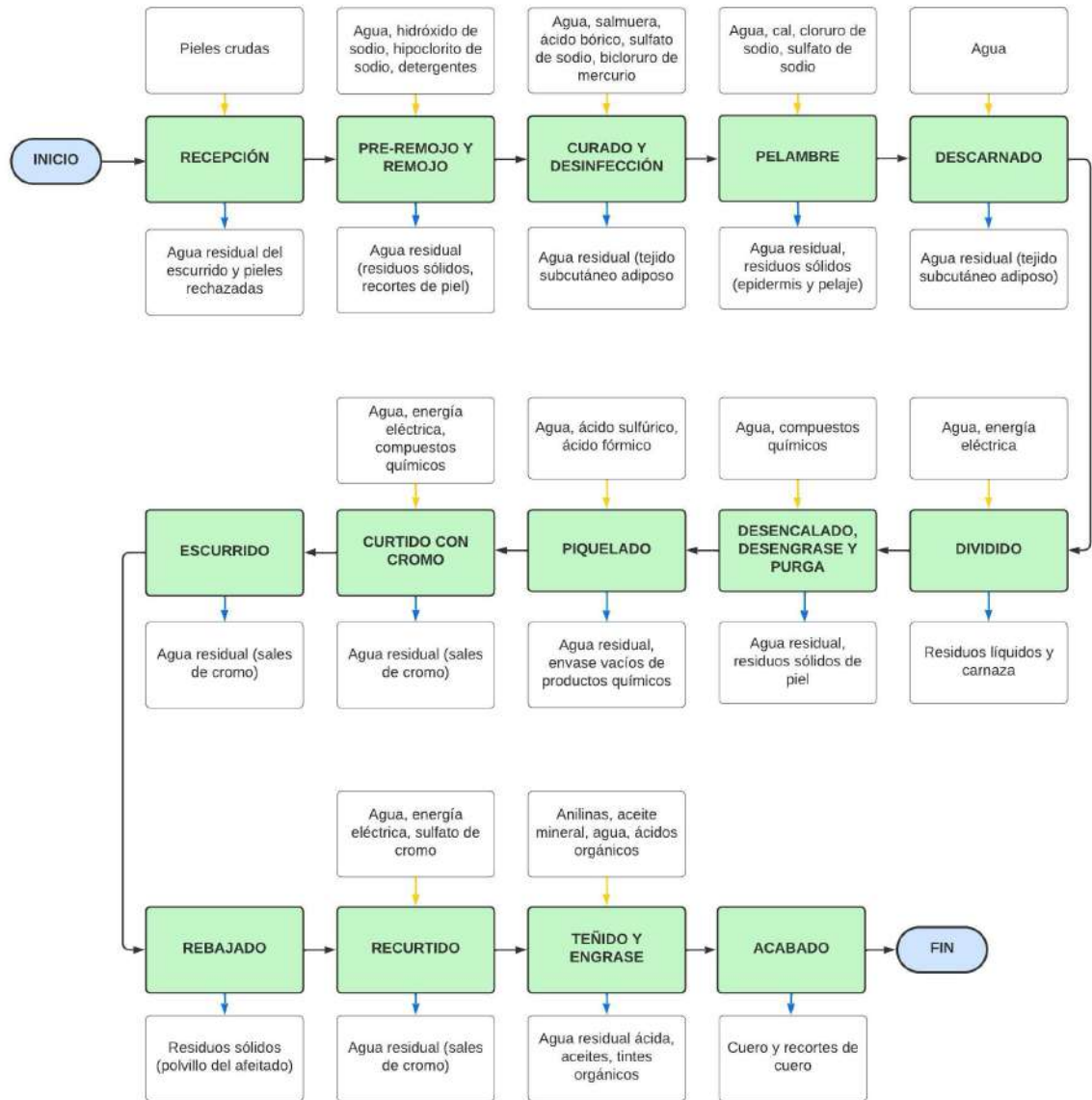
Es importante destacar que, al igual que en otros lugares, la industria curtidora en Ecuador también ha enfrentado desafíos en términos de regulaciones ambientales y sostenibilidad. La gestión adecuada de los desechos y el cumplimiento de las normativas ambientales son cuestiones importantes en el país, al igual que en muchas otras partes del mundo **(Martínez & Romero, 2018)**.

1.1.4. Descripción del proceso de curtido y acabado del cuero

El proceso de fabricación implica convertir la piel de un animal en cuero. Después de eliminar cualquier rastro de grasa, tejidos y pelo o lana, las pieles se exponen a diversos productos químicos que interactúan con las fibras de colágeno para lograr un cuero sólido y resistente en términos de estabilidad y durabilidad **(Pérez, 2019)**. En la ejecución del proceso se llevan a cabo varias etapas relevantes tal y como se describen en la Figura 1.

Figura 1

Diagrama de flujo entradas y salidas del proceso de curtido.



Nota. Elaboración propia utilizando el programa Lucidchart. Tomado de la literatura de (López & Ruiz, 2022).

El proceso de curtido que se presenta en la Figura 1 hace referencia al método basado en el uso de sales de cromo. Existe otro método en el cual se emplean agentes vegetales, sin embargo, el 80% de las industrias dedicadas a la actividad del curtido de pieles utiliza el tratamiento del curtido al cromo (Escuer, 2020).

1.1.5. Impacto ambiental generado por los residuos sólidos y líquidos

En la actualidad, una de las problemáticas de esta industria es el impacto ambiental causado, ya que ha presentado elevados índices de contaminación provenientes del uso excesivo de químicos tras la etapa de curtido, dando como resultado una contaminación directa e indirecta del agua, aire y suelo, debido a que no cuentan con protocolos adecuados para el tratamiento de los residuos **(Porrás, 2020)**.

Además, en la etapa de curtición al producirse residuos provenientes de los cueros frescos, como la carne, el sebo y la grasa, estos desechos tras ser depositados en rellenos sanitarios, en estas condiciones, tienden a generar olores desagradables, atraer animales no deseados y pueden incrementar las enfermedades respiratorias y dermatológicas **(Masabanda et al., 2022)**.

En sí, su impacto ambiental radica directamente en la contaminación y consumo del agua, generación de residuos sólidos putrefactos, emisiones de gases y olores nocivos, y consumo de energía **(Barriga et al., 2018)**. Sin embargo, para abordar estos problemas, se han implementado regulaciones ambientales más estrictas en muchas regiones del país y se están desarrollando tecnologías y prácticas más sostenibles en la industria del curtido. Esto incluye la adopción de sistemas de reciclaje de agua, la búsqueda de alternativas a productos químicos dañinos y la gestión responsable de residuos **(Silva & Morales, 2022)**.

1.1.6. Residuos generados tras el proceso de curtición

La industria curtiembre produce alrededor de 33 millones de toneladas anuales de residuos sólidos con distintas propiedades **(Artuz et al., 2018)**. El procesamiento de

la piel cruda de animales de origen bovino es la fuente de más del 99% de la producción mundial de cuero. Esta industria produce residuos sólidos, líquidos y gaseosos, destacándose los desechos sólidos con una cantidad entre el 80 y 85% (Flores et al., 2020). Alrededor del 20% de la piel cruda es transformada en cuero terminado, y el sobrante es una pérdida durante el proceso de curtición (Esparza & Gamboa, 2021).

Si se evalúa que se produce aproximadamente 15 MT de cuero anualmente a escala global, los restos sólidos, líquidos y gases generados diariamente es un gran conflicto para la salud y el medio ambiente (Téllez et al., 2019). Aproximadamente de 1000 kg de pieles crudas que se procesan, únicamente 250 kg se transforman en cuero comercial, lo que consume alrededor de 12000 - 15000 m³ de agua, genera entre 5000 - 15000 m³ de aguas residuales y entre 450 - 730 kg de desechos sólidos (Artuz et al., 2018).

Tabla 2

Principales residuos sólidos generados en la etapa de curtido.

| Tipo de residuo sólido | Fase | Cantidad producida (%) | Descripción |
|-------------------------------|----------------------|-------------------------------|---|
| Restos de piel y sebo | Descarnado y recorte | 20-25 | Elevada cantidad de colágeno, elasticidad y queratina. |
| Pelo | Pelambre | 20-30 | Presenta un alto contenido de queratina. |
| Wet-blue | Rebajado | 8-12 | Alta concentración de cromo. |
| Grasas y carnaza | Descarnado | 30-40 | Alto índice de proteína y colágeno. |
| Polvos de pulido | Acabado | 2-5 | Contiene niveles elevados de cromo y sustancias dañinas que pueden evaporarse fácilmente. |

Nota. Elaboración propia basado en los artículos (Castanares, 2021); (Tejerina et al., 2018).

En la Tabla 2 se mencionan los principales residuos sólidos producidos tras el proceso de curtido. También en estas etapas se genera una biomasa que, particularmente se origina de recortes, descarnado y pulido, contiene entre el 30-35% de colágeno, queratina y grasa **(Buitrago & Coca, 2018)**.

La carnaza es el residuo sólido más abundante que producen las curtiembres debido a que, emplea entre el 50-60% de todos los residuos sólidos sin curtir. Esta es extraída durante la etapa de descarnado, constituye entre el 30-40% de grasas y 12% de proteínas. Esta a la vez puede ser empleada para la fabricación de harinas, juguetes para mascotas, biodiesel y gelatina **(Castanares, 2021)**.

1.1.7. Grasas bovinas

En la piel de todos los animales existe una cantidad de grasa natural que debe eliminarse para simplificar el proceso de curtido **(Rojas, 2020)**. Por lo tanto, una de las tareas realizadas durante el precurtido es el procedimiento de descarnado, que implica la eliminación del tejido graso ubicado debajo de la piel. El material resultante de este proceso se conoce como "Unche" o residuo de descarnado, y representa aproximadamente el 20% y 35% del peso original de la piel **(Palacio, 2019)**.

Estas grasas de curtido contienen generalmente una mezcla de diferentes ácidos grasos, como ácidos oleico, esteárico y palmítico **(López & Ruiz, 2022)**. Es importante destacar que las grasas de curtido pasan por un proceso de refinamiento antes de ser utilizadas en la fabricación de estos productos. Esto implica la eliminación de impurezas y el ajuste de la composición de ácidos grasos de la grasa para garantizar su calidad y rendimiento en la aplicación final **(Hidalgo & Melendez, 2022)**.

Tabla 3

Composición química de la grasa bovina.

| Desecho | Humedad | Proteína | Grasa | Fibra | Ceniza |
|---------------------|---------|----------|-------|-------|--------|
| | (%) | (%) | (%) | (%) | (%) |
| Grasa bovina | 18,76 | 3,48 | 77,38 | 0,06 | 0,24 |

Nota. Elaboración propia basado en el estudio (**Angulo et al., 2019**).

La Tabla 3 hace referencia a la composición química de la grasa animal, sin embargo, también se constituye por triglicéridos que son ésteres formados por un glicerol y tres ácidos grasos, pueden presentarse en estado sólido o líquido a temperatura ambiente, dependiendo de su estructura molecular. Por lo general, se encuentran en forma de mezclas que pueden contener colorantes naturales, ceras y ácidos grasos libres (**Addy et al., 2019**).

1.1.8. Caracterización fisicoquímica de las grasas bovinas

La caracterización fisicoquímica de las grasas de curtiembre implica la evaluación de diversas propiedades y componentes que permiten comprender su estructura y calidad (**Rojas, 2020**). Además, estos parámetros son esenciales para garantizar su calidad y adecuación para su uso en diversas aplicaciones, como la fabricación de productos de cuero y otros productos industriales. Los resultados de estas pruebas pueden influir en la formulación y selección de las grasas para aplicaciones específicas (**Loaiza, 2020**).

Algunos de los aspectos que se pueden analizar en dicha caracterización se mencionan en la Tabla 4.

Tabla 4

Parámetros fisicoquímicos para caracterizar las grasas.

| Parámetros fisicoquímicos | Características |
|----------------------------------|---|
| Índice de Yodo | Mide la cantidad de yodo que una grasa puede absorber y está relacionado con la insaturación de los ácidos grasos. Puede indicar la susceptibilidad de la grasa a la oxidación. |
| Índice de Acidez | Determina la cantidad de ácidos grasos libres presentes en la grasa. Un alto índice de acidez puede ser indicativo de la rancidez de la grasa. |
| Contenido de Humedad y Cenizas | La cantidad de humedad y cenizas en la grasa puede afectar su calidad y estabilidad. |
| Índice de peróxidos | Mide el estado de oxidación de la grasa bovina con el fin de evaluar su calidad. |
| Índice de rancidez | Determina la aparición de olores y sabores desagradables de las grasas debido a la presencia de sustancias volátiles generadas durante el deterioro oxidativo. |

Nota. Elaboración propia basado en el estudio realizado por **(Quipo, 2020)**.

1.1.9. Caracterización microbiológica de las grasas bovinas

Según **Parada Rivera et al. (2020)** esta caracterización implica la evaluación de la presencia y cantidad de microorganismos en las grasas. Aunque estas generalmente tienen una baja actividad de agua y un pH ácido, lo que dificulta el crecimiento microbiano, es importante asegurarse de que estén libres de contaminación microbiana, especialmente si se utilizan en aplicaciones donde la seguridad y la calidad son críticas.

La caracterización microbiológica de estas grasas es importante debido a que, tienden a utilizarse en aplicaciones donde la presencia de microorganismos no deseados podría comprometer la integridad del producto o la salud del consumidor. Las normativas y estándares de seguridad alimentaria suelen establecer límites para la presencia de microorganismos en productos destinados al consumo humano (**Duran & Martínez, 2022**).

Algunos aspectos relevantes de la caracterización microbiológica se incluyen en la Tabla 5.

Tabla 5

Parámetros microbiológicos para caracterizar las grasas.

| Parámetros microbiológicos | Características |
|-----------------------------------|---|
| Recuento Total de Microorganismos | Implica determinar la cantidad total de microorganismos presentes en la grasa, lo que incluye bacterias, levaduras y mohos. Este recuento puede indicar la calidad general de la grasa. |
| Identificación de Microorganismos | Se pueden realizar pruebas para identificar los tipos específicos de microorganismos presentes, especialmente aquellos que podrían ser patógenos o que podrían afectar la calidad del producto final. |
| Determinación de Patógenos | Si las grasas se utilizan en aplicaciones alimentarias o cosméticas, es importante analizar la presencia de patógenos como <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . |
| Pruebas de Estabilidad Microbiana | Estas pruebas evalúan la capacidad de la grasa para resistir la proliferación microbiana durante el almacenamiento. Esto es especialmente relevante si la grasa se almacena a temperaturas que podrían favorecer el crecimiento microbiano. |
| Contaminación Cruzada | Si la grasa entra en contacto con superficies o equipos contaminados durante su procesamiento, se pueden realizar pruebas para verificar la contaminación cruzada. |

Nota. Elaboración propia basada en el estudio ejecutado por (Addy et al., 2019).

1.1.10. Eliminación de las grasas residuales de curtiembre

Actualmente, los desechos no peligrosos (grasas) de las curtiembres se almacenan en recipientes de plástico y se depositan en los vertederos de cada provincia (**Falcón, 2017**). Según el informe del EPM-GIDSA de la ciudad de Ambato, se recogieron un total de 250,61 toneladas de desechos sólidos orgánicos en el año 2021. **Camacho (2019)** sostiene que, estos desechos no peligrosos de las curtiembres podrían ser aprovechados si se convierten en productos con valor agregado, como la producción de alimentos balanceados.

Mendoza et al. (2016) menciona que, el almacenamiento de las grasas bovinas de una curtiembre es una parte importante del proceso debido a que, permite garantizar su calidad y preservar su utilidad en diversas aplicaciones como la elaboración de subproductos tanto para el consumo humano como para el consumo animal.

1.1.11. Subproductos elaborados a partir de las grasas

Las grasas bovinas de curtiembres pueden dar lugar a varios subproductos o derivados, que se utilizan en diversas aplicaciones. Algunos de estos pueden ser; elaboración de glicerina la cual se produce a partir de la hidrólisis de las grasas animales y estas a la vez, se emplean en la fabricación de productos farmacéuticos y cosméticos (**Hidalgo & Melendez, 2022**). Los ácidos grasos que pueden ser utilizados en la fabricación de productos químicos, lubricantes y otros productos industriales. Elaboración de jabones que se utilizan en la industria de la limpieza, cuidado personal y productos de tocador. Fabricación de productos de cuero utilizados en el proceso de curtido como cremas y acondicionadores, entre otros (**López & Ruiz, 2022**).

También en los subproductos de las grasas bovinas pueden incorporarse la producción de alimentos para animales, como pienso para el ganado. De acuerdo con **(Rojas, 2020)** los alimentos balanceados son combinaciones de componentes diseñados para cubrir las demandas nutricionales de diversos tipos de animales según su edad y capacidad reproductiva. Por este motivo, en la industria alimentaria se crean mezclas de ingredientes que suelen contener varios componentes, con el objetivo de disminuir gastos, mantener la calidad y satisfacer los requisitos nutricionales del animal sin perjudicar su desarrollo **(Parada et al., 2018)**.

1.1.12. Detalles del control de calidad para reutilizar las grasas

Se necesita de una estandarización de procesos que permitan llevar un control de calidad de estos residuos sólidos (grasas) con el objetivo de que cumplan con los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos establecidos por la norma INEN y por la AOAC respectivamente, y de esta forma sean aptas para la elaboración de dichos subproductos **(Cruz et al., 2019)**.

La estandarización de los procesos de control de calidad es una práctica esencial en cualquier industria ya que, garantiza la uniformidad y confiabilidad de los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de los residuos **(Pillajo, 2022)**. El reciclaje de estas grasas puede ser una práctica económica y sostenible, pero es importante garantizar que estas cumplan con los estándares de calidad para su uso en procesos de curtido y otros productos **(Hidalgo & Melendez, 2022)**.

En primer lugar, es necesario establecer estándares claros y bien definidos para llevar a cabo los análisis fisicoquímicos. Estos estándares pueden incluir parámetros como la acidez, el índice de saponificación, el índice de peróxidos, el índice de rancidez y la humedad de las grasas. Establecer límites aceptables para cada uno de estos parámetros permitirá evaluar la calidad de las grasas utilizadas y determinar si cumplen con los

requisitos necesarios (**Parada et al., 2018**). En el caso de los análisis microbiológicos, es imprescindible implementar estándares para evaluar la presencia de microorganismos en las grasas. Estos pueden incluir la determinación de la carga microbiana total, la presencia de patógenos específicos como Enterobacterias, *Salmonella*, Mohos y Levaduras, y la evaluación de la actividad antimicrobiana de las grasas tratadas. Establecer límites aceptables para cada uno de estos parámetros garantizará la seguridad y la calidad de los productos finales (**Nieto, 2019**).

Además, **Tadesse & Guya (2017)** mencionan que, las grasas bovinas deben cumplir con las regulaciones y normativas locales y nacionales relacionadas con la calidad y seguridad alimentaria, si es aplicable. De la misma manera se debe implementar un sistema de seguimiento y control de calidad continuo para garantizar que estas preserven su calidad a lo largo del tiempo.

La reutilización de las grasas bovinas en una curtiembre puede ser una estrategia efectiva para reducir costos y minimizar residuos, por ello **Quipo (2020)** establece que, es fundamental asegurarse de que las grasas recicladas cumplan con los estándares de calidad necesarios para el proceso y los productos finales. El control de calidad es un componente esencial de este proceso.

1.1.13. Proceso de estandarización para elaborar productos a partir de las grasas

Dicha estandarización implica la implementación de protocolos y procedimientos documentados. Esto incluye la descripción detallada de los métodos de análisis utilizados, los equipos y reactivos necesarios, así como las pautas para la interpretación de los resultados. Contar con protocolos estandarizados facilitará la replicabilidad de los análisis y permitirá la capacitación efectiva del personal (**Puente & Herrera, 2022**).

Asimismo, es fundamental establecer un sistema de gestión de calidad que cumpla con los requisitos internacionales y las regulaciones aplicables. Esto puede incluir la implementación de normas como ISO 9001 y Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). Estas normas proporcionan pautas y estándares reconocidos internacionalmente para la gestión de la calidad y garantizan la coherencia y confiabilidad de dichos procesos **(Cárdenas, 2021)**.

Según **Escobar & Ubaque (2019)** en una curtiembre se debe establecer un sistema de control de calidad efectivo a nivel de producción, en el cual se definan los parámetros a evaluar, los controles a realizar y cómo se retroalimentará el sistema a partir del análisis de datos. El aseguramiento de la calidad no solo implica evaluar la calidad final del producto, sino que involucra a toda una industria en la búsqueda de la estandarización y mejora continua de los procesos, con el objetivo de garantizar la calidad del producto fabricado **(Falcón, 2017)**.

1.2.Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Estandarizar los procesos de control de calidad para análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las grasas de una curtiduría de Ambato.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Establecer un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos de acuerdo a la Norma INEN 1313:2012.
- Proponer un protocolo para realizar análisis microbiológicos de la grasa en base a la Norma AOAC 920.30.
- Implementar un método de inocuidad para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas.

1.3.Hipótesis

1.3.1. Hipótesis nula

H_0 : La implementación de procedimientos de control de calidad más estrictos no está relacionada con una mejora en la calidad de las grasas de curtiembre, tanto en términos fisicoquímicos como microbiológicos.

1.3.2. Hipótesis alternativa

H_1 : La implementación de procedimientos de control de calidad más estrictos está relacionada con una mejora en la calidad de las grasas de curtiembre, tanto en términos fisicoquímicos como microbiológicos.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

Los materiales (equipos, reactivos e instrumentos) utilizados para el desarrollo y ejecución del presente proyecto de investigación se detallan a continuación:

2.1.1. Equipos de laboratorio

Tabla 6

Equipos de laboratorio.

| Detalle | Modelo | Cantidad |
|--------------------------|----------------------------|-----------------|
| Estufa | Binder; ED-400 | 1 |
| Balanza analítica | Radwag; N1BM1F | 1 |
| Balanza digital | Ohaus; V71P30T | 1 |
| Mufla | Biobase; MC 10-12 | 1 |
| Plancha de calentamiento | VELP AM4 | 1 |
| Balanza de humedad | MB-50; 176000 20000-519220 | 1 |
| Sorbona | Frontier Junior | 1 |
| Vórtex | Labnet; N21M6U | 1 |
| Refrigerador | 5°C | 1 |
| Cámara de flujo laminar | Esco; N23E1U | 1 |
| Cuenta colonias | Boeco; N23E10U | 1 |
| Incubadora | Memmert; N23E4U | 1 |
| Autoclave | Hirayama; HV-110 | 1 |

2.1.2. Reactivos de laboratorio

Tabla 7

Reactivos de laboratorio.

| Detalle | Cantidad |
|-----------------------------------|-----------------|
| Alcohol etílico 95% | 9000 ml |
| Hidróxido de potasio | 70 g |
| Fenolftaleína líquida | 25 ml |
| Éter dietílico | 600 ml |
| Agua destilada | 5000 ml |
| Ácido clorhídrico | 200 ml |
| Ácido acético glacial | 500 ml |
| Cloroformo | 250 ml |
| Yoduro de potasio | 50 g |
| Solución indicadora Almidón | 10 g |
| Tiosulfato de sodio | 50 g |
| Granallas de zinc | 25 g |
| Floroglucinol | 5 g |
| Placa Petrifilm <i>Salmonella</i> | 25 unidades |
| Placa Petrifilm Enterobacterias | 25 unidades |
| Agua peptonada | 100 ml |
| Tween 80 | 200 g |

2.1.3. Instrumentos de laboratorio

Tabla 8

Instrumentos de laboratorio.

| Detalle | Cantidad |
|----------------------------------|-----------------|
| Mortero | 1 |
| Embudo de decantación | 1 |
| Pinza y soporte universal | 1 |
| Desecador | 1 |
| Espátula | 1 |
| Matraz Erlenmeyer 250 ml | 4 |
| Matraz Erlenmeyer 500 ml | 4 |
| Bureta graduada de 1 ml | 1 |
| Bureta graduada de 25 ml | 1 |
| Vaso de precipitación 250 ml | 8 |
| Vaso de precipitación 100 ml | 10 |
| Probeta de vidrio de 100 ml | 4 |
| Termómetro | 1 |
| Pipetas volumétricas de 25 ml | 2 |
| Balones de aforo de 500 ml | 2 |
| Tubos de ensayo | 3 |
| Tubos de ensayo con tapa | 3 |
| Pera de succión | 1 |
| Gotero | 1 |
| Piceta | 1 |
| Pipeta de Mohr 1 ml | 1 |
| Varilla de vidrio | 1 |
| Botella ámbar con tapa de 100 ml | 3 |
| Botella ámbar con tapa de 500 ml | 3 |

2.2. Métodos

2.2.1. Elaboración de un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos de acuerdo con la Norma INEN 1313:2012

Con el propósito de alcanzar los objetivos, se llevó a cabo el seguimiento riguroso de muestras, junto con la labor dedicada a estandarizar procedimientos. Durante un periodo de tres meses, se realizaron análisis fisicoquímicos de manera semanal y análisis microbiológicos quincenales en muestras recopiladas de una curtiembre. Este proceso fue ejecutado con el fin de establecer y regular el procedimiento integral para el tratamiento y análisis de dichas muestras.

2.2.1.1. Muestreo y preparación de la muestra para los análisis posteriores

Las muestras de grasa se recolectaron de una de las curtidurías ubicadas en Ambato. Semanalmente se recogió aproximadamente 1 L de muestra y se colocó en baldes con tapa. Una vez recogidas las muestras, se trasladaron a la planta piloto de la Universidad Técnica de Ambato. Las muestras se colocaron en varias fundas ziploc de distintas dimensiones, se conservaron en refrigeración a una temperatura de 4°C para llevar a cabo los análisis proximales (INEN, 1978).

2.2.1.2. Determinación de humedad

Se determinó la humedad siguiendo los parámetros establecidos en la norma INEN 39. Se calentó los recipientes a una temperatura de 105°C durante una hora. Luego, se pesó 5 g de muestra en una cápsula sin contenido y se colocó en la estufa a una temperatura de 105°C durante una hora. Se registró el peso y se colocó nuevamente en la estufa durante 30 minutos adicionales hasta alcanzar un peso

constante. Posteriormente, se enfrió los recipientes en un desecador durante 20 minutos y se volvió a pesar (INEN, 2009). El contenido de humedad se determinó utilizando la ecuación [2.1]:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100 \quad [2.1]$$

Donde:

m = masa de la cápsula de porcelana.

m₁ = masa de la cápsula de porcelana y la muestra antes del calentamiento.

m₂ = masa de la cápsula de porcelana y la muestra después del calentamiento.

2.2.1.3.Determinación del índice de acidez

Se determinó el índice de acidez en función a la norma INEN 38. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se pesó 5 g de muestra, se colocó 25 ml de una mezcla alcohol-éter (1:1) y se agregó 2 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína, se homogeneizó la muestra y se tituló con hidróxido de potasio (KOH) 0,1N agitando constantemente hasta visualizar un viraje de color (INEN, 1973a). Finalizada la titulación se observó el volumen consumido de KOH y se realizó los cálculos correspondientes utilizando la ecuación [2.2]:

$$A = \frac{M * V * N}{10 * m} * 100 \quad [2.2]$$

Donde:

A = Acidez del producto, expresado en términos de porcentaje.

M = Masa molecular del NaOH.

V = Volumen de solución de NaOH consumido en la titulación, expresada en ml.

N = Normalidad de la solución de NaOH.

m = Masa de la solución, expresada en g.

2.2.1.4. Determinación del índice de peróxidos

Se determinó el índice de peróxidos según las pautas establecidas en la norma INEN 277. Se tomó una muestra de 5 g y se transfirió a un matraz Erlenmeyer. Se añadió 30 ml de una solución de ácido acético y cloroformo en proporción de 3:2, se agitó continuamente hasta que la muestra se disolvió por completo. Luego se agregó 0,5 ml de una solución saturada de yoduro de potasio. Se agitó el matraz Erlenmeyer durante 1 minuto y se agregó 30 ml de agua destilada. Para la titulación se utilizó una solución de tiosulfato de sodio 0,1 N, se agitó constantemente hasta que el color amarillo de la mezcla desapareciera. Posteriormente se añadió 0,5 ml de una solución indicadora de almidón, agitando constantemente para liberar el yodo de las capas de cloroformo. Se agregó la solución de tiosulfato de sodio gota a gota hasta que el color azul desapareciera por completo (INEN, 1978). Se llevó a cabo un ensayo en blanco utilizando todos los reactivos excepto la muestra, y se calculó el índice de peróxidos utilizando la siguiente fórmula [2.3]:

$$I = \frac{V * N}{m} * 100 \quad [2.3]$$

Donde:

I = Índice de peróxidos en mEq de O₂ por kg de producto.

V = Volumen de tiosulfato de sodio consumido en la titulación de la muestra, en ml.

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

m = Peso de la muestra expresada en g.

2.2.1.5.Determinación del índice de saponificación

Para realizar este análisis se siguió la metodología descrita en la norma INEN 40. Se tomó 3 g de muestra y se agregó 25 ml de una solución etanólica de hidróxido de potasio 0,5 N. La mezcla se calentó durante 60 minutos con agitación constante, luego se enfrió y se añadió 4 gotas del indicador fenolftaleína. Finalmente, se valoró la muestra con ácido clorhídrico hasta producirse un cambio de color (INEN, 1973b). Para calcular el índice de saponificación se utilizó la ecuación [2.4]:

$$i = \frac{56,1 (V_1 - V_2) * N}{m} \quad [2.4]$$

Donde:

i = Índice de saponificación del producto expresada en mg KOH/g.

V₂ = Volumen de ácido clorhídrico consumido en la titulación de la muestra, en ml.

V₃ = Volumen de ácido clorhídrico consumido en la titulación del ensayo en blanco, en ml.

N = normalidad de la solución de ácido clorhídrico.

m = Peso de la muestra expresada en g.

56,1= Masa molar del KOH

2.2.1.6.Determinación del índice de rancidez

Para esta determinación se siguió la metodología descrita en la norma INEN 45. En un tubo de ensayo se colocó 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y se añadió 10 ml de la muestra. Con la ayuda de un tapón de caucho se cubrió. Se agitó la

mezcla energéticamente por un lapso de 30 segundos, se agregó 10 ml de solución 0,1% de floroglucinol y se agitó nuevamente durante 30 segundos. Se dejó la mezcla en reposo por 10 minutos y se visualizó el color de la capa ácida.

Los resultados obtenidos en la determinación del índice de rancidez mostrarán; positivo cuando exista la presencia de un tono rojo en la capa ácida, y negativo si el color es amarillo, anaranjado o ligeramente rosado (INEN, 1973c).

2.2.2. Diseño de un protocolo para análisis microbiológicos de la grasa en base a la Norma AOAC 920.30

2.2.2.1. Recuento de Enterobacterias

Se identificó Enterobacterias según la norma AOAC 2003.01. Se desinfectó la superficie que contiene la muestra con alcohol antiséptico al 70%. Se colocó 10 g de la muestra en una bolsa Stomacher y se agregó 90 ml de agua peptonada, luego se homogeneizó durante 30 segundos en el Stomacher® 400 circulator.

Se sembró 1 ml de la dilución 10^{-1} en dos placas Petrifilm^{MR}, estas contendrán nutrientes bilis rojo violeta glucosa (VRBG) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador tetrazolio para facilitar la identificación de las colonias. Además, se sembró 1 ml de la dilución 10^{-3} en una tercera placa, utilizando un dispersor que distribuyó el inóculo suavemente por toda el área circular de la placa, evitando la formación de burbujas de aire. Las placas se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas para detectar la presencia de colonias características de Enterobacterias (AOAC, 2016).

La presencia de Enterobacterias se analizó mediante la visualización de la placa, esta coloreó las colonias de rojo, ya sea con o sin burbuja de gas. A medida que aumenta la cantidad de Enterobacterias, el gel cambia de color púrpura a amarillo o crema.

2.2.2.2.Detección de *Salmonella*

Se detectó *Salmonella* según la norma AOAC 2016.01. Se tomó una muestra de 25 g y se mezcló con 225 ml de medio de cultivo de *Salmonella* en una bolsa Stomacher. La muestra se homogeneizó durante 30 segundos en un Stomacher® 400 circulator y se incubó a 42 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas. Después de la incubación, se sembró la muestra en las placas Petrifilm^{MR} utilizando un asa estéril por estriado. Las placas se incubaron a 42 ± 2 °C durante 24 ± 2 horas para observar los resultados (AOAC, 2016).

Para la presencia de *Salmonella*, se observaron colonias rojas con zonas amarillas y burbujas de gas, o colonias azules verdosas.

2.2.2.3.Recuento de Mohos y Levaduras

Para el Recuento de Mohos y Levaduras se empleó la norma AOAC 997.02. Cabe mencionar que, el procedimiento es similar al de Enterobacterias. Se desinfectó la superficie que contiene la muestra con alcohol antiséptico al 70%. Se colocó 10 g de la muestra en una bolsa estéril y se agregó 90 ml de agua peptonada, luego se homogeneizó durante 30 segundos en el Stomacher® 400 circulator.

Finalmente, las placas se incubaron a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas aproximadamente para detectar la presencia de colonias características de Mohos y Levaduras **(AOAC, 2016)**

2.2.3. Implementación de un método de inocuidad utilizado para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas

2.2.3.1. Proceso de fundición y filtración de la grasa

La grasa se sometió a una limpieza para eliminar impurezas y residuos, para ello, esta fue fundida. Una vez fundida, se filtró a través de filtros especiales. Después de la limpieza, la grasa se calentó a una temperatura específica para eliminar cualquier residuo de agua y estabilizarla **(Rojas, 2020)**.

2.2.3.2. Filtración final y almacenamiento

Se filtró nuevamente para eliminar cualquier partícula o impureza restante. Se utilizó filtros de diferentes tamaños para asegurar una mejor calidad y pureza de la grasa. Finalmente, la grasa filtrada se dejó enfriar y se almacenó en recipientes herméticos para su conservación a largo plazo.

Es importante mantenerla en condiciones adecuadas de temperatura y protegerla de la luz y la oxidación para asegurar su calidad **(Rojas, 2020)**.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

Al examinar el proceso de curtido para la obtención subsiguiente de grasa bovina a partir de la etapa de descarnado, se estima que, de las 600 a 700 pieles procesadas diariamente, se obtienen entre 400 y 500 kg de grasa. Esto resulta en una producción mensual de hasta 8 toneladas de materia prima, superando la capacidad de comercialización de las curtiembres (**Parada et al., 2018**). Desafortunadamente, estas curtiembres desconocen los beneficios de la grasa en la elaboración de subproductos y optan por desecharla en rellenos sanitarios, generando una pérdida económica para la industria, ya que el depósito de una tonelada de este desecho cuesta alrededor de \$43 (**GIDSA, 2019**).

Ante esta situación, surge la necesidad imperante de implementar un laboratorio de control de calidad para analizar la grasa, con el propósito de cumplir con los estándares establecidos en las normativas. Esto permitirá que la grasa pueda ingresar al mercado sin representar una pérdida para las industrias de curtiembre.

Gallardo (2019) señala que las curtiembres se centran principalmente en los análisis de humedad e índice de acidez. Esto se debe a problemas previos con la regulación de los valores obtenidos en dichos análisis, ya que el uso de vapor en el procedimiento de almacenamiento provoca la mezcla de la grasa con agua, alterando su acidez y humedad. Posteriormente, se estableció un manual que no solo detalla el procedimiento para estos análisis, sino que también abarca la determinación del índice de peróxidos, saponificación y rancidez, además de análisis microbiológicos. Estos últimos son esenciales para garantizar la calidad adecuada de la grasa y asegurar su idoneidad, libre de posibles problemas.

3.1.1. Elaboración de un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos de acuerdo con la Norma INEN 1313:2012

La Tabla 9 muestra los valores promedio de los resultados obtenidos después de aplicar la metodología estandarizada con una frecuencia semanal durante tres meses. Este proceso tiene como objetivo validar el manual de procedimientos operativos para análisis fisicoquímicos.

Tabla 9

Caracterización fisicoquímica de la grasa de descarnado.

| Ensayo | Resultados | Unidades |
|----------------|-------------------|----------------------------|
| Humedad | 0,270 ± 0,07 | % |
| Acidez | 0,888 ± 0,01 | % (ácido oleico) |
| Peróxidos | 0,449 ± 0,07 | mEq. de O ₂ /Kg |
| Saponificación | 147,875 | mg de KOH/g |
| Rancidez | Negativo | - |

Nota. El resultado representa el valor promedio de los análisis ejecutados semanalmente, y ± la desviación estándar.

Durante la evaluación inicial de los protocolos para análisis fisicoquímicos, se detectaron deficiencias en la implementación de los procedimientos, evidenciando falta de uniformidad y estandarización en su ejecución al aplicarlos a las muestras. Se observaron discrepancias en la aplicación de los procedimientos en distintos momentos, lo que suscitó la necesidad imperante de elaborar un manual de procedimientos operativos. El propósito de este manual es garantizar que los procedimientos llevados a cabo en los laboratorios de las industrias de curtiembre sean uniformes, desarrollados de manera consistente, aprobados y supervisados. Todo ello con el objetivo de facilitar su uso continuo y asegurar su aplicación efectiva en el entorno del laboratorio (Cortés, 2019).

Al aplicar la metodología para la Determinación de la Pérdida por Calentamiento basada en la normativa INEN 39, se prefirió utilizar el método de Baño de Arena. **Masaba (2018)** indica que, este método es altamente beneficioso debido a su capacidad para mantener una temperatura controlada y suave durante el proceso. Además, señala que evita la descomposición térmica de las grasas sensibles al calor, preservando la integridad de la muestra. El método expuesto en el manual cumple con los estándares establecidos por la AOAC 925.10. Al analizar la metodología relacionada con el método de Estufa, **Ahn et al. (2019)** recomienda no utilizarlo en muestras de grasa debido a que, al usar temperaturas elevadas, se puede generar una pérdida de componentes volátiles, afectando la medición de humedad y proporcionando resultados no representativos.

En cuanto a la implementación del método para la Determinación del Índice de Acidez se tomó como referencias a las normativas INEN 38, ISO 660:2010 y AOAC 939.05. El método tiene un principio operativo basado en la reacción de la grasa con una solución alcalina (Hidróxido de potasio - KOH) en presencia de un indicador de pH (fenolftaleína) (**Arévalo et al., 2018**). En el manual se menciona el empleo de reactivos tales como; KOH 0,1N, fenolftaleína, alcohol etílico al 95% y éter dietílico. El KOH actúa como titulante, mismo que es añadido gradualmente al ácido presente en la muestra hasta neutralizarla por completo. **Ramos et al. (2021)** indica que, cuando el volumen de la solución 0,1N de KOH empleado en la titulación es menor a 20 ml, se continúa usando esta solución, caso contrario se debe cambiar a una solución más concentrada (0,5N) requiriendo menos volumen para neutralizar la misma cantidad de ácido.

También, en esta determinación la función de la fenolftaleína es señalar visualmente el punto de equivalencia en la titulación (**Baños, 2019**). Ahora, el alcohol etílico interviene en la preparación de las soluciones y actúa como diluyente de la grasa (**López, 2022**). Finalmente, el éter dietílico es empleado como solvente orgánico que permite la separación de los componentes lipídicos de la muestra. **Sánchez et al. (2019)** realizó un análisis en el que ejecuta el mismo procedimiento establecido en este

manual, sin embargo, reemplaza el éter dietílico por el reactivo terc-butil metil, y no existieron diferencias significativas debido a que, ambos compuestos son solubles en grasas y aceites, y recomienda el uso de esta sustancia ya que, no es un reactivo controlado a diferencia del éter dietílico (**Agencia para Sustancias Tóxicas, 2023**).

Para establecer el procedimiento para la Determinación del Índice de Peróxidos se basó en la normativa de la INEN 277 y la ISO 3936. Se utilizaron los siguientes reactivos: tiosulfato de sodio 0,01 N ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), ácido acético glacial, cloroformo, yoduro de potasio y almidón soluble. El $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ es utilizado como titulante para neutralizar el exceso de yodo liberado durante la titulación de peróxidos (**Zúñiga et al., 2023**). La INEN (1978) indica que, para este reactivo se debe usar una concentración de 0,1N, sin embargo, **Gallardo (2019)** menciona que, si en la titulación se obtiene un valor menor a 0,5 ml del titulante, es necesario repetir el ensayo usando una solución de menor concentración como 0,01N. Es importante realizar la verificación previa de cada uno de los reactivos, por ejemplo, antes de usar el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, se estandarizó con dicromato de potasio con el fin de comprobar que el reactivo se encontraba en buen estado y aun no cumplía su fecha de vencimiento (**Véliz & León Gross, 2023**).

A continuación el ácido acético glacial es añadido para acidificar la muestra y liberar el yodo del peróxido. La reacción ácido acético-peróxido genera yodo, que luego se titula con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (**Segurondo & Cortez, 2020**). El cloroformo, se usa como solvente para extraer peróxidos formados en la muestra debido a que, estos son solubles en presencia de este reactivo (**Gallardo, 2019**). El yoduro de potasio interviene como catalizador en la reacción de formación de yodo, **Jiménez (2022)** indica que, para que el reactivo se mantenga en correcto estado se debe colocar en un frasco ámbar ya que, el yoduro de potasio es sensible a la luz. Por último, el almidón soluble es añadido al final de la titulación como indicador visual. El almidón forma un complejo azul con el yodo liberado durante la reacción de titulación. Cuando todo el yodo ha reaccionado con el $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, el color azul desaparece, indicando el punto de equivalencia (**Tolvanen et al., 2019**).

La estandarización del procedimiento para la Determinación del Índice de Saponificación se basó en las normativas INEN 40 y AOAC 920.160. Los reactivos empleados son: etanol al 95%, KOH, fenolftaleína, ácido clorhídrico (HCl) y granallas de zinc. El KOH actúa como agente saponificante y reacciona con los ésteres grasos presentes en la muestra para formar sales de potasio de los ácidos grasos y glicerol (**Arzave, 2021**). Esta reacción es la base de la determinación de la cantidad de ácidos grasos. El HCl es utilizado para titular el exceso de KOH después de la reacción de saponificación (**Otero et al., 2021**). El punto final de la titulación se detecta mediante el cambio de color de la fenolftaleína. Finalmente, las granallas de zinc actúan como catalizadores facilitando la reacción de saponificación y acelerando el proceso (**Arzave, 2021**).

Por último, para definir el protocolo para la Determinación del Índice de Rancidez se tomó como referencia las normativas INEN 45 e ISO 3960:2017. Los reactivos utilizados fueron: ácido clorhídrico concentrado (HCl) y floroglucinol. El HCl puede ser utilizado para acidificar la muestra, sin embargo, este va a reaccionar con la muestra en el caso de que esta ya se encuentre oxidada (**Segurondo & Cortez, 2020**). De igual forma sucede con el floroglucinol, este reactivo puede producir coloración o cambios visuales si la muestra está en su etapa de oxidación. Por ello, **Min (2018)** indica que, si la capa ácida presenta coloración roja, el resultado es “positivo”, de no ser así, si el color es amarillo, anaranjado o ligeramente rosado es “negativo”.

La implementación de los procedimientos para análisis fisicoquímicos desempeña un papel crucial en el control de calidad de las grasas de descarnado. **Apráez Guerrero (2020)** menciona que, mediante estos análisis se garantizará la seguridad alimentaria al detectar posibles contaminantes y toxinas.

3.1.2. Diseño de un protocolo para análisis microbiológicos de la grasa en base a la Norma AOAC 920.30

La Tabla 10 muestra los valores promedio de los resultados obtenidos quincenalmente por un lapso de tres meses después de aplicar la metodología estandarizada basada en la Norma AOAC 920.30. Se determinó el Recuento de Enterobacterias, Mohos y Levaduras, y detección de *Salmonella*.

Tabla 10

Resultados de los análisis microbiológicos de la grasa de descarnado.

| Microorganismo | Resultados | Unidades | Límite máximo AOAC 920.30 | Método de ensayo |
|---------------------|------------|----------|------------------------------|------------------|
| Enterobacterias | <10 | UFC/g | 1x10 ³ | AOAC 2003.01 |
| <i>Salmonella</i> * | Ausencia | UFC/25g | Ausencia | AOAC 2016.01 |
| Mohos y Levaduras | <10 | UPC/g | 1x10 ² | AOAC 997.02 |

Nota. *Solo se evalúa *Salmonella* cuando el resultado de Enterobacterias representa un riesgo para la inocuidad.

El diseño de un protocolo para análisis microbiológicos de la grasa, basado en la Norma AOAC 920.30, representa un paso fundamental en el control de calidad y la garantía de la inocuidad de los productos grasos. La Norma establece las directrices y procedimientos para llevar a cabo análisis microbiológicos en grasas y aceites.

En este contexto, el diseño del protocolo se ha orientado a asegurar la conformidad con los estándares microbiológicos establecidos por la AOAC, buscando implementar procedimientos rigurosos y precisos para la detección de posibles contaminantes microbianos en la grasa. La inclusión del Recuento de Enterobacterias, Mohos y Levaduras apunta a evaluar la higiene durante la producción y el procesamiento, mientras que la detección de *Salmonella* es crítica para prevenir riesgos asociados a patógenos alimentarios **(Rodríguez, 2021)**.

Para establecer el protocolo para el Recuento de Enterobacterias, Mohos y Levaduras, se basó en las metodologías descritas en las normas AOAC 2003.01 y AOAC 997.02 respectivamente. **Pérez (2020)** menciona que, es importante hacer una rehidratación o preparación de la muestra con agua peptonada previo a la inoculación en las placas Petrifilm, esto debido a que, se creará un entorno propicio para el crecimiento microbiano y se logrará una distribución uniforme de los microorganismos presentes en la muestra. Además, el agua peptonada mejora la viabilidad de los microorganismos proporcionando nutrientes adicionales y un ambiente adecuado para su crecimiento, aumentando la probabilidad de detectar Enterobacterias, Mohos y Levaduras en concentraciones bajas **(Anderson & Pascual, 2019)**.

La metodología estandarizada en el manual presentado para la Detección de *Salmonella* se enfocó en la norma de la AOAC 2016.01. Para llevar a cabo este análisis es esencial preparar a la muestra mediante un pre-enriquecimiento no selectivo, seguido de un enriquecimiento selectivo **(Guashco, 2023)**. El primer paso utiliza agua bufferada debido a que, esta actúa como un tampón para mantener un pH constante y mejorar las condiciones generales de crecimiento. La **Norma Oficial Mexicana (2019)** indica que, esta etapa se denomina “no selectiva” ya que, el medio de cultivo usado no contiene agentes selectivos específicos que inhiban el crecimiento de microorganismos no deseados. Para el segundo paso se utiliza el caldo Rappaport-Vassiliadis, este ayuda a proporcionar un entorno que favorece el crecimiento de *Salmonella* al tiempo que inhibe a otras bacterias. Es especialmente útil para

enriquecer y seleccionar este género a partir de muestras que pueden contener una carga microbiana diversa (**Fiallos, 2018**).

El uso de placas Petrifilm en la actualidad ofrece varias ventajas y beneficios debido a que, son fáciles de usar y requieren menor manipulación en comparación con los métodos tradicionales de siembra en agar como se establece en la normativa de la ISO 21528:2017. **Martínez (2023)** menciona que, las placas Petrifilm a menudo ofrecen resultados más rápidos por la simplicidad de la técnica y la reducción en los pasos de preparación. Gran cantidad de estas placas han sido validadas y reconocidas por organismos reguladores y estándares internacionales como la AOAC, lo que garantiza la conformidad con los requisitos normativos (**Anderson & Pascual, 2019**).

Las Guías de Interpretación de las placas Petrifilm indican que, es importante realizar una hidratación de las placas previo a su inoculación debido a que, este proceso activa el medio de cultivo deshidratado presente en la película delgada de la placa, asegurando condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano. Generalmente se utiliza agua estéril para realizar este procedimiento (**Martínez, 2023**).

Por último, la aplicación consistente del protocolo expuesto en el manual de procedimientos proporciona datos valiosos para la evaluación periódica de la calidad microbiológica de las grasas, contribuyendo a la mejora continua de los procesos y a la satisfacción de los requisitos regulatorios. En sí, el diseño de este protocolo respalda la integridad y seguridad de las grasas, reforzando los estándares de calidad en la industria curtiembre.

3.1.3. Implementación de un método de inocuidad utilizado para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas

El método de inocuidad establecido en el manual de procedimientos operativos se fundamenta en el proceso de fundición, filtración de la grasa y almacenamiento final. Este enfoque estratégico no solo se basa en los resultados obtenidos de análisis fisicoquímicos y microbiológicos, sino que también considera aspectos críticos relacionados con la conservación y manipulación de las grasas.

Al someter la grasa a un proceso de fundición, se logra su estado líquido, facilitando la eliminación eficiente de impurezas, residuos sólidos y contaminantes mediante la filtración subsiguiente (**Amézquita, 2017**). Este procedimiento no solo contribuye a la pureza organoléptica de la grasa, sino que también asegura su conformidad con estándares de inocuidad alimentaria. La preparación meticulosa de la grasa para el almacenamiento no solo implica su limpieza, sino también la eliminación de potenciales agentes que podrían afectar su estabilidad a lo largo del tiempo (**Rojas, 2020**). En última instancia, este proceso no solo mejora la calidad del producto final, sino que también garantiza la seguridad alimentaria y prolonga la vida útil de la grasa almacenada, satisfaciendo así las exigencias tanto de la industria como de los consumidores (**Zúñiga et al., 2023**).

La aplicación del método de inocuidad respaldado por las normativas correspondientes, como la AOAC, ISO y ARCSA se traduce en prácticas de almacenamiento que minimizan el riesgo de contaminación microbiológica y mantienen las propiedades fisicoquímicas de las grasas. La implementación efectiva de este método implica una adecuada segregación de grasas aprobadas y no aprobadas, el establecimiento de condiciones de almacenamiento controladas, y la adopción de prácticas que preserven la inocuidad de las grasas a lo largo de su periodo de almacenamiento (**Rojas, 2020**).

Cabe mencionar que, además de la elaboración de procedimientos, se han creado formatos de registros que posibilitarán mantener un seguimiento detallado. Estos registros han sido incorporados en el manual de procedimientos, lo que garantizará una trazabilidad completa desde la toma de la muestra hasta el almacenamiento del resultado final.

La instauración de un sistema de archivo documental y la generación de registros no solo sirven para documentar el trabajo y la eficacia de los procedimientos, sino que también facilitan la retroalimentación interna en el laboratorio y promueven la búsqueda constante de mejoras a través de la implementación de acciones correctivas (Cortés, 2019). Asimismo, estos registros están disponibles para su consulta en cualquier momento por parte del personal, proporcionando una herramienta valiosa para la gestión y evaluación de los procesos.

- **Manual de procedimientos operativos para análisis de grasas procedentes de una curtiembre**

Los resultados obtenidos en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos fueron ejecutados tal cual lo detallan las normativas vigentes de la INEN 1313:2012 y la AOAC 920.30 respectivamente, con la finalidad de adecuarlos a las muestras de grasa bovina obtenidas de una curtiembre. Dichos análisis se realizaron en el Laboratorio de Análisis Medioambiental de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

A continuación, se mostrará el manual de procedimientos operativos para cada uno de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, además se incluye una guía práctica que presenta las directrices clave para la implementación exitosa de un método de inocuidad durante el almacenamiento de las grasas previamente analizadas.

CURTIDURÍA DE AMBATO

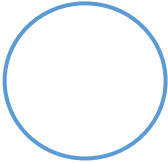
DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS

LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD

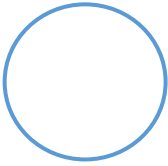
Carla Michelle Larcos Castro

Febrero, 2024

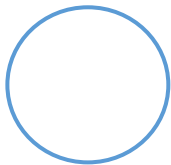
| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 1/42 |

Contenido

| | |
|--|----|
| 1. Objetivos | 41 |
| 2. Alcance..... | 41 |
| 3. Referencias Normativas | 41 |
| 4. Términos y definiciones | 42 |
| 5. Responsabilidades | 42 |
| 6. Procedimientos Desarrollados..... | 43 |
| 6.1. Muestreo y preparación de la muestra | 44 |
| 6.1.1. Toma de muestras de la materia prima (grasa)..... | 45 |
| 6.1.2. Preparación de la muestra para los análisis proximales | 46 |
| 6.2. Análisis físicoquímicos | 47 |
| 6.2.1. Determinación de humedad..... | 48 |
| 6.2.2. Determinación del índice de acidez | 50 |
| 6.2.3. Determinación del índice de peróxidos..... | 53 |
| 6.2.4. Determinación del índice de saponificación | 56 |
| 6.2.5. Determinación del índice de rancidez..... | 59 |
| 6.3. Preparación de Medios de Cultivo | 61 |
| 6.4. Análisis Microbiológico..... | 63 |
| 6.4.1. Recuento de Enterobacterias (AOAC 2003.01)..... | 64 |
| 6.4.2. Detección de Salmonella (Presencia / Ausencia) (AOAC 2016.01).. | 65 |
| 6.4.3. Recuento de Mohos y Levaduras (AOAC 997.02) | 67 |
| 6.5. Interpretación de Resultados de Análisis Microbiológico | 69 |
| 6.5.1. Interpretación de Resultados para Recuento de Enterobacterias | 70 |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 2/42 |

| | | |
|--------|--|----|
| 6.5.2. | Interpretación de Resultados para Detección de Salmonella | 72 |
| 6.5.3. | Interpretación de Resultados para Recuento de Mohos y Levaduras | 73 |
| 6.5.4. | Evaluación de la Conformidad..... | 74 |
| 6.6. | Almacenamiento final de las muestras analizadas | 75 |
| 7. | Normas Generales para el uso adecuado del Laboratorio Interno de Control de Calidad | 78 |
| | ANEXOS..... | 79 |
| | Anexo No. 1 | 79 |
| | Anexo No. 2 | 80 |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 3/42 |

1. Objetivos

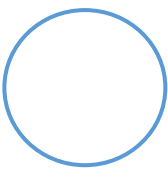
- 1.1. Definir y detallar los procedimientos que se ejecutan en el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología para proporcionar al laboratorio de control de calidad de una curtiduría de Ambato con el fin de presentar metodologías rápidas y eficaces de consulta.
- 1.2. Registrar los procedimientos llevados a cabo en el laboratorio de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.
- 1.3. Crear la documentación requerida para validar la conformidad en los procedimientos operativos.

2. Alcance

- 2.1. Departamento de Control de Calidad
- 2.2. Laboratorio Interno de Control de Calidad

3. Referencias Normativas

- 3.1. Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 1313:2012.
- 3.2. Organización Internacional de Normalización ISO 3960:2017.
- 3.3. Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua ISO 11133:2014.
- 3.4. AOAC Método Oficial 920.39
- 3.5. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria ARCSA.

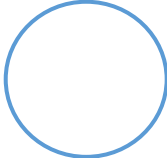
| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 4/42 |

4. Términos y definiciones

- ◆ **Actividades:** Son acciones, aplicaciones, pasos o tareas realizadas dentro de un proceso o subproceso. Aquellas actividades interrelacionadas pueden denominarse como procedimientos.
- ◆ **Análisis:** Implica determinar las características o composición de un producto en relación con sus elementos constitutivos.
- ◆ **Calidad:** Engloba todas las opciones o características de una entidad que denotan su capacidad para satisfacer las necesidades establecidas o implícitas.
- ◆ **Control de calidad:** Comprende las actividades o técnicas operativas empleadas para cumplir con los requisitos de calidad.
- ◆ **Procedimiento:** Es la forma específica de llevar a cabo una actividad.
- ◆ **Registro:** Un documento que proporciona evidencia objetiva de las actividades ejecutadas o los resultados obtenidos.

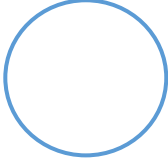
5. Responsabilidades

| | |
|-----------------------------------|--|
| Gerencia | Suministrar los recursos financieros, materiales y equipos necesarios para garantizar la ejecución de los procedimientos de manera adecuada. |
| Jefe de Control de Calidad | Coordinar y supervisar las actividades diarias que se realizan en el laboratorio de control de calidad. |
| Encargado de Laboratorio | Realización de los procedimientos de análisis físicoquímicos y microbiológicos. |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 5/42 |

6. Procedimientos Desarrollados

- 6.1.Muestreo y preparación de la muestra
- 6.2.Análisis Físicoquímico
- 6.3.Preparación de Medios de Cultivo
- 6.4.Análisis microbiológico
- 6.5.Interpretación de Resultados de Análisis Microbiológico
- 6.6.Almacenamiento final de las muestras analizadas

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 6/42 |

6.1. Muestreo y preparación de la muestra

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo y Utensilios:** Hielera
- **Materiales:** Balde con tapa para el muestreo de materia prima, recipientes estériles para la distribución del producto.
- **Equipo de Seguridad:**



Utilizar
bata



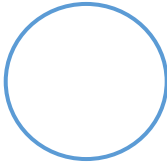
Utilizar
guantes





Utilizar
cofia

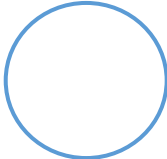


Utilizar zapatos
especiales





| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 7/42 |

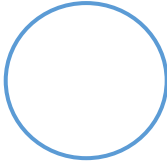
6.1.1. Toma de muestras de la materia prima (grasa)

| Actividad | Visualización |
|--|--|
| 1. Recoger aproximadamente 1 L de muestra y colocar en el balde con tapa. |  |
| 2. Rotular el balde con los siguientes aspectos: <ul style="list-style-type: none"> → Nombre del colaborador → Nombre de la muestra → Fecha y hora de recolección → Ubicación → Actividad (Llenar registro de toma de muestra para una curtiduría de Ambato, Ver anexo No. 1) |  |
| 3. Trasladar la muestra recolectada a la planta piloto de la Universidad Técnica de Ambato. | |

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 8/42 |

6.1.2. Preparación de la muestra para los análisis proximales

| Actividad | Visualización |
|---|---|
| 1. Disolver la grasa en una plancha de calentamiento. |  |
| 2. Con la ayuda de una tela de filtración de porosidad de aproximadamente 0,2 µm filtrar la grasa con el fin de eliminar cualquier tipo de residuo. |  |
| 3. Distribuir la grasa filtrada en recipientes estériles de 500 ml. |  |
| 4. Rotular los recipientes con los siguientes aspectos: → Nombre del colaborador → Nombre de la muestra → Fecha y hora de preparación de la muestra → Actividad |  |
| 5. Almacenar y conservar en refrigeración a una temperatura de 5 °C para llevar a cabo los análisis proximales. | |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 9/42 |

6.2. Análisis fisicoquímicos

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio de Control de Calidad
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo de Seguridad:**



Utilizar
bata



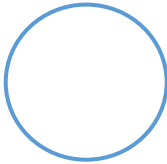
Utilizar
guantes



Utilizar
cofia



Utilizar zapatos
especiales

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 10/42 |



6.2.1. Determinación de humedad

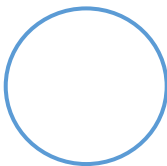
- **Principio:** Implica medir la cantidad de agua presente en las muestras.



- **Insumos**

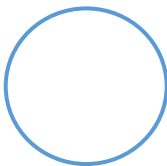
| Materiales | Equipos | Reactivos |
|----------------------------------|--|---------------|
| Platillo de aluminio Espátula | Balanza de humedad Plancha de calentamiento | Arena tratada |

- **Procedimiento (Método del baño de arena)**

| Actividad | Visualización |
|---|--|
| 1. Es crucial que la determinación sea efectuada por duplicado sobre la misma muestra. | |
| 2. Configurar la balanza a la siguiente condición: → Temperatura: 103±1 °C. | |
| 3. Colocar 1 g de arena tratada en el pocillo de aluminio hasta cubrirlo completamente. |  |
| 4. Tarar la balanza de humedad. |  |

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 11/42 |

| | |
|--|--|
| <p>5. Colocar aproximadamente 3 g de muestra sobre el pocillo que contiene la arena tratada.</p> |  |
| <p>6. Cerrar la balanza de humedad y esperar hasta que se refleje el resultado.</p> |  |
| <p>7. Anotar los valores obtenidos en las dos determinaciones y, como resultado final debe reportarse la media aritmética entre ellas.</p> | |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 12/42 |

6.2.2. Determinación del índice de acidez

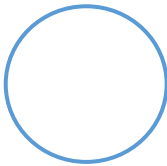
- **Principio:** Mide la cantidad de ácidos libres presentes en las muestras, representando la cantidad de miligramos de KOH necesarios para neutralizarlos.

- **Insumos**





| Materiales | Equipos | Reactivos |
|---|-------------------|---|
| Bureta Matraz Erlenmeyer Soporte universal Pinzas para soporte | Balanza analítica | Hidróxido de potasio 0,1 N Fenolftaleína Alcohol etílico al 95% Éter dietílico |

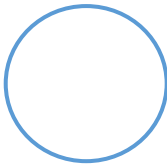
- **Procedimiento para la preparación de los reactivos**



| Actividad | Visualización |
|---|---|
| 1. Mezcla de alcohol-éter en proporción (1:1): Para una muestra de 5 a 10 g, medir 150 ml de éter dietílico y 150 ml de alcohol al 95%. |  |
| 2. Solución indicadora de fenolftaleína: Pesar 1 g de fenolftaleína y disolver en 100 ml de alcohol etílico al 95%. |  |

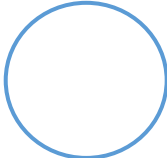
| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 13/42 |

- **Procedimiento para la determinación del índice de acidez**

| Actividad | Visualización |
|---|--|
| 1. Es crucial que la determinación sea efectuada por duplicado sobre la misma muestra. | |
| 2. Pesar una muestra comprendida entre 5 a 10 g y colocarla en un matraz Erlenmeyer. |  |
| 3. Transferir a un matraz Erlenmeyer 300 ml de la mezcla alcohol-éter, añadir 1 ml de la solución indicadora de fenolftaleína. |  |
| 4. Agitando energéticamente, titular con hidróxido de potasio 0,1 N hasta que se visualice un tono rosado que perdure durante aproximadamente 30 segundos. |  |
| 5. Añadir 100 ml de la muestra neutralizada al matraz que contiene la grasa previamente pesada y agregar unas gotas de la solución indicadora de fenolftaleína. |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 14/42 |

| | |
|---|---|
| <p>6. Titular los ácidos grasos libres añadiendo la solución de hidróxido de potasio 0,1N hasta alcanzar el punto final correspondiente.</p> |  |
| <p>7. Agitar energéticamente la mezcla durante la titulación con el fin de asegurar una reacción homogénea.</p> |  |
| <p><i>Nota.</i> El volumen de la solución de hidróxido de potasio 0,1 N debe ser menor a 20 ml, de no ser el caso, es necesario cambiar la concentración de dicha solución a 0,5 N y seguir el mismo procedimiento.</p> | |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 15/42 |


6.2.3. Determinación del índice de peróxidos

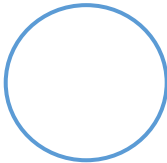
- **Principio:** Medida de la concentración de peróxidos productos de la oxidación de los lípidos. Implica la liberación de iones yoduro de una solución de yoduro de potasio en presencia de peróxidos.




- **Insumos**

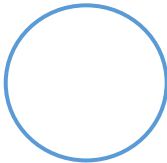
| Materiales | Equipos | Reactivos |
|---|-------------------|---|
| Matraz Erlenmeyer Bureta Pipeta de Mohr Soporte universal Pinzas para soporte | Balanza analítica | Tiosulfato de sodio 0,01 N Ácido acético glacial Cloroformo Yoduro de potasio Almidón soluble |

- **Procedimiento para la preparación de los reactivos**





| Actividad | Visualización |
|---|--|
| 1. Solución de tiosulfato de sodio 0,01 N: En un balón aforado de 500 ml colocar 50 ml de la solución de tiosulfato de sodio y aforar a 500 ml con agua destilada. Almacenar en un envase de vidrio color ámbar. |  |

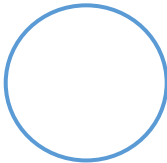
| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 16/42 |

| | |
|--|--|
| <p>2. Disolución de almidón al 1%: Disolver 1 g de almidón en 90 ml de agua destilada, hervir durante 2 minutos. Enfriar a temperatura ambiente, transferir a un matraz aforado de 10 ml y enrazar con agua destilada. En caso de tener lista la solución debe hervirse y dejarse enfriar previo a su uso.</p> |  |
| <p>3. Disolución saturada de yoduro de potasio: Disolver 8 g en 8 ml de agua previamente hervida y enfriada hasta temperatura ambiente, agitar para mezclar asegurándose que existan cristales para verificar que la solución está saturada.</p> |  |
| <p>4. Solución de ácido acético y cloroformo: Mezclar tres volúmenes de ácido acético glacial en dos volúmenes de cloroformo.</p> |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 17/42 |

- **Procedimiento para la determinación del índice peróxidos**

| Actividad | Visualización |
|--|---|
| 1. Es crucial que la determinación sea efectuada por duplicado sobre la misma muestra. | |
| 2. Disolver los 5 g de grasa con 30 ml de la mezcla ácido acético/cloroformo y agitar el matraz hasta completar la disolución. |  |
| 3. Añadir 0,5 ml de solución de yoduro de potasio saturado, tapan el matraz con Parafilm, agitar moderadamente durante un minuto y almacenar en oscuridad durante 5 minutos. |  |
| 4. Añadir 30 ml de agua destilada agitando durante 30 segundos. |  |
| 5. Titular con tiosulfato de sodio 0,01 N hasta obtener un color amarillo pálido o hasta que haya desaparecido, agitando constantemente. |  |
| 6. Añadir 2 ml de la solución de almidón y continuar la titulación hasta obtener una solución transparente. |  |
| <p><i>Nota.</i> Es necesario realizar un ensayo en blanco siguiendo el procedimiento indicado, sin incluir la muestra de grasa bovina.</p> | |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 18/42 |


6.2.4. Determinación del índice de saponificación

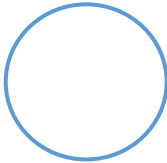
- **Principio:** Es el número de miligramos de KOH necesarios para saponificar 1 gramos de grasa o aceite.


- **Insumos**

| Materiales | Equipos | Reactivos |
|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Matraz Erlenmeyer | Balanza analítica | Etanol al 95% |
| Bureta | Plancha de calentamiento | Hidróxido de potasio (KOH) |
| Condensador de reflujo | Unidad de destilación | Fenoltaleína |
| Soporte universal | | Ácido clorhídrico (HCl) |
| Pinzas para soporte | | Granallas de zinc |




- **Procedimiento para la preparación de los reactivos**

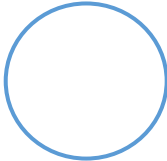
| Actividad | Visualización |
|--|--|
| <p>1. Solución etanólica de KOH al 4%: Pesar 1,67 g de KOH en un frasco de 500 ml de capacidad, agregar 1 g de granallas de zinc y 200 ml de alcohol al 95%. Hervir la mezcla bajo el condensador de reflujo durante 30 minutos. Destilar el alcohol desechando los primeros 10 ml y disolver 6 g de KOH en 150 ml de alcohol etílico destilado, disolver el KOH sobre un recipiente de agua fría.</p> |  |




| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 19/42 |

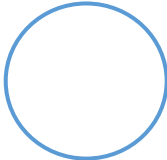
| | |
|--|--|
| <p>2. Ácido clorhídrico 0,5 N: Diluir 4,1 ml de HCl concentrado en 100 ml de agua destilada.</p> |  |
|--|--|

• **Procedimiento para la determinación del índice de saponificación**

| Actividad | Visualización |
|---|---|
| 1. Es crucial que la determinación sea efectuada por duplicado sobre la misma muestra. | |
| 2. Pesar 5 gramos de muestra con aproximación a 0,1 mg y colocarla en un matraz Erlenmeyer. |  |
| 3. Colocar 50 ml de la solución etanólica de KOH al 4% y agitar moderadamente. |  |
| 4. Para realizar el ensayo en blanco, realizar únicamente el paso 3 (sin muestra). |  |

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 20/42 |

| | |
|--|---|
| <p>5. Conectar al matraz el refrigerante de reflujo y hervir la mezcla durante 30 minutos. Si se observa que la grasa quedó completamente homogénea, significa que el reflujo es correcto, de no ser el caso, dejarla hervir por 15 minutos más.</p> |  |
| <p>6. Repetir el paso 2 para el ensayo en blanco. Cabe mencionar que, si se adiciona 15 minutos más al ensayo con la muestra, también se lo debe adicionar al ensayo en blanco.</p> | |
| <p>7. Agregar 4 gotas de fenolftaleína al ensayo en blanco y al ensayo con muestra.</p> |  |
| <p>8. Titular los dos ensayos usando la solución de ácido clorhídrico 0,5 N agitando energéticamente hasta que el color rosa fuerte haya desaparecido.</p> |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 21/42 |


6.2.5. Determinación del índice de rancidez

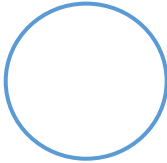
- **Principio:** Medición del deterioro de las grasas o aceites producidos durante la descomposición de los lípidos ocasionados por la oxidación.

- **Insumos**





| Materiales | Equipos | Reactivos |
|--------------------------|-------------------|--|
| Tubos de ensayo con tapa | Balanza analítica | Ácido clorhídrico concentrado Floroglucinol |

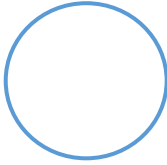
- **Procedimiento para la preparación de los reactivos**

| Actividad | Visualización |
|--|--|
| 1. Solución del floroglucinol al 0,1%: Disolver 0,1 gramo de floroglucinol en 100 ml de éter dietílico. La solución debe almacenarse en un frasco color ámbar en refrigeración. |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 22/42 |

- **Procedimiento para la determinación del índice de rancidez**

| Actividad | Visualización |
|--|---|
| 1. Es crucial que la determinación sea efectuada por duplicado sobre la misma muestra. | |
| 2. Pesar 10 ml de la grasa fundida y colocar en un tubo de ensayo con tapa. |  |
| 3. Colocar 10 ml de HCl concentrado. Tapar el tubo de ensayo y agitar la mezcla energéticamente por un lapso de 30 segundos. |  |
| 4. Añadir 10 ml de la solución de floroglucinol al 0,1% y repetir la agitación durante 30 segundos más. |  |
| 5. Reposar la mezcla durante 10 minutos y observar los resultados. |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 23/42 |

6.3. Preparación de Medios de Cultivo

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo y Utensilios:** Vasos de precipitación de 500 ml y 1000 ml, recipientes con taparroca de 500 ml, balanza, espátula, autoclave, agitador magnético.
- **Reactivos:** Agua de peptona, Agua bufferada, Rappaport Vassiliadis.
- **Equipo de Seguridad:**



Utilizar
bata



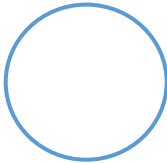
Utilizar
guantes






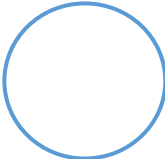
Utilizar
cofia



Utilizar
mascarilla

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 24/42 |

| Actividad | Visualización |
|---|---|
| <p>1. Agua de peptona: Pesar 15 gramos de polvo y disolver en 1000 ml de agua destilada. Mezclar calentando hasta ebullición por un lapso de 1 minuto. Colocar en el recipiente para medio de cultivo y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.</p> |  |
| <p>2. Agua bufferada: Pesar 20 g del polvo y disolver en 1000 ml de agua destilada. Reposar durante 5 minutos. Mezclar calentando hasta ebullición durante 1 minuto. Colocar en el recipiente con taparrosca y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.</p> |  |
| <p>3. Rappaport Vassiliadis: Pesar 42,5 g del polvo y disolver en 10000 ml de agua destilada. Reposar durante 5 minutos. Mezclar y calentar agitando frecuentemente hasta disolver totalmente. Colocar en el recipiente con taparrosca y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.</p> |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 25/42 |

6.4. Análisis Microbiológico

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo y Utensilios:** Vasos de precipitación de 100 ml, 500 ml y 1000 ml, micropipeta, balanza, cámara de flujo laminar, stomacher, incubadora.
- **Reactivos:** Agua de peptona, Agua bufferada, Rappaport Vassiliadis.
- **Materiales:** Bolsas estériles, asas desechables, dispensor, placas Petrifilm (Enterobacterias, *Salmonella*, Mohos y Levaduras).
- **Equipo de Seguridad:**



Utilizar
bata



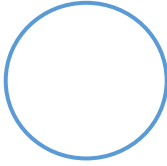
Utilizar
guantes



Utilizar
cofia

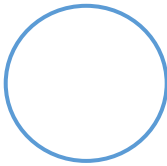


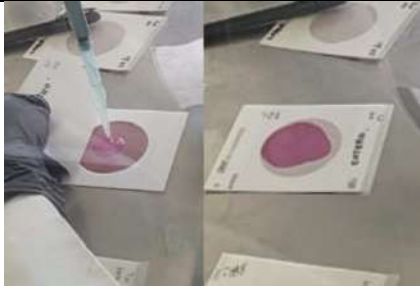

Utilizar
mascarilla

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 26/42 |

6.4.1. Recuento de Enterobacterias (AOAC 2003.01)



| Actividad | Visualización |
|---|--|
| 1. Colocar la bolsa estéril en un recipiente aséptico, pesar 10 g de muestra y agregar 90 ml de agua peptonada. |  |
| 2. Homogeneizar en el Stomacher durante 150 segundos aproximadamente. Esta preparación representará a la dilución 10^{-1} . |  |
| 3. En dos tubos de ensayo colocar 9 ml de agua peptonada y rotular 10^{-2} y 10^{-3} respectivamente. | |
| 4. Tomar 1 ml del sobrenadante de la muestra 10^{-1} y colocar en el tubo de ensayo 10^{-2} . Mezclar invirtiendo el tubo de ensayo varias veces. |  |
| 5. Repetir el procedimiento descrito en el paso 4 pero tomando 1 ml de la dilución 10^{-2} y colocar en 10^{-3} . | |
| 6. Situar las placas Petrifilm ^{MR} para el recuento de Enterobacteria sobre una superficie plana y desinfectada y levantar la capa superior con precaución. |  |

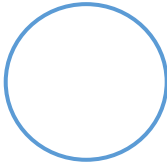
| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 27/42 |


| | |
|--|---|
| <p>7. Añadir 1 ml de la dilución 10^{-1} en el centro de la placa. Al descender la capa superior, tener cuidado de evitar la formación de burbujas.</p> |  |
| <p>8. Repetir el paso 7 con las diluciones 10^{-2} y 10^{-3}, además se debe realizar un ensayo en blanco (inoculación del agua de peptona sin muestra).</p> | |
| <p>9. Someter las placas inoculadas a un período de incubación de 24 ± 2 horas, a una temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$.</p> |  |

6.4.2. Detección de *Salmonella* (Presencia / Ausencia) (AOAC 2016.01)



- Preparación de la muestra y pre-enriquecimiento no selectivo

| Actividad | Visualización |
|---|--|
| <p>1. Pesar aproximadamente 25 g de muestra y agregar 225 ml de agua bufferada.</p> |  |
| <p>2. Homogeneizar en el Stomacher durante 150 segundos aproximadamente.</p> |  |


| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 28/42 |

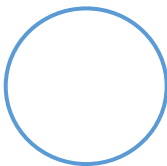
| | |
|--|--|
| <p>3. Incubar la mezcla a 37°C durante 18±2 horas.</p> |  |
|--|--|




- **Enriquecimiento selectivo**

| Actividad | Visualización |
|--|--|
| <p>1. Transferir 0,1 ml del cultivo obtenido en el pre-enriquecimiento a un tubo con 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis.</p> |  |
| <p>2. Incubar la mezcla a 41°C durante 24 horas.</p> |  |



- **Hidratación de las placas Petrifilm e inoculación.**

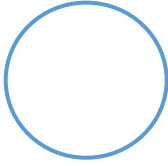
| Actividad | Visualización |
|--|--|
| <p>1. Colocar las placas Petrifilm para Salmonella sobre una superficie plana, levantar la capa superior y agregar 2 ml de agua estéril. Reposar las placas hidratadas durante 1 hora.</p> |  |





| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 29/42 |

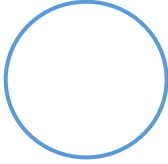
| | |
|--|--|
| <p>2. Con ayuda del asa estéril tomar una cantidad de muestra del tubo enriquecido y sembrar por estriado desde la parte superior hasta la inferior de la placa.</p> |  |
| <p>3. Bajar la película superior para cerrar la placa. Presionar suavemente sobre la película superior con el fin de retirar las burbujas de aire.</p> |  |
| <p>4. Incubar las placas a 41 °C durante 24 horas.</p> |  |

6.4.3. Recuento de Mohos y Levaduras (AOAC 997.02)

| Actividad | Visualización |
|--|--|
| <p>1. Colocar la bolsa estéril en un recipiente aséptico, pesar 10 g de muestra y agregar 90 ml de agua peptonada.</p> |  |
| <p>2. Homogeneizar en el Stomacher durante 150 segundos aproximadamente.</p> |  |

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 30/42 |

| | |
|--|--|
| <p>3. Situar las placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Mohos y Levaduras sobre una superficie plana y desinfectada y levantar la capa superior con precaución.</p> |  |
| <p>4. Añadir 1 ml de la muestra en el centro de la placa. Al descender la capa superior, tener cuidado de evitar la formación de burbujas.</p> |  |
| <p>5. Colocar el dispensor en el centro de la placa y presionar suavemente hasta que la muestra se haya distribuido por toda la placa.</p> |  |
| <p>6. Incubar las placas a 25°C durante 48 horas.</p> |  |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 31/42 |

6.5. Interpretación de Resultados de Análisis Microbiológico

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo y Utensilios:** Computadora
- **Materiales:** Placas con inoculación por tiempo definido.
- **Equipo de Seguridad:**



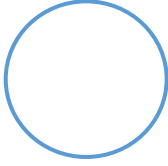
Utilizar
bata



Utilizar
guantes



Utilizar
cofia

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 32/42 |

6.5.1. Interpretación de Resultados para Recuento de Enterobacterias

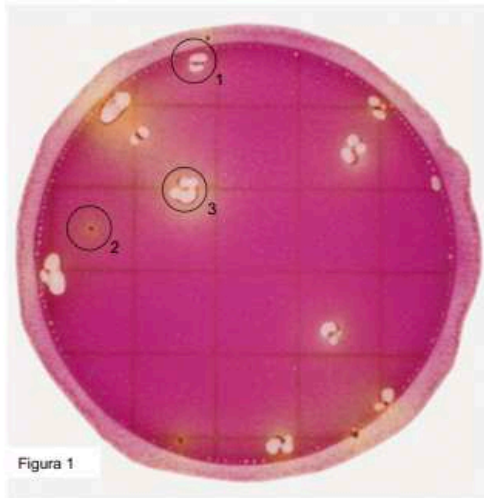


Figura 1

Recuento de enterobacterias = 13

La Figura 1 ilustra los tres tipos de colonias típicas. A veces, el gas altera la colonia de modo que la colonia "delinea" las burbujas de gas.

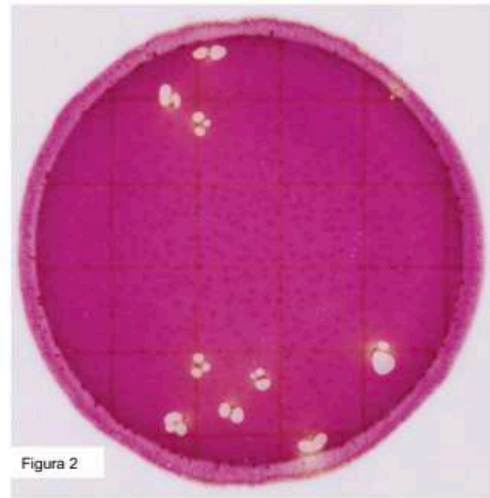


Figura 2

Recuento de enterobacterias = 9

La Figura 2 muestra una placa de recuento de enterobacterias 3M™ Petrifilm™ con unas pocas colonias de enterobacterias y una gran cantidad de colonias gramnegativas que no son enterobacterias. No cuente las colonias en el dique de espuma ya que están alejadas de la influencia selectiva del medio.



figura 3

Recuento de enterobacterias = 0

Observe el cambio en el color del gel en las Figuras 3 a 8. A medida que aumenta el recuento de enterobacterias, el color del gel se aclara de púrpura a amarillo o crema.

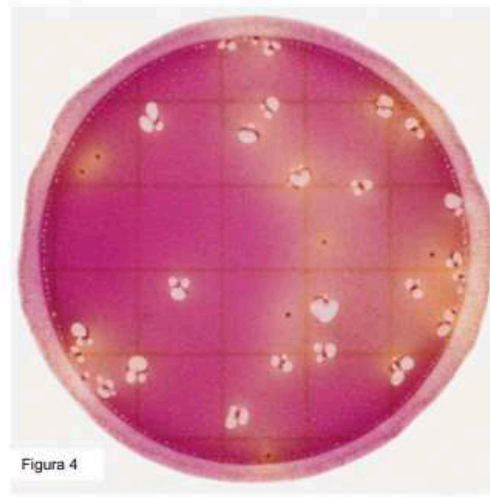
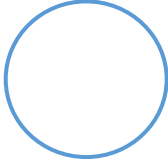


Figura 4

Recuento de enterobacterias = 35

Fuente: Guías de Interpretación, 2019 Petrifilm 3M, Seguridad Alimentaria.

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 33/42 |

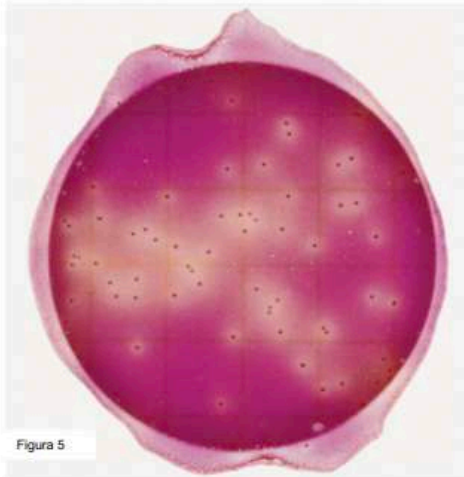


Figura 5

Recuento de enterobacterias = 77

El rango de recuento recomendado en la placa de recuento de enterobacterias 3M Petrifilm es inferior o igual a 100 colonias. Se pueden estimar muestras con recuentos superiores a 100 enterobacterias por placa. El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm². Se pueden hacer estimaciones contando el número de colonias en uno o más cuadrados representativos y determinando el número promedio por cuadrado.

Multiplique el número promedio de colonias por cuadrado por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

Para un recuento más preciso, puede ser necesaria una mayor dilución de la muestra.

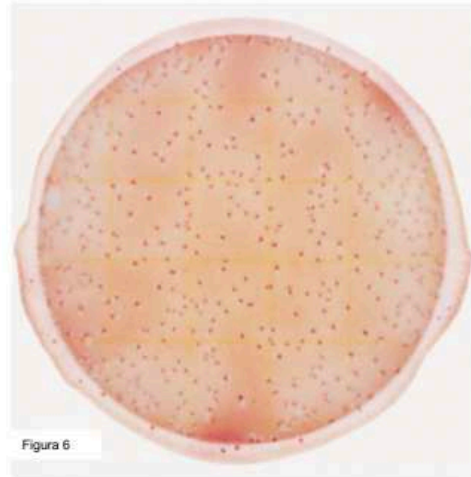


Figura 6

Recuento de enterobacterias = TNTC

Las placas de recuento de enterobacterias 3M Petrifilm con más de 100 colonias se consideran demasiado numerosas para contarlas (TNTC). Cuando las colonias están presentes en grandes cantidades, las placas tendrán un color de gel más intenso o pueden volverse completamente amarillas, y una o ambas de las siguientes características: muchas colonias pequeñas e indistintas y/o muchas burbujas de gas. Cuando esto ocurra, registre los resultados como TNTC.

Para un recuento más preciso, puede ser necesaria una mayor dilución de la muestra.

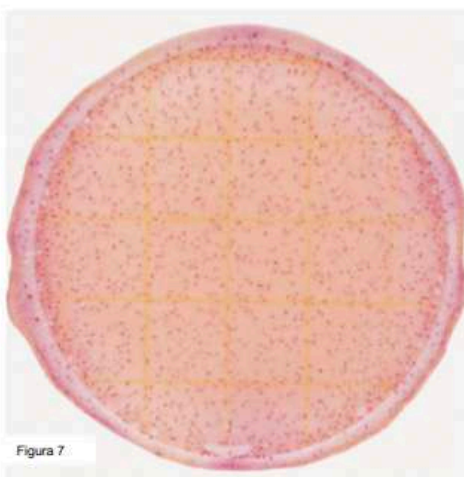


Figura 7

Recuento de enterobacterias = TNTC

En la Figura 7, el recuento es tan alto que no se ven fácilmente las zonas ácidas y las burbujas de gas. Un aclaramiento del color del gel indica que el resultado es TNTC.

Para un recuento más preciso, puede ser necesaria una mayor dilución de la muestra.

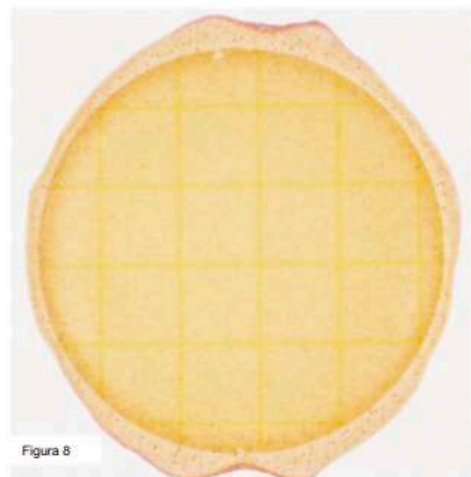


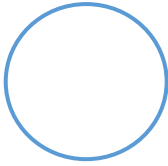
Figura 8

Recuento de enterobacterias = TNTC

La placa de recuento de enterobacterias 3M Petrifilm de la Figura 8 tiene dos características que indican colonias de TNTC: aclaramiento del color del gel y muchas colonias pequeñas.

Para un recuento más preciso, puede ser necesaria una mayor dilución de la muestra.

Fuente: Guías de Interpretación, 2019 Petrifilm 3M, Seguridad Alimentaria.

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 34/42 |

6.5.2. Interpretación de Resultados para Detección de *Salmonella*

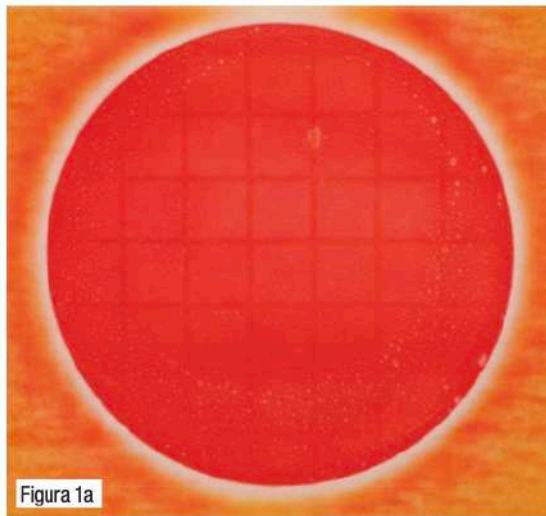


Figura 1a
Placa 3M Petrifilm SALX
Observación: Placa de control negativo hidratada con 2mL de diluyente

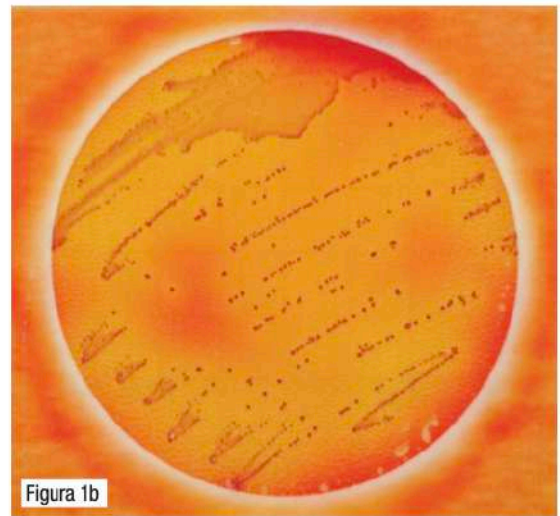


Figura 1b
Placa 3M Petrifilm SALX con solo Colonias Presuntivas positivas
Observación: Note las colonias rojas aisladas con una zona amarilla.

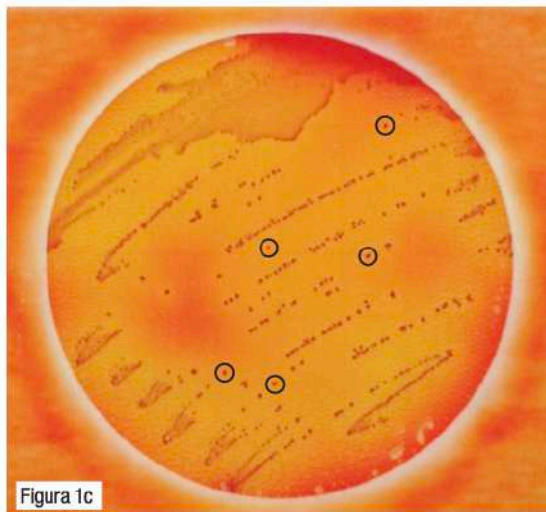


Figura 1c
Placa 3M Petrifilm SALX con Colonias Presuntivas Positivas Marcadas con Círculos
Observación: Las cinco (5) morfologías más predominantes de colonias aisladas presuntivas positivas (color rojo con zona amarilla) se han marcado con un círculo en la película superior de la placa.

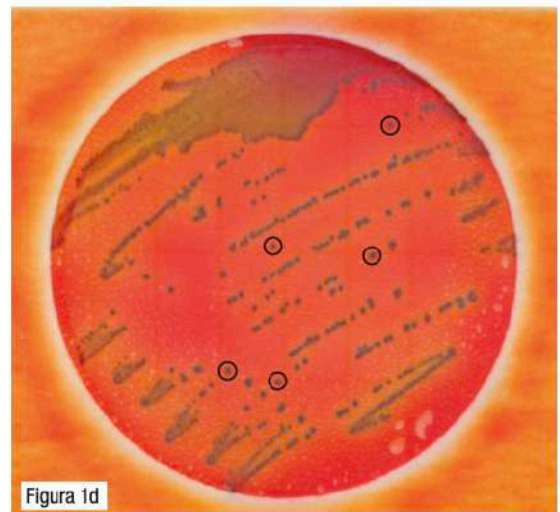
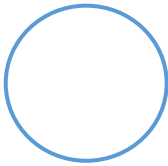
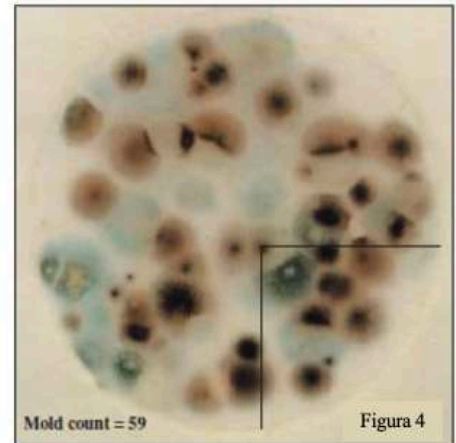
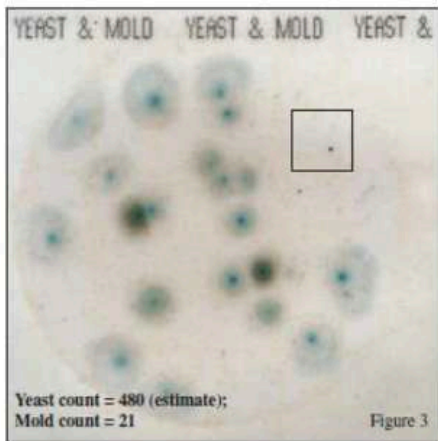
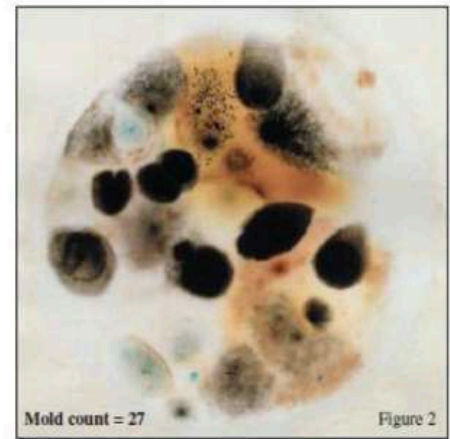
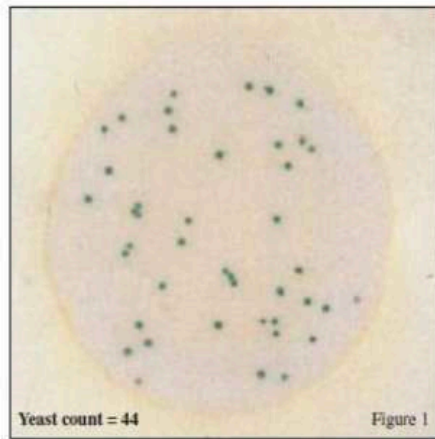


Figura 1d
Placa 3M Petrifilm SALX con Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX
Observación: Las colonias presuntivas positivas marcadas con un círculo son de color azul a azul oscuro/negro con un precipitado azul después de la adición del Disco de Confirmación 3M Petrifilm SALX e incubación. Estas colonias marcadas con un círculo están bioquímicamente confirmadas como positivas para *Salmonella* especies.

Fuente: Guías de Interpretación, 2019 Petrifilm 3M, Seguridad Alimentaria.

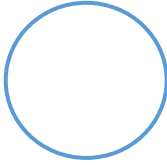
| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 35/42 |

6.5.3. Interpretación de Resultados para Recuento de Mohos y Levaduras



| LEVADURAS | MOHOS |
|---|--|
| Colonias pequeñas | Colonias grandes |
| Las colonias tienen límites definidos | Las colonias tienen límites difusos |
| Tienen un color de rosa/tostado a azul/verde | Tienen un color azul/verde que podría variar a otros colores con una incubación prolongada |
| Las colonias se ven elevadas (tridimensional) | Las colonias se ven planas |
| Las colonias tienen un color uniforme | Las colonias tienen un centro oscuro con límites difusos |

Fuente: Guías de Interpretación, 2019 Petrifilm 3M, Seguridad Alimentaria.

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 36/42 |

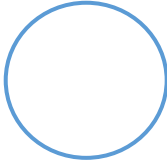
6.5.4. Evaluación de la Conformidad

- **Criterios de referencia para Materia prima (grasa):**

Los criterios de referencia para aceites y mantecas están establecidos en la ISO 11133:2014 – Microbiología de los alimentos para consumo humanos, alimentación animal y agua.

| | Enterobacterias | <i>Salmonella</i> | Mohos y Levaduras |
|------------------------|------------------------|-------------------|------------------------------|
| 10⁻¹ | <10 UFC | Ausencia | <10 UFC |
| 10⁻² | <10 UFC | Ausencia | <10 UFC |
| 10⁻³ | <10 UFC | Ausencia | <10 UFC |

*UFC: Unidades Formadoras de Colonia

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 37/42 |

6.6. Almacenamiento final de las muestras analizadas

- **Frecuencia:** Semanal
- **Responsable:** Encargado de Laboratorio
- **Responsable de supervisión:** Jefe de Control de Calidad
- **Equipo y Utensilios:** Tanques de fusión o marmita
- **Materiales:** Filtros de bolsa de fieltro o tela, recipientes herméticos.
- **Equipo de Seguridad:**



Utilizar
bata



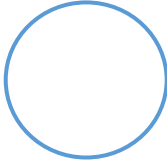
Utilizar
guantes



Utilizar
cofia

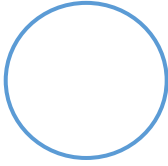


Utilizar zapatos
especiales

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | | Fecha | 09/2023 |
| | | Página | 38/42 |

- **Proceso de fundición, filtración de la grasa y almacenamiento**

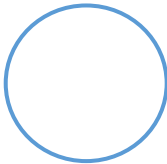
| Actividad | Visualización |
|---|--|
| 1. Verificar que los resultados realizados en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos cumplan con los estándares establecidos en las normativas vigentes. | |
| 2. Separar las grasas en lotes aprobados y no aprobados según los resultados analíticos y anotar en el registro de Segregación de muestras (Ver anexo No. 2). | <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p style="background-color: #add8e6; padding: 2px;">MUESTRAS APROBADAS</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p style="background-color: #add8e6; padding: 2px;">MUESTRAS NO APROBADAS</p> </div> </div> |
| 3. Fundir la grasa a una temperatura de 90°C durante 160 minutos con la ayuda de un tanque de fundición o marmita. | <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin: 0 10px; font-size: 2em;">➔</div>  </div> |
| 4. Transferir la grasa fundida a través de filtros de bolsa de fieltro o tela para eliminar partículas grandes y sedimentos. | <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <div style="margin: 0 10px; font-size: 2em;">➔</div>  </div> |

| | | | |
|---|---|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Código | CMLC001 |
| | | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 39/42 |

5. Almacenar temporalmente las grasas en recipientes herméticos y aptos para alimentos, etiquetar cada recipiente y refrigerar a una temperatura de $4\pm 2^{\circ}\text{C}$.



Nota. Las grasas pueden ser almacenadas por un periodo de tiempo de hasta 4 meses (con conservante) si se cumplen con las especificaciones mencionadas.

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 40/42 |

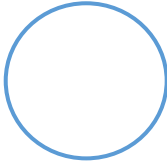
7. Normas Generales para el uso adecuado del Laboratorio Interno de Control de Calidad

- Es esencial mantener el laboratorio en un estado de limpieza y orden.
- No se permite comer, beber o fumar en las instalaciones del laboratorio.
- Únicamente se autoriza el almacenamiento de alimentos que sean muestras destinadas a análisis.
- Se recomienda el lavado frecuente de las manos.
- La zona de laboratorio debe estar claramente separada del área de producción para prevenir cualquier riesgo de contaminación de los productos.
- La vestimenta utilizada en el laboratorio debe mantenerse aparte de la vestimenta destinada a ser usada en la planta. Para ingresar al laboratorio, se requiere el uso de una bata blanca y una redecilla. En el área de inoculación, además de lo mencionado anteriormente, se debe utilizar una mascarilla.
- Todas las muestras destinadas a análisis deben manipularse bajo condiciones de total esterilidad.

Control de cambios

| Fecha | Código | Descripción del cambio |
|-------|--------|------------------------|
| | | |

| | | |
|-------------------------------------|---|---|
| Elaborado por: | Revisado por: | Aprobado por: |
| Jefe de control de Calidad | Gerente de División de Muestras de Curtiembre | Gerente de División de Muestras de Curtiembre |
| Fecha: | Fecha: | Fecha: |
| Copia controlada Control de Calidad | | |

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 41/42 |

ANEXOS DEL MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

Anexo No. 1

| | | |
|------------------------|---|-------------------------------|
| | REGISTRO PARA TOMA DE MUESTRAS | CÓDIGO: VERSIÓN: 1 |
| Laboratorio de Calidad | Elaborado por: | Aprobado por: |

I. DATOS GENERALES

Fecha de muestreo: _____

Persona responsable: _____ Hora: _____

II. CONTROL DE MUESTRAS

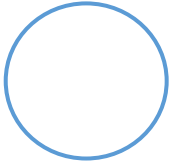
a. Muestreo de materia prima

| Muestra | Características | | |
|---------|-----------------------|--|-------------------|
| | Fecha de producción: | | En refrigeración: |
| | Fecha de vencimiento: | | SÍ NO |
| | Fecha de producción: | | En refrigeración: |
| | Fecha de vencimiento: | | SÍ NO |

b. Muestreo Producto analizado

| Muestra | Características |
|---------|-----------------|
| | |
| | |
| | |

Observaciones: _____

| | | | |
|---|--|---------|---------|
|  | CURTIDURÍA DE AMBATO | Código | CMLC001 |
| | DEPARTAMENTO DE ASEGURAMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD | Versión | 01 |
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS | Fecha | 09/2023 |
| | LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD | Página | 42/42 |

Anexo No. 2

| | | |
|------------------------|---|-----------------------|
| | REGISTRO DE SEGREGACIÓN DE MUESTRAS | CÓDIGO: VERSIÓN: 1 |
| Laboratorio de Calidad | Elaborado por: | Aprobado por: |

I. DATOS GENERALES

Fecha: _____

Persona responsable: _____ Hora: _____

II. INFORMACIÓN DE LOTE

| | | |
|-------------------------------|-----------------|----------------|
| Número del lote: | | |
| Tipo de Muestra: | | |
| Fecha de Análisis: | | |
| Resultados analíticos: | Microbiológicos | Fisicoquímicos |
| | | |
| | | |

III. SEGREGACIÓN

| Muestras Aprobadas | | Muestras No Aprobadas | |
|--------------------------------|--|-----------------------------|--|
| Ubicación de Almacenamiento: | | Ubicación de Almacenamiento | |
| | | Temporal: | |
| Cantidad Almacenada: | | Acciones Tomadas: | |
| Condiciones de Almacenamiento: | | | |

- **Requerimientos para la implementación de un laboratorio de control de calidad**

Al analizar el área destinado para la implementación del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos de la materia prima en una curtiduría, es esencial contar con un equipamiento analítico especializado, como espectrofotómetros, balanzas de humedad, sorbonas, etc. así como personal calificado en análisis químico y físico (**Angulo et al., 2019**) (ver Anexo G y Anexo J). Se estima que para adecuar el laboratorio se requiere de un presupuesto aproximado de \$10000 para la compra de equipos, reactivos y materiales (ver Anexo F).

Se deben establecer normativas internas y procedimientos operativos estándar, garantizando la seguridad y cumplimiento normativo. La infraestructura del laboratorio debe ser adecuada, con condiciones ambientales óptimas, y se deben implementar procedimientos de control de calidad interno. Además, se requiere software de gestión de datos y un aprovisionamiento adecuado de materiales y reactivos para realizar análisis precisos. Este enfoque integral asegura la fiabilidad y precisión de las pruebas, contribuyendo a la mejora continua de la calidad en la producción de cuero (**Barriga et al., 2018**).

Para los análisis microbiológicos **Jácome et al. (2021)** sugiere que, al presentarse una elevada inversión al adquirir equipos, materiales y reactivos y, debido a la cantidad de análisis necesarios para descartar la proliferación de microorganismos, es mejor enviar las muestras a un laboratorio acreditado.

3.2 Verificación de hipótesis

Se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que la implementación de procedimientos de control de calidad más estrictos está relacionada con una mejora en la calidad de las grasas de curtiembre, tanto en términos fisicoquímicos como microbiológicos.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se estandarizó los procesos de control de calidad para análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las grasas de una Curtiduría de Ambato. A partir de ello, se pretende asegurar la consistencia, seguridad y calidad de la materia prima obtenida del proceso de descarnado (grasa). Este enfoque no solo mejora la eficiencia operativa, sino que también fortalece el cumplimiento normativo y contribuye a la reputación y sostenibilidad a largo plazo de las industrias de curtiembre.
- Se estableció un manual de procedimientos para la medición de parámetros fisicoquímicos según la Norma INEN 1313:2012. Sin embargo, también se incluyeron otras Normas tales como; AOAC 925.10, ISO 660:2010, AOAC 939.05, ISO 3936, AOAC 920.160 e ISO 3960:2017, mismas que permitieron acoplar las metodologías presentadas a las muestras de grasa de carnaza. Esta iniciativa no solo asegura el cumplimiento de normas, sino que también optimiza la calidad de los resultados, promoviendo la confiabilidad de los procesos y fortaleciendo la integridad de las curtiembres.
- Se propuso un protocolo para realizar análisis microbiológicos de la grasa según la Norma AOAC 920.30. Al analizarlos se observó que los posibles microorganismos que suelen desarrollarse en estas muestras son; Enterobacterias, *Salmonella*, Mohos y Levaduras. Por lo que, se han establecido protocolos correspondientes al Recuento y Detección de estos. Se ha empleado dicha normativa debido a que, su procedimiento es mayormente fácil, rápido y eficaz ya que, utilizan placas Petrifilm a diferencia de otros métodos como plantea la normativa de la ISO 21528:2017, la cual utiliza métodos tradicionales de siembra en agar.

- Se implementó un método de inocuidad para el almacenamiento de las grasas previamente analizadas. El protocolo se basa en un proceso de fundición, filtración y posterior almacenamiento de las muestras. Con este planteamiento se pretende proteger la materia prima contra posibles contaminaciones y resguardar su calidad. Además, la grasa al tener una serie de beneficios puede ser reutilizada en la fabricación de subproductos como; balanceados, engrasantes, etc. Pero para esto, debe salir al mercado en condiciones correctas de inocuidad.

4.2.Recomendaciones

- Se sugiere capacitación continua al personal involucrado en los análisis fisicoquímicos y microbiológicos ya que, un equipo bien capacitado es fundamental para implementar y mantener procesos estandarizados de manera efectiva.
- Es importante mantener registros detallados de los procedimientos de análisis, resultados y cualquier desviación observada. La documentación completa facilita la trazabilidad y la identificación temprana de problemas potenciales.
- Los análisis micorbiologicos deberán enviarse a laboratorios acreditados debido al costo y a la falta de un laboratorio adecuado dentro de la curtiembre.
- Si la curtiembre quiere implementar el laboratorio de análisis deberá contemplar el costo de equipos, reactivos y materiales tal como se enlista en el Anexo F, además de adecuarlo en función de lo expuesto en el Anexo G.

MATERIALES DE REFERENCIA

- Addy, V., Ampuero, R., Arbeid, R., Carpanese, G., Christner, D. J., Costello, D. M., Durli, V., Fabiani, R., Flowers, I., Flowers, K., Jr, O. G., Gualino, J.-P., Henriquez, R., Horn, V., Maitan, G., McAuley, B., Mecenero, D. M., Roth, F., SanAntonio, D. J., Deri, S. (2019). *Proceso Moderno Cuero Vacuno*. Leather Naturally. <https://www.buckman.com/wp-content/uploads/2023/01/Proceso-Moderno-Cuero-Vacuno-Espanol-.pdf>
- Agencia para Sustancia Tóxicas. (2023, septiembre 21). *ToxFAQs™: Éter metil tert-butílico (MTBE) (Methyl Tert-Butyl Ether)*, ToxFAQ, ATSDR. https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts91.html
- Ahn, J. Y., Kil, D. Y., Kong, C., & Kim, B. G. (2019). Comparison of Oven-drying Methods for Determination of Moisture Content in Feed Ingredients. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(11), 1615-1622. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14305>
- Amézquita, L. A. M. (2017). Propuesta para la implementación del sistema HACCP para el área de logística recibo de materia prima, almacenamiento, devoluciones de producto en mal estado y despachos en una empresa Curtiembre [Universidad de La Salle]. https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1616&context=ing_alimentos
- Anderson, M., & Pascual, V. (2019). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Ediciones Díaz de Santos.
- Angulo A, Joaquín, Mahecha L, Liliana, & Olivera A, Martha. (2019). Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: Un nutriente valioso para la salud humana. *Revista MVZ Córdoba*, 14 (3), 1856-1866. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000300010&lng=en&tlng=es.

- AOAC. (2016). *Determinación de grasa*, VELP Scientifica SER. Association of Analytical Communities International, 1-4. <https://www.velp.com/es-sa/ser-148-serie.aspx>
- Apráez Guerrero, J. E. (2020). *Análisis Químico De Alimentos Para Animales*. Editorial Universidad de Nariño. <https://doi.org/10.22267/lib.udn.012>
- ARCOSA. (2020). *Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria*. Normativa. <https://www.controlsanitario.gob.ec/documentos-vigentes/>
- Arévalo, P., Ulloa, J., & Astudillo, S. (2018). Obtención de biodiesel a partir de grasa bovina. *La Granja*, 8(2), 9. <https://doi.org/10.17163/lgr.n8.2008.02>
- Artuz, L. A., Martínez, M. S., & Morales, C. J. (2018). *Las Industrias Curtiembres Y Su Incidencia En La Contaminación del Río Bogotá*. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/4973/Contaminaci%C3%B3n?se>
- Arzave, R. (2021). *Índice de Saponificación de cinco mantecas determinado mediante un Micrométodo*. 1(1). <http://eprints.uanl.mx/23913/1/113.pdf>
- Baños, J. (2019). *Proyecto Determinación del grado de acidez por volumetría de neutralización en muestras comerciales de aceite de oliva*. <https://www.researchgate.net/publication/336146337>
- Barriga, F., Chamorro, R., Benitez, J., & Lescano, P. (2018). *Contaminación por curtiembres, un problema de salud pública*. <https://www.lasalle.edu.co/Noticias/InvestigacionPertinente/uls/Contaminacion-por-curtiembres-un-problema-de-salud-publica>
- Bashar, A. K. (2012). *Tanning Industry Processes, Pollution and Pollution Control*. https://www.academia.edu/21760238/Tanning_Industry_Processes_Pollution_and_Pollution_Control
- Benalcazar, J. (2017). *The Global Leather Industry*. MAHI Leather. <https://mahileather.com/blogs/news/the-global-leather-industry>
- Buitrago, S. Y., & Coca, J. A. (2018). Revisión del estado actual de la industria de las curtiembres en sus procesos y productos: Un análisis de su competitividad. *Revista Facultad de Ciencias Económicas: Investigación y Reflexión*, 26(1), 113-124.

- Camacho, J. H. (2019). Granulometry, functional properties and color properties of quinoa and peach palm fruit flour. *Información Tecnológica*, 30(5), 3–10. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500003>
- Cárdenas, P. (2021). Estandarización de los procesos productivos de pieles de ganado vacuno en La Empresa de Curtiembre Artesanal “Pieles Puma” de la Ciudad de Ambato [Universidad Tecnológica Indoamérica]. <https://repositorio.uti.edu.ec/bitstream/123456789/2184/1/C%c3%81RDENA%20%c3%81LVAREZ%20PA%c3%9aL%20ALEJANDRO.pdf>
- Castanares, L. (2021, junio 30). *Tratamiento de aguas residuales de curtiembres*. Sigmadaf. <https://sigmadafclarifiers.com/tratamiento-de-aguas-de-curtiembres/>
- Cortés, A. (2019). *Sistema de Gestión de Calidad en la Curtiembre Hermanos Zúñiga* [Universidad Técnica de Ambato]. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7343/1/Tesis_t882id.pdf
- Cruz, E., Acosta, M., & Torres, H. (2016). Accesibilidad Web en las Instituciones de Educación Superior del Ecuador: Año 2016. *Journal of Science and Research*, 1(CITT2016), Article CITT2016. <https://doi.org/10.26910/issn.2528-8083vol1issCITT2016.2016pp44-48>
- Duran, O. A., & Martínez, L. S. (2022). *Caracterización tecnológica y del talento humano en las empresas del sector de curtiembres del área metropolitana de Cúcuta y su ventaja competitiva*. Recuperado de <http://repository.unilibre.edu.co/handle/10901/23787>
- Escobar, A. F. S., & Ubaque, C. A. G. (2019). *Identificación y evaluación de la contaminación del agua por curtiembres en el municipio de Villapinzón*. 16(10). <https://doi.org/10.14483/22487638.6823>
- Escuer, J. G. (2020). *Proceso de Curtido de la Piel*. 12(15). https://ddd.uab.cat/pub/estudis/2023/281209/CUIRSprocur_a2023.pdf
- Esparza, E., & Gamboa, N. (2021). Contaminación debida a la industria curtiembre. *Revista de Química*, 15(1), 41-63.
- Falcón, L. (2017). *Plan de manejo de residuos sólidos para la empresa Curtiembre Aldas, ubicada en la Parroquia de Totoras* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/26646>

- Fiallos, J. (2018). Rappaport Vassiliadis Soja (RVS) Broth | Salmonella. *Bioser*.
<https://www.bioser.com/productos/rappaport-vassiliadis-soja-rvs-broth-1258p/>
- Flores, H. A., Retamar, J. C., Orué, S., Lacoste, A., & Prez, L. (2020). Virutas de cuero. Obtención de un adhesivo como sustituto de materiales ureicos. *Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral.*, 8, 11.
https://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/04_025/papers/07e/07e_1431_681.pdf
- Gallardo, D. A. V. (2019). Determinación del índice de peróxidos en aceites usados en la preparación de papas fritas de ocho diferentes restaurantes con el objetivo de determinar posibles efectos en la salud. [Universidad San Francisco de Quito]. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/6300/1/129305.pdf>
- Guashco, J. E. (2023). *Producción de una base proteica para consumo animal a partir de residuos sólidos de carnaza provenientes de la industria de curtiembre en la ciudad de Ambato* [bachelorThesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Biotecnología].
<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/37945>
- Hasan, A. (2022). *Un estudio sobre la Curtiduría y la Industria del cuero* (p. 23). El Explorador. https://www.researchgate.net/publication/367462279_A-Study-on-Tannery-and-Leather-Industry
- Hidalgo, M. G. R., & Melendez, J. E. G. (2022). *Diseño de un modelo para medir la productividad para una empresa manufacturera de cueros*. [Universidad Católica del Ecuador].
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7754/2.22.001357.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- INEN. (1973a). *Determinación de la acidez, en grasas y aceites comestibles*. (pp. 1–7). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/38.pdf>
- INEN. (1973b). *Determinación del índice de saponificación, en grasas y aceites comestibles* (pp.6). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/40.pdf>
- INEN. (1973c). *Ensayo de rancidez, en grasas y aceites comestibles*. (pp. 1–5). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/45.pdf>

- INEN. (1978). *Determinación índice de peróxido, en grasas y aceites comestibles*. (pp. 1–7). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/277.pdf>
- INEN. (1978). *Muestreo, en grasas y aceites comestibles*. (pp. 1–7). <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/277.pdf>
- INEN. (2009). *Determinación de la humedad en alimentos* (pp. 1–6). https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/nte_inen_49_1.pdf
- INEN. (2014). *Alimentos para animales. Alimentos Balanceados para aves de producción zootécnica*. Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://docplayer.es/22004488-Alimentos-para-animales-alimentos-balanceados-para-aves-de-produccion-zootecnica-requisitos.html>
- Jácome, C., Ballesteros, C., Rea, E., & Cayambe, L. M. R. (2021). Microalgas en el tratamiento de aguas residuales generadas en industrias de curtiembres. *Ciencia y Tecnología*, 14(2), Article 2. <https://doi.org/10.18779/cyt.v14i2.502>
- Jiménez, A. (2022, abril 13). *Yoduro de potasio (KI)*. <https://www.cdc.gov/nceh/radiation/emergencias/es/ki.htm>
- Khan, J. (2022). *Industria del cuero: Una visión general* Temas ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/leather-industry>
- Loaiza, N. (2020). Caracterización fisicoquímica de los lodos generados en los procesos productivos y unidades de tratamiento de las aguas residuales no domésticas de las curtiembres del barrio San Benito en Bogotá D.C. [Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/78656>
- López, A. M. N. (2022). Estandarización de pruebas fisicoquímicas de acidez y peróxidos en grasas y aceites, y determinación de la producción de CO₂ de la levadura. (p. 23) [Informe de Práctica]. Universidad de Antioquia. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/31604/1/NunezAngelica_2022_PruebasFisicoquimicasAcidez
- López, A. V. M., & Ruiz, B. A. (2022). *Proceso de curtido de pieles bovinas depiladas con hidróxido de calcio*. <https://ciatec.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1019/234/1/Abraham%20Michua%20Lopez.pdf>

- Martínez, F. (2023). *Uso de las placas 3M™ Petrifilm™ como herramienta para el aseguramiento de la calidad en la industria alimentaria.*
<https://es.linkedin.com/pulse/uso-de-las-placas-3m-petrifilm-como-herramienta-para-el-aseguramiento->
- Martínez, S., & Romero, J. (2016). *Revisión del estado actual de la industria de las curtiembres en sus procesos y productos: Un análisis de su competitividad.*
<https://www.redalyc.org/journal/909/90953767006/html/>
- Masaba, N. E. (2018). *Rapid analytical methods for the determination of fat and moisture content of ground meats.* 12, 12-36.
<https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/1980/update---rapid-methods-for-the-determination-of-fat-moisture-and-protein.pdf?sfvrsn=2>
- Masabanda, Echegaray Caleb, Delgado Vicente, & Echegaray Damián. (2022). *Análisis y localización de curtiembres en el cantón Ambato, como parte de patrimonio cultural en el Ecuador. Revista de Ciencias de Seguridad y Defensa.*
<https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-seguridad-defensa/article/view/RCSDV2N4ART5>
- Mendoza, Y., Olivero, R., Mercado, I., Cury, K., & Martínez, C. (2016). *Análisis del tratamiento ideal usando baños termotratados para la separación de cal de los residuos de descarte en curtiembres | Ingenierías USBMed.*
<https://revistas.usb.edu.co/index.php/IngUSBmed/article/view/1809>
- Min, D. B. (2018). *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, Third Edition.* CRC Press.
- Nieto, S. (2019). *Aplicación de la cavitación hidrodinámica para reducir los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los efluentes de la industria textil y de curtiembre, Lima 2019. Repositorio Institucional - UCV.*
<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/46661>
- Norma Oficial Mexicana. (2019). *NOM-114-SSA1-1994: Método para la determinación de salmonella en alimentos. | FAOLEX.*
<https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC013525/>
- Otero, A., Mendoza, M., Carreras, R., & Fernández, B. (2021). *Biogas production from slaughterhouse waste: Effect of blood content and fat saponification. Waste Management, 133, 119-126.* <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.07.035>

- Palacio, L. F. C. (2016). Diseño óptimo del proceso de extracción de grasa a partir del residuo de descarte derivado del proceso de curtición. *Lámpsakos*, 16, 21-32.
- Parada, M., Andrade, M., Carreras, F., & Flores, B. (2018). Obtención de un tensoactivo a partir del proceso de recuperación de sebo de las industrias de curtiembre. *Perfiles*, 2(20), Article 20. <https://doi.org/10.47187/perf.v2i20.31>
- Parada Rivera, M., Puente Guijarro, C., Tapia González, Z., Borja Mayorga, D., & Abarca Coello., M. (2020). *Producción de alimento balanceado para mascotas a partir de los residuos de curtiembre generados en las etapas de dividido y descarte*. <http://dspace.espoche.edu.ec/handle/123456789/14582>
- Pérez. (2014, octubre 8). Proceso de curtido y acabado de cuero. *wernerapazaUNT*. <https://wernerapazaunt.blogspot.com/2014/10/proceso-de-curtido-y-acabado-de-cuero.html>
- Pérez, J. (2020). Análisis microbiológico de grupo coliforme, coliformes fecales, *Escherichia coli*, y *Salmonella spp* en carne molida ordinaria empacada que se expende en los supermercados de la Ciudad de Guatemala [Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1417.pdf>
- Pillajo, H. (2022). *El Control de Calidad y su impacto en la Producción de la Curtiduría "PALAHUA" de la ciudad de Ambato* [Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Administrativas]. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/2956/1/718%20ING.pdf>
- Porras, Á. C. (2020). Descripción De La Nocividad Del Cromo Proveniente De La Industria Curtiembre Y De Las Posibles Formas De Removerlo. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 9(17). <http://www.scielo.org.co/pdf/rium/v9n17/v9n17a04.pdf>
- Puente Santillán, A. C., & Herrera Alvarado, L. E. (2022). *Obtención de cuero tipo vestimenta lavable utilizando el polímero zetestan-gf durante el proceso de curtiembre en la empresa cueros "El Al-ce* [bachelorThesis, Universidad Nacional de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/9081>
- Quipo, F. E. (2020). *Obtención de una base proteica a partir de los residuos sólidos de curtiembres para la manufactura de alimentos balanceados..* [Proyecto de investigación]. Repositorio Institucional UNAD. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/35692>

- Ramos, T. C. P. M., Santos, E. P. S., Ventura, M., Pina, J. C., Cavalheiro, A. A., Fiorucci, A. R., & Silva, M. S. (2021). Eugenol and TBHQ antioxidant actions in commercial biodiesel obtained by soybean oil and animal fat. *Fuel*, 286, 119374. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119374>
- Rodríguez, G. (2021). *Análisis de la calidad microbiológica de los alimentos procedentes de cadenas de comida rápida* [Universidad de Coruña]. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/21542/GonzalezRodriguez_Cristina_TFG_2018.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Rojas, F. V. (2020). *Estudio económico-financiero del aprovechamiento de las grasas extraídas del residuo de descarte “Unche” derivado del proceso de curtición en el municipio de Villapinzón-Cundinamarca* [Trabajo de grado - Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/6823>
- Sánchez, L., Chávez, J., Ríos, L. A., & Cardona, S. M. (2019). Evaluación de un Antioxidante Natural extraído del Marañón (*Anacardium occidentale* L.) para mejorar la Estabilidad Oxidativa del Biodiesel de *Jatropha*. *Información tecnológica*, 26(6), 19-30. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000600004>
- Segurondo, R., & Cortez, V. (2020). Determinación de la rancidez en aceites usados en el proceso de frituras en establecimientos de expendio de comida rápida. *Revista CON-CIENCIA*, 8(2), 115-128. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2310-02652020000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Silva, M. J., & Morales, D. S. (2022). La contaminación proveniente de la industria curtiembre, una aproximación a la realidad ecuatoriana. *Revista Científica UISRAEL*, 9(1), Article 1. <https://doi.org/10.35290/rcui.v9n1.2022.427>
- Tadesse, G. L., & Guya, T. K. (2017). *Impacts of Tannery Effluent on Environments and Human Health: A Review Article*. <https://core.ac.uk/download/pdf/234687486.pdf>
- Tapia, Z., Rennola, L., Zambrano, M., Parada, M., Castillo, Y., & Manobanda, P. (2019). Estudio de las tecnologías para el tratamiento de los efluentes generados por una planta de curtiembres en Ecuador. *Ciencia e*

- Tejerina, W., Liberal, V., & Iribarnegaray, M. (2013). *Gestión de residuos en curtiembres de la Provincia Salta*. 32. http://eprints.natura.unsa.edu.ar/867/1/Tejerina_W_1.pdf
- Téllez, J., Roxs, M. C., & Gaitán, A. M. (2019). Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres. *Revista de la Facultad de Medicina*, 52(1), 50-61
- Tolvanen, P., Mäki-Arvela, P., Sorokin, A. B., Salmi, T., & Murzin, D. Yu. (2019). Kinetics of starch oxidation using hydrogen peroxide as an environmentally friendly oxidant and an iron complex as a catalyst. *Chemical Engineering Journal*, 154(1), 52-59. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.02.001>
- Trade Map. (2022). *Trade Map Lista de los exportadores para el producto seleccionado. Manufacturas de cuero y Pieles bovinas*. Estadísticas del comercio para el desarrollo internacional de las empresas. <https://www.trademap.org>
- Véliz, F. R., & León Gross, A. (2023). Estandarización de un método rápido para la determinación cuantitativa de yodato de potasio en sal solar (común). *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 16(1), 5.
- Zúñiga, P., Zarazúa, M., Palacios, P., & Rosales, A. (2023). *Estandarización de un método analítico para la cuantificación del índice de peróxido de aceites extraídos de harinas a pequeña escala mediante un extractor Soxtec*. <https://cienciaergosum.uaemex.mx/article/view/20787>

Anexos

Anexo A

Grasa del proceso de descarnado y almacenamiento



Nota. **(1)** Grasa obtenida del proceso de descarnado. **(2)** Almacenamiento de las grasas en recipientes IBC.

Anexo B

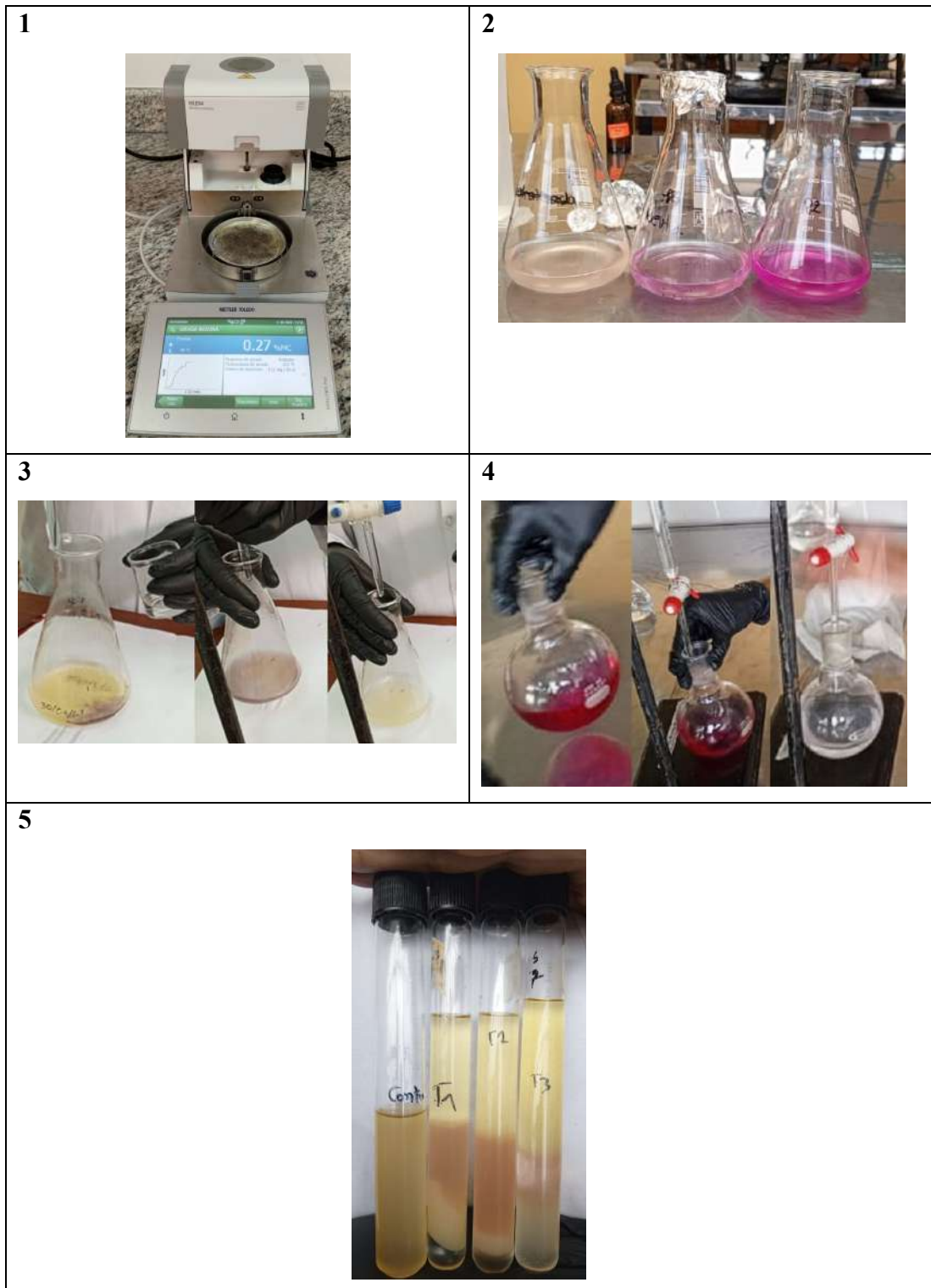
Obtención de la grasa y muestreo (semanal)



Nota. **(1)** Extracción de la grasa en la marmita de una curtiembre. **(2)** Muestreo de la grasa obtenida.

Anexo C

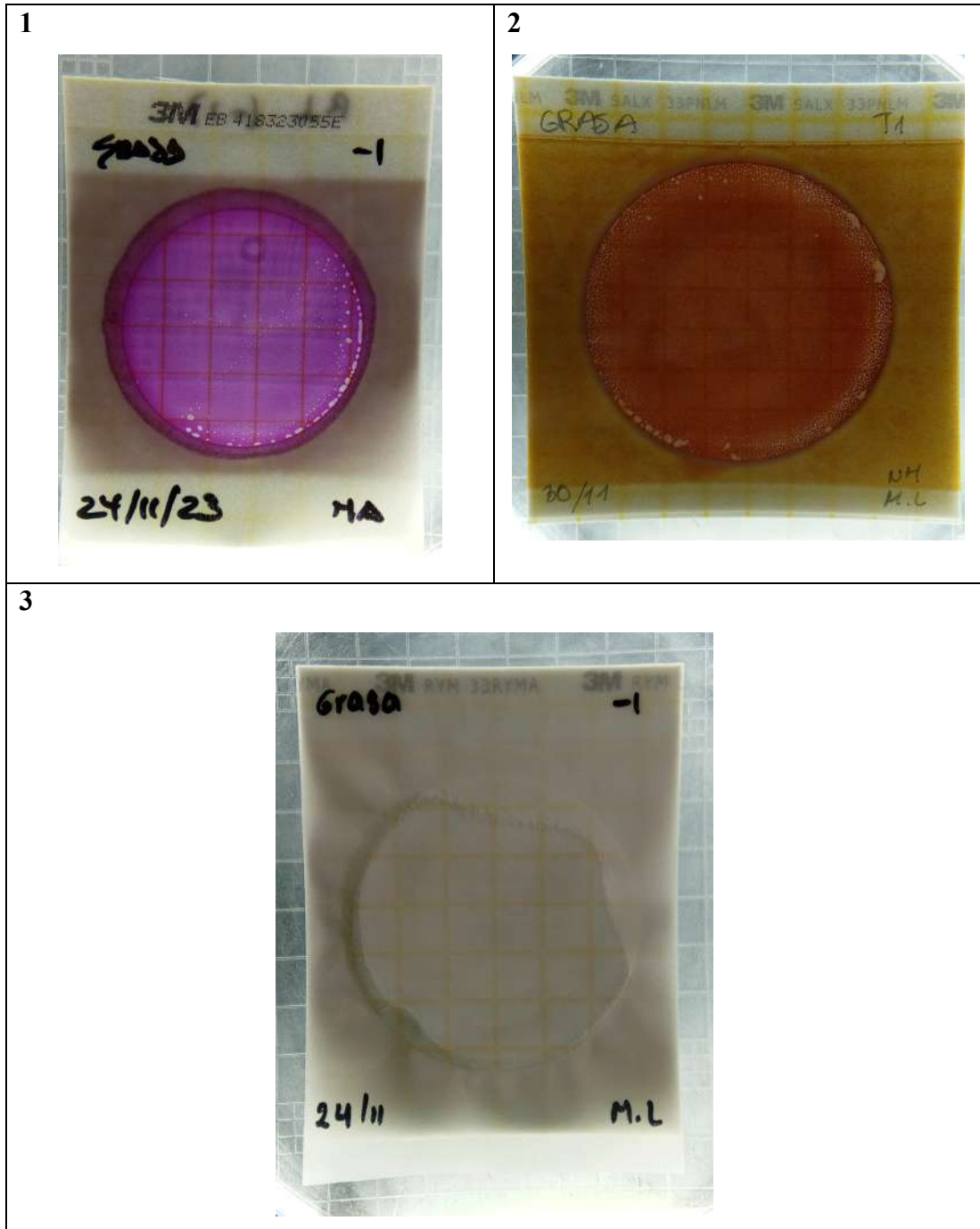
Resultados visuales obtenidos en los análisis fisicoquímicos (semanales)



Nota. (1) Determinación de humedad. (2) Determinación del índice de acidez. (3) Determinación del índice de peróxidos. (4) Determinación del índice de saponificación. (5) Determinación de rancidez.

Anexo D

Resultados visuales obtenidos en los análisis microbiológicos (quincenales)



Nota. (1) Recuento de Enterobacterias. (2) Detección de *Salmonella*. (3) Recuento de Mohos y Levaduras.

Anexo E. Resultados visuales del almacenamiento final de las grasas

1



Nota. Almacenamiento de las grasas previamente analizadas en recipientes herméticos y mantenidos en refrigeración a 4 ± 2 °C para su conservación.

Anexo F

Análisis de costos de equipos, materiales y reactivos para la implementación del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos

| EQUIPOS | | |
|--------------------------|-----------------|------------------------------|
| Detalle | Cantidad | Costo aproximado (\$) |
| Balanza analítica | 1 | 100,00 |
| Plancha de calentamiento | 1 | 160,00 |
| Balanza de humedad | 1 | 600,00 |
| Sorbona | 1 | 2300,00 |
| Refrigerador | 1 | 1000,00 |
| Estufa | 1 | 5000,00 |
| TOTAL | | \$ 9160,00 |

| MATERIALES | | |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------|
| Detalle | Cantidad | Costo aproximado (\$) |
| Mortero | 1 | 5,00 |
| Pinza y soporte universal | 1 | 25,00 |
| Espátula | 1 | 2,00 |
| Matraz Erlenmeyer 250 ml | 1 | 6,00 |
| Bureta graduada de 25 ml | 1 | 23,00 |
| Vaso de precipitación 250 ml | 1 | 5,75 |
| Vaso de precipitación 100 ml | 1 | 4,00 |
| Probeta de vidrio de 100 ml | 1 | 10,00 |
| Termómetro | 1 | 10,00 |
| Pipetas volumétricas de 25 ml | 1 | 5,50 |
| Balones de aforo de 100 ml | 1 | 15,00 |
| Tubos de ensayo | 1 | 1,50 |
| Tubos de ensayo con tapa | 1 | 2,00 |
| Pera de succión | 1 | 20,00 |
| Gotero | 1 | 3,00 |
| Piceta | 1 | 16,00 |

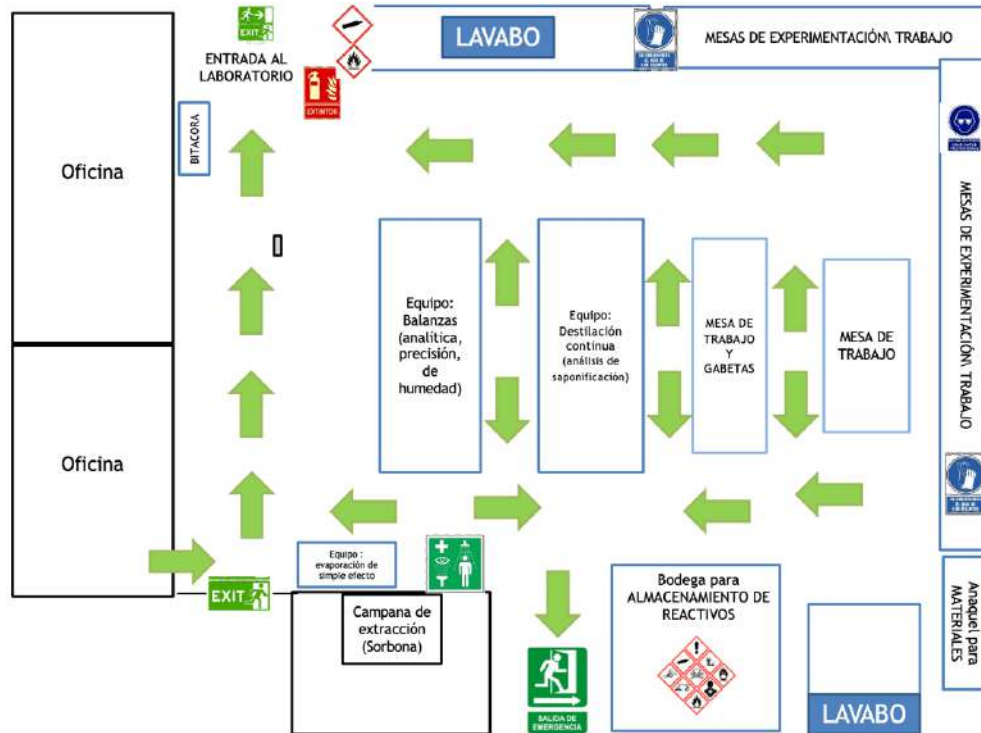
| | | |
|----------------------------------|---|------------------|
| Botella ámbar con tapa de 100 ml | 1 | 0,50 |
| Botella ámbar con tapa de 500 ml | 1 | 1,00 |
| Soporte universal | 1 | 80,0 |
| TOTAL | | \$ 235,25 |

| REACTIVOS | | |
|-----------------------------|-----------------|------------------------------|
| Detalle | Cantidad | Costo aproximado (\$) |
| Hidróxido de potasio | 1 kg | 44,20 |
| Fenolftaleína | 10 g | 10,00 |
| Éter dietílico | 2,250 L | 120,00 |
| Ácido clorhídrico | 358 mL | 12,00 |
| Ácido acético glacial | 2,5 L | 70,00 |
| Cloroformo | 1000 ml | 23,00 |
| Yoduro de potasio | 1000 g | 37,00 |
| Solución indicadora Almidón | 100 g | 27,00 |
| Tiosulfato de sodio | 100 g | 10,00 |
| Granallas de zinc | 1 g | 0,75 |
| Floroglucinol | 80 g | 48,00 |
| TOTAL | | \$ 401,95 |

Nota. Elaboración propia. Costos obtenidos de **AP. Solution EC, Labomersa S.A., Novachem y Sumilab.**

Anexo G

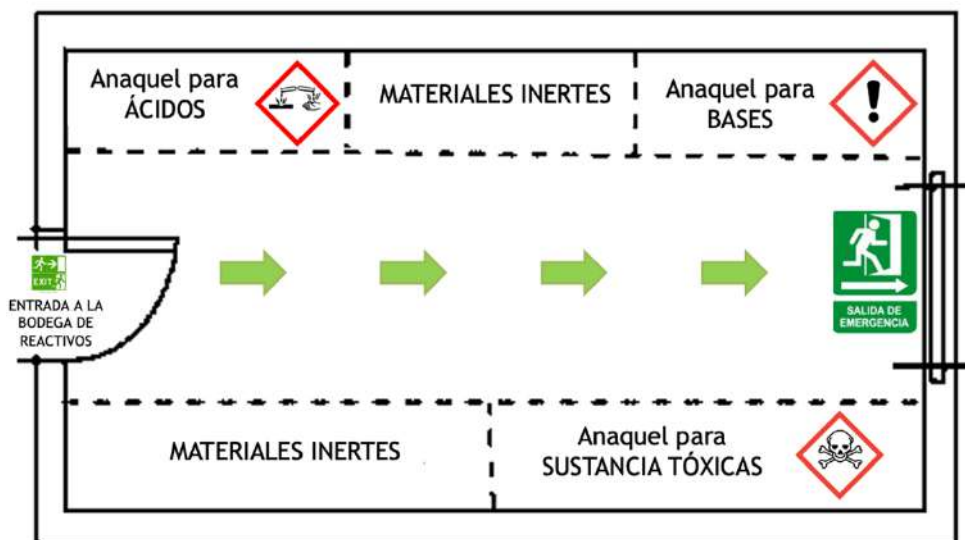
Descripción del espacio para la implementación del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos



Nota. Elaboración propia.

Anexo H

Descripción de la zona de reactivos dentro del laboratorio de control de calidad para análisis fisicoquímicos



Nota. Elaboración propia.

Anexo I

Permisos necesarios para la compra de reactivos controlados

| <p>1. Formulario dirigido a la Dirección Zonal correspondiente, (Anexo A);</p> | <p style="text-align: center;">ANEXO A</p> <p style="text-align: center;">SOLICITUD DE REGISTRO/RENOVACIÓN ANUAL PARA EL REGISTRO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS</p> <p>Lugar y fecha: _____</p> <p>Señor(a) _____</p> <p>Subsecretario(a) de Calidad Ambiental o Director(a) Provincial de Ministerio del Ambiente _____</p> <p>Presente.-</p> <p>Yo, _____ de ciudadanía No _____ en mi calidad de Representante legal de _____ de conformidad con lo establecido en el Acuerdo Ministerial para el Registro de Sustancias Químicas Peligrosas, me dirijo a usted, para solicitar se me conceda (marcar según corresponda):</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Certificado de Registro de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/></td> <td>Dar trámite a la renovación anual del Certificado de Registro <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p>PARA:</p> <p style="text-align: center;">NIVEL 1</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>A. IMPORTACIÓN <input type="checkbox"/></td> <td>B. EXPORTACIÓN <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>C. FABRICACIÓN <input type="checkbox"/></td> <td>D. ALMACENAMIENTO PROPIO <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>E. TRANSFERENCIA <input type="checkbox"/></td> <td>F. TRANSPORTE PROPIO <input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td>G. PRESTACIÓN DE SERVICIO DE ALMACENAMIENTO <input type="checkbox"/></td> <td>H. PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE TRANSPORTE <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">NIVEL 2 USO</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>A. ACADÉMICO-INVESTIGATIVO: <input type="radio"/></td> <td>B. INDUSTRIAL O ARTESANAL <input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>ESTUDIANTE <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> <tr> <td>INSTITUCIÓN EDUCATIVA <input type="checkbox"/></td> <td></td> </tr> </table> | Certificado de Registro de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | Dar trámite a la renovación anual del Certificado de Registro <input type="checkbox"/> | A. IMPORTACIÓN <input type="checkbox"/> | B. EXPORTACIÓN <input type="checkbox"/> | C. FABRICACIÓN <input type="checkbox"/> | D. ALMACENAMIENTO PROPIO <input type="checkbox"/> | E. TRANSFERENCIA <input type="checkbox"/> | F. TRANSPORTE PROPIO <input type="checkbox"/> | G. PRESTACIÓN DE SERVICIO DE ALMACENAMIENTO <input type="checkbox"/> | H. PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE TRANSPORTE <input type="checkbox"/> | A. ACADÉMICO-INVESTIGATIVO: <input type="radio"/> | B. INDUSTRIAL O ARTESANAL <input type="radio"/> | ESTUDIANTE <input type="checkbox"/> | | INSTITUCIÓN EDUCATIVA <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|--|--|---|--|---|---|---|---|--|---|---|---|-------------------------------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Certificado de Registro de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | Dar trámite a la renovación anual del Certificado de Registro <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A. IMPORTACIÓN <input type="checkbox"/> | B. EXPORTACIÓN <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| C. FABRICACIÓN <input type="checkbox"/> | D. ALMACENAMIENTO PROPIO <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| E. TRANSFERENCIA <input type="checkbox"/> | F. TRANSPORTE PROPIO <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| G. PRESTACIÓN DE SERVICIO DE ALMACENAMIENTO <input type="checkbox"/> | H. PRESTACIÓN DE SERVICIOS DE TRANSPORTE <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A. ACADÉMICO-INVESTIGATIVO: <input type="radio"/> | B. INDUSTRIAL O ARTESANAL <input type="radio"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ESTUDIANTE <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| INSTITUCIÓN EDUCATIVA <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>2. Solicitud de ampliación de cupo/inclusión de sustancias químicas peligrosas.</p> | <p style="text-align: center;">ANEXO B</p> <p style="text-align: center;">SOLICITUD DE AMPLIACIÓN DE CUPO/INCLUSIÓN DE SUSTANCIAS QUÍMICAS PELIGROSAS</p> <p>Lugar y fecha: _____</p> <p>Señor(a) _____</p> <p>Subsecretario(a) de Calidad Ambiental o Director(a) Provincial de Ministerio del Ambiente _____</p> <p>Presente.-</p> <p>Yo, _____ con cédula de ciudadanía No _____ en mi calidad de Representante Legal de _____ de conformidad con lo establecido en el Acuerdo Ministerial para el Registro de Sustancias Químicas Peligrosas, me dirijo a usted, para solicitar se me conceda:</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>La ampliación de cupo de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/></td> <td>La inclusión de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p>PARA:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Sustancia Química Peligrosa</th> <th colspan="2">Cupo anual autorizado (si aplica)</th> <th colspan="2">Cantidad de sustancia adicional / requerida</th> <th rowspan="2">Justificación de la ampliación/inclusión</th> </tr> <tr> <th>Kg</th> <th>L</th> <th>Kg</th> <th>L</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <p>Código de registro: <input type="checkbox"/>-<input type="checkbox"/>-<input type="checkbox"/>-<input type="checkbox"/>-<input type="checkbox"/></p> <p>Declaro que la información contenida en este documento es fidedigna y puede ser sujeta a comprobación por el Ministerio del Ambiente, que en caso de omisión o falsedad podrá aplicar las sanciones correspondientes.</p> <p style="text-align: center;">Firma del solicitante: _____</p> <p style="text-align: center;">Firma del responsable técnico (autoridad de la institución educativa en caso de estudiantes) _____</p> | La ampliación de cupo de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | La inclusión de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | Sustancia Química Peligrosa | Cupo anual autorizado (si aplica) | | Cantidad de sustancia adicional / requerida | | Justificación de la ampliación/inclusión | Kg | L | Kg | L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| La ampliación de cupo de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | La inclusión de Sustancias Químicas Peligrosas <input type="checkbox"/> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sustancia Química Peligrosa | Cupo anual autorizado (si aplica) | | Cantidad de sustancia adicional / requerida | | Justificación de la ampliación/inclusión | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Kg | L | Kg | L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>3. Contar con un responsable técnico, designado formalmente, quien deberá tener formación académica de tercer nivel relacionada con el estudio de la Química.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>4. Contar con el permiso ambiental respectivo de su actividad.</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Nota. Obtenido del **Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (2023)**.

Anexo J

Descripción del personal calificado para realización de los análisis fisicoquímicos

| Tareas | Competencias |
|---|--|
| Realizar diversos análisis fisicoquímicos según requerimientos. | Elaboración de presupuestos. |
| Preparar y valorar reactivos y materiales químicos para la realización de análisis o investigaciones. | Seguridad laboral. |
| Supervisar al personal bajo su cargo. | Redacción y ortografía. |
| Diseñar e implementar investigaciones concernientes al área física y química. | Relaciones humanas. |
| Evaluar metodologías de análisis y sugerir adecuaciones correspondientes. | Peritajes químicos, farmacológicos, etc. |
| Evaluar la calidad de los análisis fisicoquímicos según parámetros establecidos. | Metodologías de la investigación. |
| Dictar charlas sobre el Instituto, Conferencias y Seminarios relacionados con su especialidad. | Cálculos matemáticos y estadísticos. |
| Llevar el control con evidencias el desempeño del personal bajo su responsabilidad. | Conocimiento en física y química |

Nota. Obtenido de **Asmi Química Ecuador (2023)**.