



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación del proceso de conservación de la grasa proveniente de los residuos de carnaza de una curtiembre en Ambato.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención de 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: Natalia Carolina Maliza Valdospin

Tutor: PhD. Nelly Esther Flores Tapia

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 de 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, Natalia Carolina Maliza Valdospin, 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



Natalia Carolina Maliza Valdospin

C.I. 1804900924

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de el 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.



Natalia Carolina Maliza Valdospin

C.I. 1804900924

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 Técnicas de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Lander Vinicio Pérez Aldaz
1802706596

Mg. Juan De Dios Espinoza Moya
1803201431

Ambato, 7 de Febrero del 2024

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen María,

Por ser mi fuente de fortaleza y haber permitido llegar hasta este punto.

A mis padres, Ernesto y Anita

Por ser mi soporte constante a lo largo de mi formación académica. Gracias por enseñarme la importancia de la educación y ayudarme a cumplir mis metas.

Los amo.

A mis hermanos Ricardo, Cristian, Diego, Álvaro y Sebastián

Por su apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida, por la ayuda económica y la confianza que pusieron en mí.

A mis grandes amigos, Erika, Edgar, Andrea, Mishell y Jessenia

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional. Gracias por cada momento compartido y que la vida nos premie con mucho más

AGRADECIMIENTO

A Dios, mi roca y salvador, y a la Virgen María, mi refugio y consuelo.

Agradezco a mis amados padres (Ernesto y Anita) y hermanos (Ricardo, Cristian, Diego, Álvaro y Sebastián) por su apoyo incondicional, motivación en el camino de mi vida como profesional.

Agradezco a mi tutora PhD. Nelly Flores, por la confianza depositada y las palabras de aliento que me ayudaron a mantenerme enfocada y comprometida con mi objetivo.

Agradezco al Ing. Geovanny Freire, la Ing. Carla Peñafiel por su ayuda y enseñanzas durante mi fase experimental, no lo hubiera logrado sin su ayuda. Infinitas gracias.

A la empresa curtiembre de Ambato por permitirme acceder a sus instalaciones y realizar el muestreo de la grasa para realizar mi fase experimental. Su cooperación y apoyo en mi proyecto de investigación fueron esenciales para su éxito y estoy muy agradecido por su colaboración.

Finalmente, agradezco a mis amigos, docentes y personal del laboratorio UODIDE y laboratorios académicos, a todos quienes formaron parte de mi viaje de investigación y culminación de mi tesis.

INDICE 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 DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN EJECUTIVO	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes investigativos.....	1
1.1.1 Situación medioambiental por parte del sector del cuero.....	1
1.1.2 Industria del cuero en el Ecuador	2
1.1.3 Proceso de producción del cuero.....	3
1.1.4 Tipos de residuos provenientes del proceso de curtición	7
1.1.5 Gestión de los residuos sólidos de curtiembre	9
1.1.6 Oxidación lipídica	11
1.1.7 Métodos de conservación de la grasa	12
1.1.8 Propiedades antioxidantes y antimicrobianas del Romero.....	12
1.2 Objetivos	14
1.2.1 Objetivo general	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA.....	15

2.1 Materiales.....	15
2.2 Métodos.....	17
2.2.1 Caracterización de la grasa obtenida de la carnaza residual de una curtiembre con el fin de evaluar sus condiciones iniciales.....	17
2.2.1.1 Toma y conservación de las muestras de grasa	17
2.2.1.2 Determinación de humedad	18
2.2.1.3 Determinación del índice de acidez	18
2.2.1.4 Determinación del índice de peróxidos	19
2.2.1.5 Determinación del índice de saponificación.....	20
2.2.1.6 Determinación del índice de rancidez.....	20
2.2.2 Desarrollar un método de preservación para la grasa extraída de la carnaza residual, empleando un extracto de romero comercial como antioxidante natural en lugar del luctanox LG.....	21
2.2.2.1 Preparación de las muestras con antioxidantes.....	21
2.2.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante del extracto de romero en las muestras de grasas	21
2.2.2.3 Ensayos de oxidación acelerada en el equipo oxitest velp scientific.....	22
2.2.2.4 Análisis de datos	23
2.2.3 Evaluar el crecimiento microbiano en las muestras con y sin antioxidantes, aplicando criterios específicos conforme a las normativas nacionales e internacionales.....	23
2.2.3.1 Recuento de enterobacterias	23
2.2.3.2 Detección de salmonella	23
2.2.3.3 Recuento de hongos y levaduras.....	24
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
3.1 Análisis y discusión de los resultados.....	25
3.1.1 Caracterización de la grasa obtenida de la carnaza residual de una curtiembre con el fin de evaluar sus condiciones iniciales.....	25

3.1.2 Implementación de un método de preservación para la grasa extraída de la carnaza residual, empleando un extracto de romero comercial como antioxidante natural en lugar del luctanox LG	28
3.1.2.1 Selección del extracto de romero comercial.....	28
3.1.2.2 Ensayos de oxidación acelerada en el equipo OXITEST VELP SCIENTIFIC.....	29
3.1.2.3 Evaluación fisicoquímica de la actividad antioxidante del aceite esencial (AE) de romero a diferentes concentraciones	32
3.1.3 Evaluación del crecimiento microbiano en las muestras con y sin antioxidantes, aplicando criterios específicos conforme a las normativas nacionales e internacionales	41
3.2 Análisis de factibilidad económica	44
3.3 Verificación de hipótesis.....	45
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
4.1 Conclusiones.....	46
4.2 Recomendaciones	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de la piel bovina	3
Figura 2 Flujograma del proceso de curtido y acabado del cuero	5
Figura 3 Acción antioxidante del carvacrol mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno del grupo OH.....	13
Figura 4 Diagrama esquemático para el análisis cualitativo del índice de rancidez	21
Figura 5 Concentraciones de AE de romero en relación al tiempo de vida útil determinado en el Oxitest a 100 °C	31
Figura 6 Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero sobre el índice de acidez (% ácido oleico) durante el almacenamiento.	34
Figura 7 Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero sobre los valores del índice de peróxidos (meqO ₂ /kg) durante el almacenamiento.	36
Figura 8 Efecto de las concentraciones de aceite esencial de romero sobre los valores del índice de saponificación (mgKOH/g) durante el almacenamiento.	38
Figura 9 Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero en la grasa durante el almacenamiento.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición de una piel de vacuno.....	4
Tabla 2 Compuestos químico contaminantes presentes en efluentes líquidos de curtiembre.	7
Tabla 3 Residuos sólidos generados en las distintas etapas de fabricación del cuero.	8
Tabla 5 Reactivos de laboratorio empleados.....	15
Tabla 6 Materiales de laboratorio empleados	16
Tabla 7 Equipos de laboratorio empleados	17
Tabla 8 Caracterización inicial de la grasa obtenida de la carnaza residual	26
Tabla 9 Composición de los ácidos grasos de la grasa obtenida de la carnaza residual.	27
Tabla 10 Características principal del aceite de romero comercial (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	29
Tabla 11 Tiempo de conservación de la grasa residual con la incorporación de tres concentraciones diferentes de aceite esencial de romero.	30
Tabla 12 Resultados promedios de los análisis fisicoquímicos de la grasa y sus tratamientos	33
Tabla 14 Resultados del recuento de enterobacterias UFC/10g correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento.	42
Tabla 15 Resultados de la detección de <i>Salmonella</i> Ausencia/Presencia en 25 g de muestra correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento. .	42
Tabla 16 Resultados del recuento de hongos y levaduras UFC/10g correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento.	43
Tabla 17	45
Análisis de costos de los antioxidantes Luctanox LG y aceite esencial(AE) de romero	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Determinación del tiempo de vida útil a partir de los resultados del análisis en Oxitest	57
Anexo 2. Análisis Estadísticos.....	62
Anexo 3. Análisis del perfil de ácidos grasos de la grasa obtenida de la carnaza residual.....	64
Anexo 4. Ficha Técnica del antioxidante sintético Luctanox LG.....	65
Anexo 5. Análisis económico	65
Anexo 6. Licencia de Minitab.....	66

RESUMEN EJECUTIVO

En Ecuador, las industrias de las curtiembres forman parte activa de la economía circular, sin embargo, también han generado diversas preocupaciones ambientales debido a las grandes cantidades de desechos sólidos generados. Entre ellos la grasa procedente de la carnaza residual; que generalmente son enviados a verteros, por lo que, evaluar un método de conservación es crucial para la gestión de residuos.

Bajo la línea de investigación de Producción Agroalimentaria y medioambiente, se llevó a cabo la caracterización inicial de la grasa, la elaboración de un método de conservación en la cual se utilizó tres concentraciones de un aceite esencial, y cuya capacidad antioxidante y antimicrobiana se evaluó mediante parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, junto con pruebas de estabilidad oxidativa.

Los resultados iniciales mostraron valores de humedad, índice de acidez, índice de peróxidos e índice de saponificación dentro de los parámetros de la normativa INEN 1313:2012. En cuanto al método establecido los resultados del análisis de varianza revelaron que tanto tiempo de almacenamiento como la concentración de aceite esencial de romero son factores que afecta la calidad de la grasa. Los resultados de la prueba de estabilidad oxidativa corroboraron que el mejor tiempo de conservación es de 700 ppm con 2397 días de vida útil, pero con un costo-beneficio mayor al luctanox LG. Finalmente, los resultados de las pruebas microbiológicas mostraron datos por debajo de los límites establecidos en normas nacionales e internacionales.

Palabras Clave: Biotecnología ambiental, gestión de residuos, carnaza bovina, curtiembres, aceites esenciales, alimentación animal, conservación de alimentos.

ABSTRACT

In Ecuador, tannery industries actively participate in the circular economy; however, they have also raised environmental concerns due to the significant amounts of solid waste generated, including fat from residual leather trimmings, which is typically sent to landfills. Therefore, evaluating a conservation method is crucial for waste management.

Under the research line of Agri-food Production and the Environment, the initial characterization of the fat was carried out, and a conservation method was developed using three concentrations of an essential oil. Its antioxidant and antimicrobial capacity was assessed through physicochemical and microbiological parameters, along with oxidative stability tests.

The initial results showed values for moisture, acidity index, peroxide index, and saponification index within the parameters of the INEN 1313:2012 standard. Regarding the established method, the analysis of variance results revealed that both storage time and the concentration of rosemary essential oil are factors affecting fat quality. The results of the oxidative stability test confirmed that the optimal conservation time is at 700 ppm with a shelf-life of 2397 days, but with a higher cost-benefit compared to Luctanox LG. Finally, the microbiological test results indicated values below the limits set by national and international standards.

Keywords: Environmental biotechnology, waste management, bovine flesh, tanneries, essential oils, animal nutrition, food preservation.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

1.1.1 Situación medioambiental por parte del sector del cuero

El sector del cuero opera mediante la utilización sustancial de insumos químicos, agua y energía en el proceso de transformación de piel cruda en cuero, se estima que sólo el 20% de la materia prima se convierte en producto terminado; mientras que el 80% restante se desecha como residuos sólidos y líquidos (**Jiang et al., 2016**). A nivel global, muchas empresas de curtido se enfrentan cada vez a crecientes presiones para dar cumplimiento a las estrictas normas medioambientales. En países como Alemania, Francia, Estados Unidos, han implementado procesos considerados amigables con el medio ambiente (**Flores & Brito, 2023**), sin embargo, debido a las limitaciones de capital, la mayoría de las empresas de curtido en países Brasil, Colombia, Ecuador todavía enfrentan desafíos para invertir en métodos de producción respetuosos con el entorno (**Mozhiarasi et al., 2022**).

En Ecuador, la gestión de políticas ambientales y la preservación de los ecosistemas, así como el uso responsable de los recursos naturales, están bajo la responsabilidad del Ministerio del Ambiente (MAE). Asimismo, el Código Orgánico del Ambiente (COA) representa la legislación primordial que regula todas las cuestiones relacionadas con la adecuada administración ambiental (**MAE, 2021**) y conforme al COA, específicamente en sus artículos 324 y 326, se establecen sanciones que varían en función de la gravedad de la infracción a las normativas ambientales. Estas sanciones pueden oscilar de 1 hasta 200 salarios unificados, dependiendo de la naturaleza de la infracción cometida (**COA, 2021**).

En este contexto, tanto organizaciones internacionales como empresas han comenzado a implementar medidas destinadas a reducir los impactos ambientales asociados al sector del cuero. Estas reformas buscan reducir los impactos negativos no solo a nivel nacional sino también a nivel global, haciendo que esta actividad se vuelva más compatible con la preservación del ecosistema y más respetuosa con el medio ambiente **(Mozhiarasi et al., 2022)**.

1.1.2 Industria del cuero en el Ecuador

En el Ecuador, las industrias de las curtiembres se ubican en su mayoría en la región Sierra, principalmente en las provincias de Tungurahua (75,58 %), Imbabura (13, 19%), Azuay (4,27) y Cotopaxi (4, 01%) **(Parada et al., 2018)**. Estas industrias desempeñan un papel de vital importancia en la economía del país, se estima que cada año se procesan alrededor de 350 mil pieles de ganado vacuno (Flores & Brito, 2023). La mayoría de esta demanda está dirigida hacia el mercado interno, específicamente en la industria del calzado, confecciones y marroquinería **(Abril, 2018)**; mientras que, el remanente de la producción de cuero y pieles se exporta a diversos países alrededor del mundo.

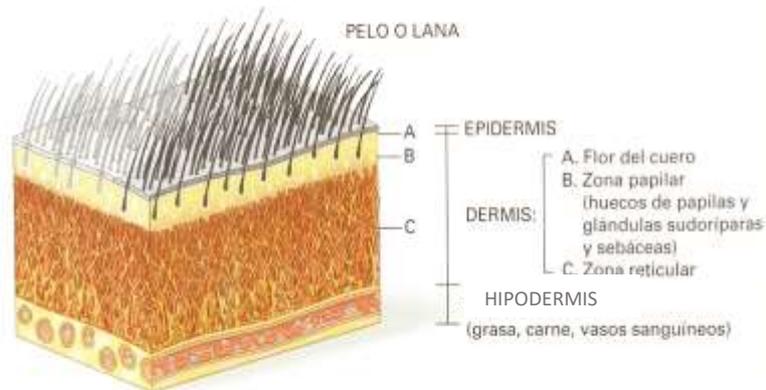
Tungurahua, en particular, se destaca como una de las principales provincias en términos de producción de cuero a nivel nacional. Se estima que alrededor de 80 curtiembres, que abarcan desde grandes empresas hasta medianas y pequeñas, están involucradas en esta actividad **(Parada et al., 2018)**. En la ciudad de Ambato, el 40% de la producción de cuero proviene de empresas de gran envergadura que forman parte del gremio conocido como ANCE (Asociación Nacional de Curtidores del Ecuador). Mientras que, el 60% restante es generado por pequeños y medianos productores artesanales que operan maquinaria compartida **(Corporación de desarrollo de Ambato y Tungurahua, 2022)**.

1.1.3 Proceso de producción del cuero

Las pieles de animales son un producto de desecho de la industria alimentaria y la materia prima para la producción del cuero (Shahidi, F., & Hossain, A. 2022). La piel bovina comprende tres capas esenciales: la epidermis, la dermis y la hipodermis, esta última compuesta mayoritariamente por tejido adiposo (Constantinescu et al., 2018). La dermis, por su parte, se subdivide en tres capas que determinan distintas calidades del cuero Figura 1.

Figura 1

Estructura de la piel bovina



Fuente: Shahidi, F., & Hossain, A. (2022).

La composición de la piel fresca se compone de un entramado de proteínas fibrosas inmersas en un líquido acuoso que contiene proteínas globulares, grasas y diversas sustancias minerales y orgánicas (Cunha et al., 2020). En la Tabla 1 se presenta una aproximación de la composición de la piel fresca de vacuno.

Tabla 1*Composición de una piel de vacuno*

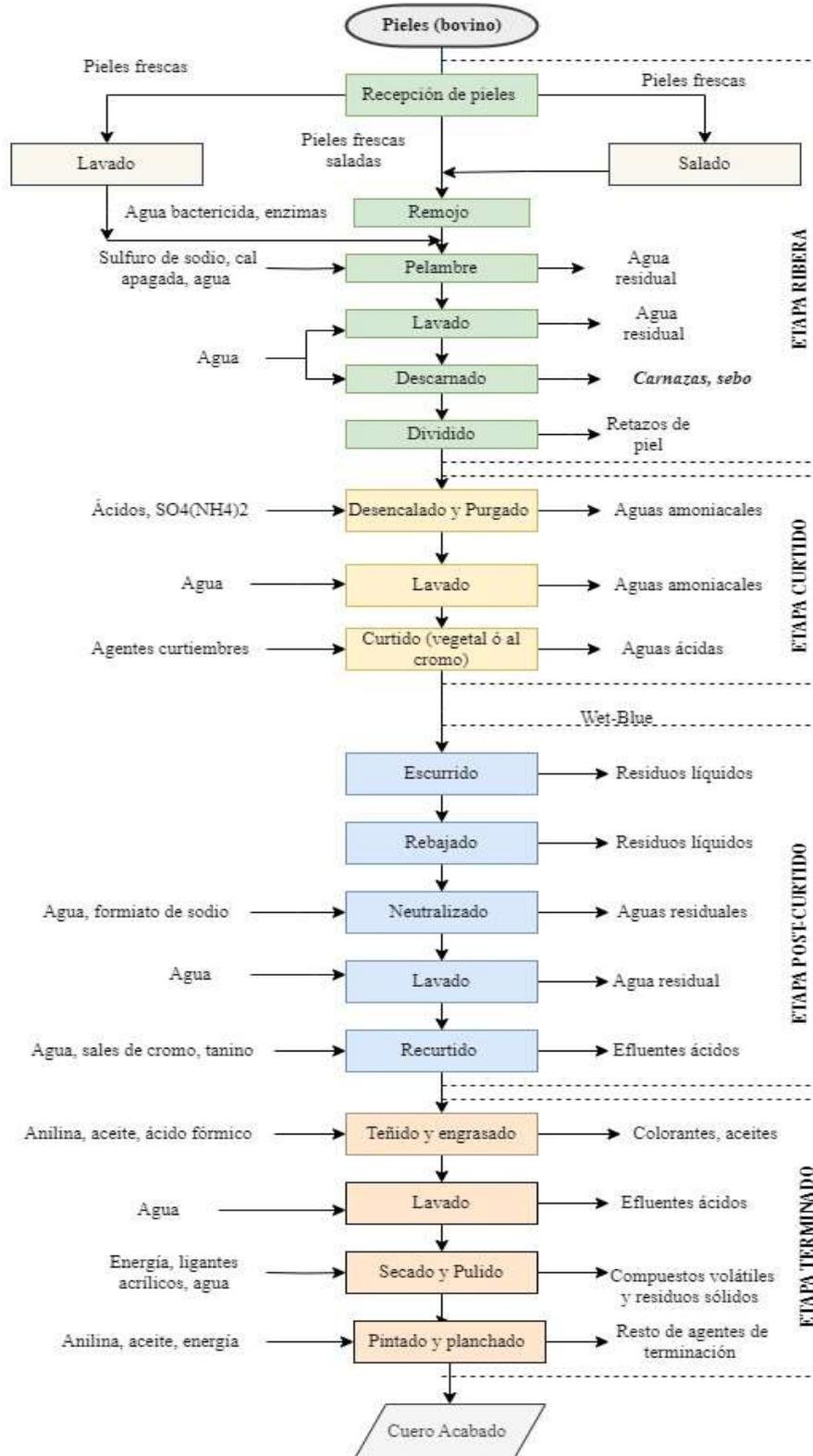
SUBSTANCIA	Cantidad (%)
Agua	64
Proteínas	33
Grasas	2
Substancias Minerales	0,5
Otras substancias	0,5

Fuente: Adaptada de Leather Producers' Association (UK)

El proceso de la transformación de las pieles de origen bovino en cuero se lleva a cabo mediante dos métodos, el primero utilizando sales de cromo y el segundo a bases de agentes vegetales (**Puhazselvan et al., 2022; Vinicius et al., 2020**). Cabe mencionar que el 80% de las industrias de curtiembres se apoyan en el empleo de sales de cromo en sus procesos de curtido (**Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2012**). No obstante, tanto el proceso de curtido con sales de cromo como en el proceso con agentes vegetales siguen las etapas que se muestran en la Figura 2.

Figura 2

Flujograma del proceso de curtido y acabado del cuero



Fuente: Elaboración Propia

- **Etapa ribera (operaciones preparatorias)**

En la etapa de ribera, las pieles se someten a una serie de pasos que incluyen la eliminación de suciedad, sangre, sal y pelos, la apertura de la estructura de colágeno, el descarne, el tratamiento con productos químicos básicos y la subdivisión en granos y hendiduras (**Puhazselvan et al., 2017**). La subdivisión en esta etapa es común tanto para la fabricación de tapicería como para el cuero destinado a la industria (**Flores & Brito, 2023**)

- **Etapa de curtido**

Durante el proceso de curtido, el colágeno presente en las pieles se transforma en cuero, protegiendo así el colágeno de la piel contra la acción de los microorganismos. Para llevar a cabo el curtido, se pueden emplear diversos agentes curtientes, como la zeología, el cromo, el glutardialdehído (GDA), productos sintéticos o extractos vegetales.

- **Etapa de post-curtido o Wet-end**

En la fase de post-curtido o wet-end, el cuero adquiere sus propiedades finales gracias a la aplicación de sintanos, engrasantes y tintes (**Flores & Brito, 2023**). Cada tipo de artículo de cuero requiere productos de acabado húmedo específicos y acciones mecánicas particulares para obtener sus características deseadas.

- **Etapa de terminado o acabado**

El acabado representa el último paso en la fabricación del cuero, donde se aplican diversos procesos para mejorar sus propiedades. En esta etapa, se utiliza una película final compuesta por varias capas con el fin de proteger el cuero, mejorar su rendimiento y crear colores y patrones de moda según las necesidades específicas del producto (**Puhazselvan et al., 2022**).

1.1.4 Tipos de residuos provenientes del proceso de curtición

En el caso de las curtiembres, la operación del curtido del cuero llega a generar aproximadamente el 80 % de desechos tanto sólidos como líquidos procedentes de las distintas etapas (OIT, 2019). De acuerdo con Flores & Brito, (2023) cuando se procesa 1000 kg de cuero crudo, se obtienen 200 kg de cuero final, pero también se generan 250 kg de residuos no curtidos, 200 kg de residuos curtidos y 50000 kg de aguas residuales. Esto significa que solo el 20% del peso de la materia prima se convierte en cuero.

- **Residuos líquidos**

El proceso de convertir pieles en cueros requiere de grandes cantidades de agua, se estima que para procesar cada tonelada de piel cruda se ocupa entre 50 y 150 litros de agua y, a su vez, se genera entre 30000 L y 50000 L al día de agua residual (Verma & Sharma, 2023). No obstante, cada etapa genera aguas contaminadas de distinta naturaleza como materiales orgánicos, sustancias químicas, metales pesados, trozos de pieles, grasas entre otros mencionado en la Tabla 2.

Tabla 2

Compuestos químico contaminantes presentes en efluentes líquidos de curtiembre.

Etapas	Compuesto	Descripción
Pretratamiento	Hidróxido de sodio	Limpieza de pieles y eliminación de residuos
Pretratamiento	Hipoclorito de sodio	Lavado y rehidratación de la piel
Pelambre	Sulfuro de sodio	Remoción de pelo
Curtido	Sulfato de cromo	Agente de curtido del cuero
Desencalado	Ácido sulfúrico	Remoción de sustancias
Desencalado	Ácido clorhídrico	Neutralización del agua y las pieles
	Ácido bórico	Remueve la cal y restos de sulfuros

Nota. Elaboración propia basado en los artículos (Flores & Brito, 2023; Priebe & Gutterres, 2012; Verma & Sharma, 2023)

- **Residuos sólidos**

Se trata de productos o subproductos residuales que incluyen elementos como el pelo del animal, fragmentos de cuero, cal, sulfuros, trozos de piel, virutas cromadas, grasas, polvo (Viguera, 2016). Se estima que, por cada 1000 kg de piel cruda, aproximadamente 850 kg se convierten en residuos sólidos durante el proceso de curtido del cuero, dejando solamente 150 kg de la materia prima que se transforma en cuero (Vinicius et al., 2020). Las curtiembres generan considerables cantidades de residuos sólidos, que se menciona en la Tabla 3.

Tabla 3

Residuos sólidos generados en las distintas etapas de fabricación del cuero.

Etapas	Residuos	Cantidad presente %	Contenido
Pelambre	Pelo	20-30	Alto contenido de queratina
Descarnado	Carnaza	30-40	Gran contenido de grasa y proteína
Dividido	Restos de piel	20-25	Alto contenido de colágeno, elastina y queratina
Rebajado	Wet-blue	8-12	Alta concertación de cromo
Acabado	Polvos de pulido	2-5	Material volátil tóxico

Nota. Elaboración propia basado en los artículos (Priebe & Gutterres, 2012).

- **Carnaza.** La carnaza procedente del proceso de descarnado representa entre el 50 -60 % de los residuos sólidos sin curtir, está formado por restos de tejido adiposo, conjuntivo y muscular. Los componentes principales de las carnazas incluyen

agua, proteínas, grasas y sales minerales. Además, las proporciones de estos compuestos en las carnazas pueden variar significativamente según la procedencia de los cueros, lo que a su vez influye en los rendimientos de los diferentes productos a obtener (**Vinicius et al., 2020**).

- **Grasas (sebo).** Se encuentran en abundancia como tejido graso que se adhiere al lado carnosos del cuero. Durante el proceso de pelambre, experimentan una parcial saponificación en un medio alcalino, dando origen a una parte de valor del extracto volátil del efluente total de curtiembre (**Puhazhselvan et al., 2017**). Su eliminación ocurre a través del proceso de descarte, el cual implica la eliminación mecánica tanto de la grasa natural como del tejido conectivo, ambos esenciales para las etapas posteriores del proceso de curtiembre (**Vinicius et al., 2020**).

1.1.5 Gestión de los residuos sólidos de curtiembre

Las curtiembres generan cada año un gran volumen de subproductos y productos derivados de categoría 3 (bajo riesgo) no destinados al consumo humano (**Vinicius et al., 2020**). Los residuos generados durante el proceso de descarte representan un subproducto inevitable en la industria del procesamiento de cuero, lo que plantea un importante desafío ambiental (**Etemadian et al., 2021**). Asimismo, la gestión de estos desechos constituye un reto significativo para la industria del cuero, por lo que, en la actualidad existen alternativas que permiten aprovechar estos residuos de manera sostenible, reduciendo así su impacto ambiental tabla 4.

Tabla 4*Aprovechamiento de residuos sólidos de curtiembre.*

Etapa	Residuo	Reciclaje
Pelambre	Pelo	Extracción de queratina
Descarnado	Sebo	Materia prima para harinas y balanceados
Descarnado	Carnaza	Materia prima para juguetes caninos
Dividido	Restos de piel	Producción de biogás
Rebajado	Wet-blue	Elaboración de pegamentos
Terminado	Polvo de pulido	Hidrolizados de colágeno

Nota. Elaboración propia basado en los artículos: Flores & Brito, 2023; Piera, 2018; Vinicius et al., 2020

La grasa o sebo posee un alto contenido de proteína y buena digestibilidad debido a los ácidos grasos tanto palmítico como esteárico que lo constituye, lo que lo hace suficientemente apto para ser empleado como alimentación para animales (**McMurry, 2008**). Estos componentes tienen una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria para animales, ya que proporciona nutrientes críticos en forma de ácidos grasos que favorecen la absorción de vitaminas liposolubles (**Vinicius et al., 2020**)

En el caso de los balanceados sus principales nutrientes incluyen proteínas (24%), grasas (entre el 8-24 %), fibras (10%), vitaminas y minerales necesarios para mantener la vida y optimizar el rendimiento del animal (**Puhazselvan et al., 2022**). En las harinas la presencia de grasa representa aproximadamente el 10-12% del sustituto de proteínas en la dieta de aves y cerdos en crecimiento en la mezcla final del producto (**González, 2013**). La presencia de grasa en estos alimentos mejora significativamente la palatabilidad, la textura y la presentación del alimento.

1.1.6 Oxidación lipídica

La oxidación de lípidos involucra la reacción del oxígeno con radicales libres. La formación de un peróxido ocurre mediante la eliminación inicial de un átomo de hidrógeno de un grupo metileno adyacente al doble enlace del ácido graso insaturado (**Zamuz et al., 2022**). La subsiguiente descomposición de los hidroperóxidos genera una variedad de compuestos de sabor volátiles y no volátiles como productos secundarios de la oxidación (**Puhazhselvan et al., 2017**).

Los lípidos pueden oxidarse tanto a través de procesos enzimáticos como no enzimáticos, y múltiples factores incluyendo la presencia de oxígeno, el grado de insaturación de los lípidos, la existencia de antioxidantes (**Shahidi & Hossain, 2022**), así como prooxidantes como el cobre y la lipoxigenasa, el tipo de envase, la exposición a la luz y la temperatura de almacenamiento, influyen en la velocidad de la oxidación de los lípidos (**Mcmurry, 2008; Puhazhselvan et al., 2017**).

Los ácidos grasos saturados tienen enlaces simples a lo largo de las cadenas de carbono, y estos ácidos grasos saturados se pueden dividir en grupos según la longitud de la cadena de ácidos grasos (**Giriprasad & Goswami, 2013**). Además, estos ácidos grasos pueden incorporarse en la dieta de los animales mediante la incorporación de grasa en el alimento para consumo animal. La grasa bovina contiene una alta cantidad de ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1n-9) y ácidos linoleicos (C18:2n-6) (**Bondioli et al., 2019**). No obstante, los ácidos grasos poliinsaturados, con dos o más sitios insaturados, pueden oxidarse, causando la pérdida de ácidos grasos esenciales, la formación de radicales libres y el desarrollo de sabores y aromas rancios (**Centinguil & Yardimci, 2008**).

1.1.7 Métodos de conservación de la grasa

Los antioxidantes sintéticos como la etoxiquina (EQ), el hidroxitolueno butilado (BHT), el hidroxianisol butilado (BHA) o la terc-butilhidroquinona (TBHQ) se utilizan con frecuencia en las dietas tradicionales para ganado y aves de corral (Kleinberg et al., 2019a). Los antioxidantes (AH) actúan tanto con los radicales de los ácidos grasos como con los radicales libres de peróxido y su función principal radica en atrapar los radicales libres que son los principales impulsores de la oxidación (Gan et al., 2022). Sin embargo, el uso de BHA y BHT como aditivos alimentarios está restringido en varios países, ya que estos compuestos parecen tener un efecto tóxico para la salud del animal (Kleinberg et al., 2019a; Qi et al., 2023).

Los antioxidantes naturales, como los extractos de plantas o enzimas, representan una opción prometedora y económica para evitar la oxidación de las grasas residuales de origen animal (Chen et al., 2014; Hidalgo et al., 2019). Existe estudios que se han centrado en materiales antioxidantes de origen vegetal, como fenólicos, flavonoides, antocianinas, ácido clorogénico, licopeno, quercetina, catequinas, tocoferol, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido protocatequico, β -caroteno, vitamina C y E, carotenoides, miricetina, carnosina, kaempferol, zeaxantina, crisina, clorofila, sesamol, ácido rosmarínico, ácido carnósico, carnosol y ácido gálico (Afaf & Jan, 2020; Kleinberg et al., 2019b; Qi et al., 2023; Symoniuk et al., 2022). Los extractos de origen vegetal pueden proporcionar alternativas naturales que pueden utilizarse en la industria alimentaria en lugar de la conservación sintética (González, 2013).

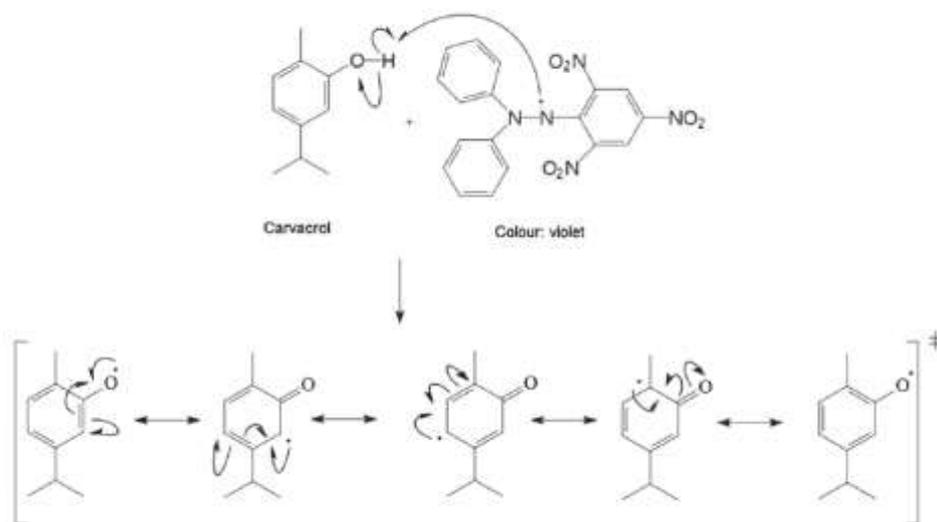
1.1.8 Propiedades antioxidantes y antimicrobianas del Romero

El romero (*Rosmarinus officinalis L.*), es una planta aromática que se adapta muy bien en suelos calcáreos, arenosos y, que posee una valiosa fuente de compuestos fenólicos que le confieren propiedades antioxidantes y antimicrobianas (González, 2013). En el caso de los aceites esenciales, los fenilpropanoides y terpenoides con características fenólicas también tienen actividades antioxidantes. Estos compuestos pueden actuar

en la estabilización de radicales libres debido a que sus estructuras contienen un grupo hidroxilo (-OH) en un anillo de benceno (Aguiar et al., 2023; Bampidis et al., 2022a). De esta manera, pueden actuar transfiriendo el átomo de hidrógeno del grupo OH al radical libre, como agentes reductores e inhibidores de oxígeno singlete, como se muestra en la Figura 3

Figura 3

Acción antioxidante del carvacrol mediante la transferencia de un átomo de hidrógeno del grupo OH.



Nota. Estructuras obtenidas de Food technology and Biotechnology, por Aguilar et al., (2023)

La actividad antibacteriana del romero ha sido evaluada en diversos ensayos basados en la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) o la Concentración Mínima Bactericida (CMB). El romero contiene principalmente carvacrol (67.0%) y γ -terpineno (15.3%), los cuales son efectivos contra el desarrollo y crecimiento de cepas Gram negativas, incluyendo *Escherichia coli* (Mezza et al., 2013; Nieto et al., 2018; Younes et al., 2018). Según Afaf & Jan, (2020) sostienen que los componentes presentes en el romero (*Rosmarinus officinalis*, L.), pueden actuar aumentando la permeabilidad de la membrana, inhibiendo la absorción de sustratos importantes para el crecimiento microbiano e interfiriendo en el metabolismo celular.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

Evaluar el proceso de conservación de la grasa proveniente de los residuos de carnaza de una curtiembre en Ambato

1.2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar la grasa obtenida de la carnaza residual de una curtiembre con el fin de evaluar sus condiciones iniciales.
- Desarrollar un método de preservación para la grasa extraída de la carnaza residual, empleando un extracto de romero comercial como antioxidante natural en sustitución del luctanox LG.
- Evaluar el crecimiento microbiano en las muestras con y sin antioxidantes, aplicando criterios específicos conforme a las normativas nacionales e internacionales.

Hipótesis

- **Hipótesis Nula**

Ho: El proceso de conservación utilizando un extracto de romero comercial en la grasa proveniente de los residuos de carnaza de una curtiembre en Ambato, no presenta límites significativos de degradación en comparación al método de conservación convencional.

- **Hipótesis Alternativa**

H1: El proceso de conservación utilizando un extracto de romero comercial en la grasa proveniente de los residuos de carnaza de una curtiembre en Ambato, si presenta límites significativos de degradación en comparación al método de conservación convencional.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA

2.1 Materiales

En el presente proyecto de investigación, se utilizaron reactivos, materiales y equipos de laboratorio que se detallan en las Tablas 5, 6 y 7

Tabla 5

Reactivos de laboratorio empleados

Reactivo	Cantidad
Alcohol etílico 95%	5000 mL
Hidróxido de potasio	70 g
Fenolftaleína líquida	25 mL
Éter terc- butilometílico	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
Agua peptonada	15g
Agua peptonada bufferada	11g
Rappaport-Vassiliadis	16g

Tabla 6*Materiales de laboratorio empleados*

Material	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
Botellas de autoclave (100-500ml)	3
Puntas para micropipetas	1 caja
Micropipeta	1
Mechero	1

Tabla 7*Equipos de laboratorio empleados*

Equipo	Cantidad
Estufa	1
Balanza analítica	1
Balanza digital	1
Mufla	1
Baño maría	1
Plancha de calentamiento	1
Balanza de humedad	1
Cocina	1
Agitador mecánico	1
Refrigerador	1
Cámara de flujo laminar	1
Vortex	1
Sorbona	1
Autoclave	1
Nevera	1

2.2 Métodos

2.2.1 Caracterización de la grasa obtenida de la carnaza residual de una curtiembre con el fin de evaluar sus condiciones iniciales

2.2.1.1 Toma y conservación de las muestras de grasa

Las muestras de grasa fueron proporcionadas por una curtiembre ubicada en el parque industrial de la ciudad de Ambato. La recolección de las muestras se realizó un martes donde la empresa realiza el proceso de descarnado y cocción de carnaza y, como resultado se obtiene la grasa o sebo. Se tomó aproximadamente 1 litro de muestra grasa de un solo lote y se recogió en recipientes plásticos estériles, mismo que se etiquetaron

con los datos correspondientes. Una vez recolectada la muestra se trasladó a la planta piloto de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, donde se mantuvo en refrigeración a una temperatura de $5 \pm 2^\circ \text{C}$ (INEN, 1973).

2.2.1.2 Determinación de humedad

El porcentaje de humedad se determinó según la norma INEN 39, en la cual se taró los crisoles de porcelana de 30 ml a una temperatura de estufa de 105°C durante 1 hora, posteriormente se dejó reposar por 10 minutos, se pesó y se colocó 5 g de muestra. Los crisoles se llevaron a la estufa y se repitió el proceso anteriormente mencionado hasta mantener un peso constante y la diferencia de pesos entre dos secados consecutivos sea inferior a 0.5 mg. El resultado se expresó en porcentaje de humedad mediante la siguiente ecuación 1 (INEN, 2009).

$$\%humedad = \frac{M_a - M_b}{M_a - M} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

M = masa en gramos de la cápsula con tapa

M_a = masa en gramos de la capsula con tapa y la muestra.

M_b = masa en gramos de la capsula con tapa y la muestra seca.

2.2.1.3 Determinación del índice de acidez

El índice de acidez se determinó bajo la norma INEN 38. Se inició pesando 20 g de muestra y se mezcló con 300 ml de la solución neutralizada de alcohol-éter, luego se añadió 2 gotas de solución indicadora de fenolftaleína y se tituló con la solución 0.1 N de hidróxido de potasio. Se alcanzó el viraje de color rosa aproximadamente 30 segundos y para el resultado se midió el volumen de la solución gastada de hidróxido de sodio empleando la ecuación 2 (INEN, 1973a).

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{56,1 V.N}{m} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Dónde:

I = índice de acidez del producto, en mg/g.

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio o de potasio empleado en la titulación, en cm³.

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio o de potasio.

m = masa de la muestra analizada, en g.

2.2.1.4 Determinación del índice de peróxidos

El índice de peróxidos se determinó bajo la norma INEN 277. Se pesó 5 g de la muestra, se filtró y se transfirió a un matraz Erlenmeyer. Se preparó una solución ácido acético-cloroformo (3:2) y se añadió a la muestra. Luego, se añadió 0.5 ml de la solución saturada de yoduro de potasio, se agitó y se adicionó 30 ml de agua destilada. Posteriormente, se añadió 0.5 ml de la solución indicadora de almidón hasta liberar todo el yodo de las capas de cloroformo y se tituló con 0.1 N de tiosulfato de sodio hasta que el color azul desaparezca completamente. Se realizó un ensayo en blanco con todos los reactivos sin la muestra y el resultado se calculó mediante la ecuación 3 (INEN, 1978).

$$I = \frac{VN}{m} * 1000 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Dónde:

I = Índice del peróxido en meq. de O₂ por kilogramo del producto.

V = Volumen de la solución de tiosulfato de sodio empleado en la titulación de la muestra, en cm³. (corregido del blanco).

N = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

m = Masa de la muestra analizada, en g.

2.2.1.5 Determinación del índice de saponificación

El índice de saponificación se realizó según la norma INEN 40. En un balón de fondo plano de 250 ml se añadió 3 gramos de muestra junto con una cantidad aproximada de 25 ml de solución etanólica de hidróxido de potasio. Luego, se conectó el refrigerante de reflujo al balón de fondo plano y se hirvió la mezcla durante 60 min en baño María. En la mezcla caliente se agregó 1ml de fenolftaleína y se procedió a titular el exceso de hidróxido de potasio con la solución 0.5 N de ácido clorhídrico hasta que la coloración rosa desaparezca completamente y, su resultado se calculó mediante la ecuación 4 (INEN, 1973b).

$$i = \frac{56,1(V_1 - V_2)N}{m} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Dónde:

i = índice de saponificación del producto, en mg/g.

V_2 = volumen de solución de ácido clorhídrico o sulfúrico empleado en la titulación de la muestra, en cm^3 .

V_1 = volumen de solución de ácido clorhídrico o sulfúrico empleado en la titulación del ensayo en blanco, en cm^3 .

N = normalización de la solución de ácido clorhídrico o sulfúrico.

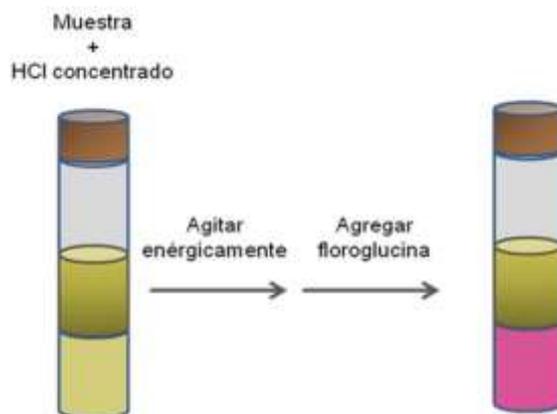
m = masa de la muestra analizada, en g.

2.2.1.6 Determinación del índice de rancidez

El índice de rancidez se determinó bajo la Norma INEN 45. En un tubo de ensayo se añadió 10 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de la muestra de gasa fundida, se agitó durante 30 segundos. Luego, se agregó 10 ml de la solución al 0,1 % de floroglucinol y se dejó reposar la mezcla durante 10 minutos. Se procedió a observar el color de la capa ácida y los resultados se reportaron de forma cualitativa; donde si la capa ácida presenta un color rojo, el resultado debe reportarse como positivo caso contrario, si el color es amarillo, anaranjado o ligeramente rosado, debe reportarse como negativo (INEN, 1973c). La presencia de color rojo indica el deterioro por rancidez Figura 4

Figura 4

Diagrama esquemático para el análisis cualitativo del índice de rancidez



2.2.2 Desarrollar un método de preservación para la grasa extraída de la carnaza residual, empleando un extracto de romero comercial como antioxidante natural en lugar del luctanox LG

2.2.2.1 Preparación de las muestras con antioxidantes

Para valorar el efecto antioxidante sobre la estabilidad oxidativa de la grasa, se preparó tres muestras de grasa, la primera que es el control, en la que se agregó luctanox LG en la dosis recomendada por el fabricante, la segunda muestra se agregó el extracto de romero comercial según indicaciones recomendadas por **González, 2013 & Qi et al., 2023** y la tercera muestra sin conservantes.

2.2.2.2 Evaluación de la actividad antioxidante del extracto de romero en las muestras de grasas

La actividad antioxidante se determinó mediante ensayos de índice de acidez, índice de peróxidos, índice de saponificación e índice de rancidez de acuerdo con las normas INEN 38, INEN 277, INEN 40 e INEN 45, respectivamente. Las mediciones se

realizaron a los 0, 15, 30, 60 y 90 días de almacenamiento y mantenidos en condiciones ambientales

2.2.2.3 Ensayos de oxidación acelerada en el equipo oxitest velp scientific

Para la evaluar la estabilidad oxidativa de grasa se empleó el equipo de oxitest y las metodologías modificadas de (Ruiz, 2022 ; AOACS, 1989). Donde se tomó 50 ml de grasa y se colocó en un vaso de precipitación de 100 ml junto con 0.005 gramos de antioxidante natural. El mismo proceso se repitió para la muestra con luctanox LG, posteriormente la mezcla se agitó cuidadosamente durante 10 minutos utilizando una placa de agitación y agitadores magnéticos, evitando así la incorporación de oxígeno

Para verificar que el equipo este completamente limpio, se utilizó alcohol etílico al 70% para limpiar las dos cámaras de oxidación del reactor. Seguidamente se colocó los espaciadores y sobre los mismo el soporte de titanio que tuvo $5 \pm 0,03$ gramos de la muestra con y sin antioxidante previamente pesado, se ingresó los datos de temperatura (90 °C, 100 °C y 110 °C) y presión 6 bares. Para la extrapolación matemáticas se utilizó la siguiente ecuación:

$$y = mx + c$$

Dónde:

y = temperatura a la cual se somete el aceite a oxidación en el Reactor Oxitest 80, 90 y 100 °C.

m = pendiente de la recta

x = periodo de inducción, índice de estabilidad en horas. (Valor obtenido del Reactor Oxitest)

2.2.2.4 Análisis de datos

Todos los análisis se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa MINITAB y la prueba de medias de Tukey (**Anexo 6**), con un nivel de confianza del 95%. Se utilizó un diseño experimental de bloques y en todos los casos analizados, se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

2.2.3 Evaluar el crecimiento microbiano en las muestras con y sin antioxidantes, aplicando criterios específicos conforme a las normativas nacionales e internacionales.

2.2.3.1 Recuento de enterobacterias

Para el recuento de enterobacterias se empleó la norma AOAC 2003.01. Primero se limpió con alcohol al 70% la superficie de la mesa, luego se pesó en la balanza analítica 10 gramos de la muestra y se colocó en una bolsa Stomacher, seguidamente se añadió 90 ml de agua peptonada y 10 ml de un agente surfactante. Finalmente, se llevó al homogeneizador durante 30 segundos (**AOAC, 2016**). Se sembró en la Placa Petrifilm^{MR}, 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrática inferior, luego se presionó el inóculo de manera que se esparza en toda el área circular de placa y después se llevó a incubar a 37 °C por 24 horas

2.2.3.2 Detección de salmonella

Para la detección de *salmonella* se empleó la norma AOAC 2014.01. Se limpió el área de trabajo con alcohol al 70 %. Se pesó 25 gramos de la muestra en una bolsa Stomacher y se agregó 225 ml del medio base de *Salmonella*. Luego se llevará al

homogeneizador durante 30 segundos. Después se llevará a incubar a $42\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas. Finalmente se sembró en la Placa Petrifilm^{MR}, 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrática inferior y se llevó a incubar a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 ± 2 horas (AOAC, 2016).

2.2.3.3 Recuento de hongos y levaduras

Para el recuento de hongos y levaduras se empleó la norma AOAC 2014.05. Primero se limpió con alcohol al 70% la superficie de la mesa, luego se pesó en la balanza analítica 10 gramos de la muestra y se colocó en una bolsa Stomacher, seguidamente se añadió 90 ml de agua peptonada. Finalmente, se llevó al homogeneizador durante 30 segundos (AOAC, 2016). Se sembró en la Placa Petrifilm^{MR}, 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrática inferior, luego se presionó el inóculo de manera que se esparza en toda el área circular de placa y después se llevó a incubar a 25°C por 48 horas.

CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de los resultados

3.1.1 Caracterización de la grasa obtenida de la carnaza residual de una curtiembre con el fin de evaluar sus condiciones iniciales

Para la caracterización inicial de la grasa obtenida de la carnaza residual se realizaron análisis por triplicado, siguiendo los métodos establecidos por las Normas INEN, ISO y AOAC. En la Tabla 8 se muestran los resultados de los análisis fisicoquímicos de la grasa obtenida de la carnaza, los valores incluyen un contenido de humedad de 0.24 %, un índice de acidez de 0.36 (como % ácido oleico), un índice de peróxidos de 3.90 mEqO₂/kg y un índice de saponificación de 195.12 mgKOH/g, los valores reportados se encuentran dentro de los límites establecidos por normas nacionales e internacionales para grasas.

Los resultados se compararon con los datos obtenidos en la investigación de **Mata et al., 2018; Bondioli et al., 2019** en el cual evaluaron la calidad de la grasa bovina, los resultados indicaron un índice de acidez de 0.501 como % ácido oleico, 0.14 % de humedad, 2.2 mEqO₂/kg índice de peróxidos, que comparados con los datos de la muestra estudiada existe poca diferencia; esto debido a varios factores como la raza del animal, la edad del ganado, el tiempo y temperatura de cocción de la carnaza. Además, **Mata et al., 2011** informa que la grasa animales provenientes de curtiembres son expuestas a altas temperaturas, agua durante tu extracción que llegan a alterar su calidad lo que se ve reflejado en los valores fisicoquímicos evaluados.

Tabla 8*Caracterización inicial de la grasa obtenida de la carnaza residual*

Ensayo	Resultado	Mata et al., 2018; Bondioli et al., 2019 *	Parámetros establecidos por la Norma
Humedad (%)	0.24±0.01	0.14	NTE INEN 39** (0 - 0.260)
Índice de acidez (% ác.oleico)	0.36 ±0.02	0.50	NTE INEN 38** (0 - 0.30)
Índice de peróxidos (mEqO ₂ /kg grasa)	3.90±0.1	2.20	ISO 3960** (≤ 10)
Índice de saponificación (mgKOH/g de grasa)	195. 12±0.01	195	AOAC 920** (190 – 202)

Nota. Los valores corresponden a un promedio de tres repeticiones por determinación ± la desviación estándar. * datos bibliográficos obtenidos de acuerdo con las normas ISO. ** Método de ensayo para cada análisis.

Por otro lado, la evaluación del contenido de ácidos grasos saturados e insaturados presente en la grasa se llevaron a cabo mediante análisis cromatográficos de gases (FAME). En el caso de la grasa obtenida de la carnaza residual el contenido total de ácidos saturados fue de 44.70 % mientras que, el total de ácidos Insaturados es de 55.30 % como se muestra en la Tabla 9. El ácido oleico es el más predominante con el 40.33% del total de ácidos grasos presentes en la grasa, un factor importante que influye en la estabilidad a la oxidación. Estos resultados concuerdan con los hallazgos realizado por **Booramurthy et al., (2022)** quienes evaluaron las grasas de residuos de curtiembres y encontraron que el ácido oleico el más abundante con el 37. 76%, seguido por el ácido esteárico con el 30.23 % y el ácido palmítico con el 24.22 %.

Tabla 9*Composición de los ácidos grasos de la grasa obtenida de la carnaza residual.*

Ácidos grasos	Estructura	%
Ácidos grasos saturados		
Mirístico	(C14:0)	3.73
Pentadecílico	(C15:0)	0.83
Palmítico	(C16:0)	24.80
Margárico	(C17:0)	1.84
Esteárico	(C18:0)	13.50
Total, de ácidos Saturados		44.70
Ácidos grasos Insaturados		
Miristoleico	(C14:1)	1.93
Palmitoleico	(C16:1)	6.72
Margárico	(C16:2)	1.95
Oleico	(C18:1)	40.33
Linoleico	(C18:2)	3.46
Linoleico	(C18:3)	0.43
Linoleico	(C18:4)	0.47
Total, de ácidos Insaturados		55.30
Total		100

Nota. El análisis fue realizado por el laboratorio acreditado UBA LAB (**Anexo 3**)

García et al., (2022) informa que en el caso de las curtiembres el proceso de cocción implica el calentamiento de las materias primas para separar la grasa de otros componentes, lo que conlleva a que los triglicéridos sufran hidrólisis y como resultado, la grasa procesada contenga una concentración más alta de ácidos grasos. Asimismo, **Mata et al., 2018** añade que una cantidad elevada de ácidos grasos libres (FFA) afecta su calidad y reduce su valor nutricional, por lo tanto, se consideran grasas no comestibles para el ser humano.

3.1.2 Implementación de un método de preservación para la grasa extraída de la carnaza residual, empleando un extracto de romero comercial como antioxidante natural en lugar del luctanox LG

3.1.2.1 Selección del extracto de romero comercial

En este estudio se ha escogido el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), ya que este aceite esencial es una fuente natural de antioxidantes debido a que posee diversos compuestos fenólicos. Además, varias investigaciones han probado que los aceites esenciales obtenidos de *Rosmarinus officinalis* L. son un antioxidante natural prometedor para extender la vida útil de los productos (Choi et al., 2019; Nieto et al., 2018; Ojeda et al., 2013). También, el aceite de *Rosmarinus officinalis* L. al ser un producto natural de origen vegetal, es reconocida como GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro), lo que respalda su aplicación en matrices alimentarias sin riesgos percibidos para los consumidores (Younes et al., 2018).

En el caso específico de los aceites esenciales obtenidos de *Rosmarinus officinalis* L., se les atribuyen diferentes actividades biológicas, entre las que destacan sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Otros aspectos como la solubilidad en grasas y la estabilidad durante el procesamiento refuerzan su atractivo en aplicaciones alimentarias (Bampidis et al., 2022; Domínguez et al., 2019). En consecuencia, considerando estos antecedentes, se optó por utilizar un aceite esencial de romero comercial de grado alimenticio adquirido por la empresa dōTERRA Ecuador C. LTDA; los componentes del aceite esencial de romero comercial se detallan en la Tabla 10.

Tabla 10*Características principal del aceite de romero comercial (Rosmarinus officinalis L.)*

Parámetro	Mínimo	Máximo
Alfa Pineno (%)	9,00	15,00
Canfeno (%)	2,50	6,00
Beta pineno (%)	4,00	9,00
Mirceno (%)	1,00	3,00
Limoneno (%)	1,50	4,00
1,8-cineol (%)	38,00	55,00
Paracimeno (%)	0,50	2,50
Alcafor (%)	5,00	15,00
Acetato Bornilo (%)	0,10	1,60
Verbenona (%)	-	0,40
Borneol (%)	1,00	5,00
Alfa Terpineol (%)	1,00	2,50

Fuente: dōTERRA Ecuador C. LTDA, 2023

3.1.2.2 Ensayos de oxidación acelerada en el equipo OXITEST VELP SCIENTIFIC

Para evaluar la estabilidad de la grasa, tanto en su forma natural como enriquecida con aceite esencial de romero a diferentes concentraciones (50, 400, y 700 ppm), se empleó el equipo Oxitest, siguiendo las normas oficiales recomendadas por la AOCS (AOCS, 1989). Al analizar la Tabla 11, se evidencia una relación directamente proporcional entre la concentración de antioxidantes y el tiempo de conservación en días. Al comparar los resultados de vida útil a 15 °C (temperatura ambiente de Ambato) se observa que el grupo control presentó 41 días de vida útil mientras que el mejor tratamiento corresponde a la grasa con 700 ppm de aceite esencial de romero que tendrá un tiempo de vida útil de 2397 días, señalando así un rendimiento superior en términos de estabilidad en comparación a los demás tratamientos. Por lo tanto, el aceite esencial de romero emerge como un agente significativo en la gestión de la peroxidación lipídica, contribuyendo notablemente a extender la vida útil de la grasa.

Tabla 11

Tiempo de conservación de la grasa residual con la incorporación de tres concentraciones diferentes de aceite esencial de romero.

Muestra	Contenido de AE de romero ppm	Vida útil*	Vida útil**
		100 °C horas	15 °C Días
Control	0	4	41
Tratamiento 1	50	4	1655
Tratamiento 2	400	6	1957
Tratamiento 3	700	9	2397
Tratamiento X	275	6	–
Luctanox LG***	275	6,5	–

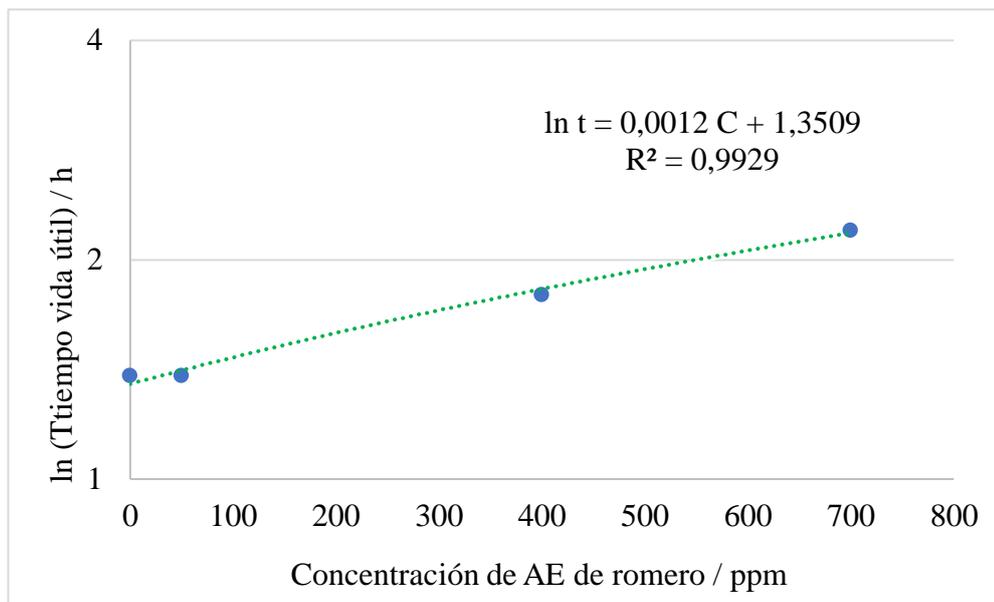
Nota. Control (grasa sin conservante), donde (*) gráficas **Anexo 1** y (**) cálculos **Anexo 1**; (***) en el **Anexo 4** análisis realizados en Rancimat.

En la Figura 5 se determina la duración estimada del Tratamiento X, calculada mediante la extrapolación matemática del periodo de inducción (**Anexo 1**) a una temperatura de (100 °C) y una concentración teórica de 275 ppm. El objetivo es comparar la estabilidad oxidativa entre el control (0 ppm), el conservante Luctanox (275 ppm) y el Tratamiento X (275 ppm) a una temperatura de 100 °C.

Al analizar la ecuación de la recta obtenida en la Figura 5, se concluye que el tiempo de vida útil para una concentración de 275 ppm de aceite esencial de romero es de 6 horas. Al comparar este valor con los datos proporcionados en la hoja técnica del conservante sintético Lutanox (**Anexo 4**), que indica un tiempo de vida útil de 6.5 horas según el ensayo Rancimat, se observa que el tiempo de vida útil del Tratamiento X es ligeramente inferior. Estos resultados sugieren que no es necesario utilizar una concentración más elevada de esencia de romero para lograr efectos de conservación similares a los del conservante comercial.

Figura 5

Concentraciones de AE de romero en relación con el tiempo de vida útil determinado en el Oxitest a 100 °C



Según **Kamal & Pokorny, (2020)** tanto los antioxidantes sintéticos como naturales son muy efectivos en la estabilización de grasas animales, sin embargo, el aumento relativo del período de inducción (vida útil) se ven afectados por el tipo de sustrato y la composición del antioxidante. En el caso de luctanox al ser una mezcla de Etoxiquín + BHT (butilhidroxitolueno) su capacidad estabilizadora disminuye a temperaturas superiores a los 100 °C, mientras que el aceite esencial de romero para incrementar su estabilidad requiere de dosis altas y no se ve afectada por la temperatura (**Chen et al., 2014; Choi et al., 2019**). Cabe señalar que investigaciones, como las realizadas por **Tinello et al., (2018)** han comparado el Rancimat y el Oxitest como métodos para evaluar la estabilidad oxidativa de un aceite donde el método Oxitest demostró ser más apropiado al detectar el valor de IP (vida útil) en un tiempo significativamente más corto en comparación con el Rancimat.

3.1.2.3 Evaluación fisicoquímica de la actividad antioxidante del aceite esencial (AE) de romero a diferentes concentraciones

Después de su caracterización inicial, las muestras fueron envasadas y almacenadas a temperatura ambiente 15 °C, durante cinco días. Posteriormente, se llevó a cabo una segunda caracterización, observándose ligeros cambios en los valores reportados para muestra inicial Tabla 8. Estos cambios se atribuyeron al manejo de las grasas y a las condiciones de almacenamiento durante mencionado tiempo. Para evaluar la actividad antioxidante de las concentraciones de 50, 400 y 700 ppm de AE de romero comercial y realizar comparaciones, se utilizó una muestra control (grasa sin conservante) y el conservante luctanox LG (500 ppm) utilizado en la curtiembre denominado Tratamiento 0. Cada tratamiento se extendió a lo largo de 90 días, excepto el tratamiento 0 el cual se evaluó al tiempo 0 y 90 días; durante los cuales se realizaron análisis periódicos de índice de acidez, peróxidos, saponificación y rancidez en los días 0, 15, 30, 60 y 90, con el fin de evaluar la calidad de las muestras como se muestras.

Los resultados obtenidos del índice de acidez, índice de peróxidos e índice de saponificación se muestran en la Tabla 12. Los valores se expresan como el promedio \pm la desviación estándar de tres determinaciones para cada tratamiento, en el caso del índice de acidez se observó un aumento gradual en la muestra control pasando de un valor de 0,504 (% como ac. Oleico) en el día 0 a 1,08 (% como ac. Oleico) en el día 90, mientras que el tratamiento 0 de un valor de 0,491(% como ac. Oleico) en el día 0 a 0,504 (% como ac. Oleico) en el día 90, y el tratamiento 3 de 0,485 (% como ac. Oleico) en el día 0 a 0,358 (% como ac. Oleico) en el día 90. Este último mostró el nivel más bajo de acidez con respecto a los tratamientos T0, T1 y T2.

Estos resultados evidencian que las concentraciones de aceite esencial de romero fueron más eficaces que el luctanox LG (conservante sintético de curtiembre) durante los 90 días de almacenamiento para prevenir la oxidación de los lípidos presentes en la grasa. No obstante, de acuerdo con la norma **CODEX (STAN 211:1999)** los valores reportados de acidez se encuentran dentro de parámetros establecidos para grasas animales ya que estos no superaron el límite máximo de 1.25 % de ácidos grasos (ffa).

Tabla 12

Resultados promedios de los análisis fisicoquímicos de la grasa y sus tratamientos

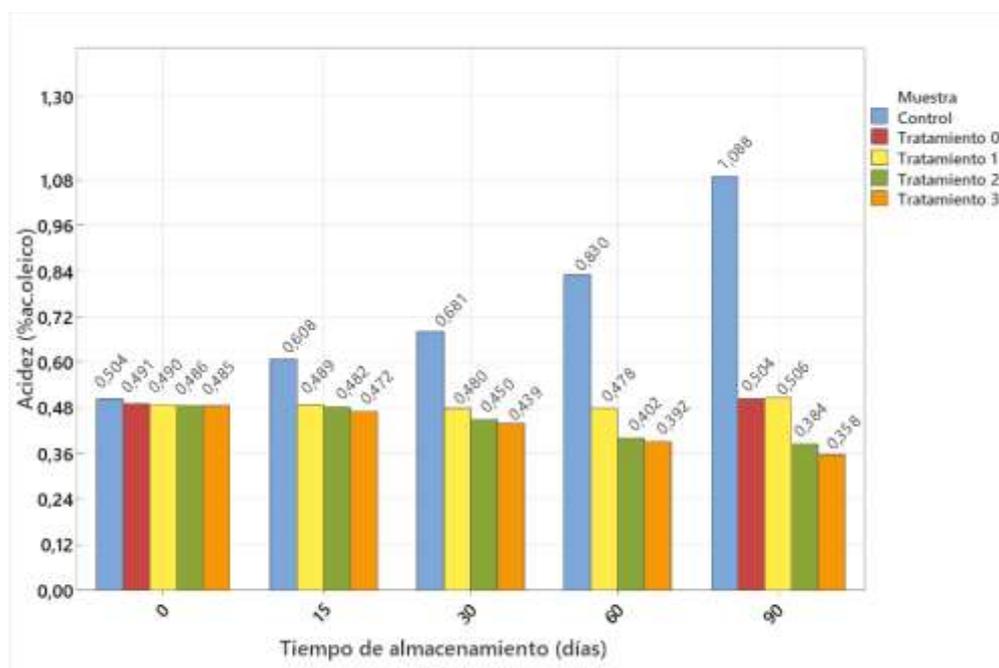
Parámetros analizados	Muestra	Tiempo de almacenamiento (días)					CODEX (STAN 211:1999)
		0	15	30	60	90	
Índice de Acidez % ác. oleico	Control	0,504	0,608	0,681	0,830	1,08	Máx 1,25 % ácidos grasos
	T 0	0,491	-	-	-	0,504	
	T1	0,490	0,489	0,480	0,478	0,506	
	T2	0,486	0,480	0,450	0,401	0,3801	
	T3	0,485	0,472	0,437	0,392	0,358	
Índice de peróxidos meqO ₂ /kg	Control	4,483	4,651	5,259	7,847	6,549	≤10 meqO ₂ /kg
	T 0	4,465	-	-	-	4,849	
	T1	4,424	4,372	4,292	4,119	4,893	
	T2	4,311	4,303	4,028	3,609	3,292	
	T3	4,320	4,020	3,694	3,397	3,102	
Índice de saponificación mg KOH/g	Control	195,125	195,953	197,008	199,033	202,937	190–202
	T 0	195,093	-	-	-	196,620	
	T1	195,070	195,093	195,020	194,287	196,053	
	T2	195,067	195,033	194,933	193,846	190,218	
	T3	195,017	195,046	194,099	190,513	185,098	

Nota. Control (grasa sin conservante), T0 (grasa + 500 ppm luctanox), T1 (grasa +50 ppm de AE de romero), T2 (grasa +400 ppm de AE de romero), T3 (grasa +700 ppm de AE de romero)

No obstante, como respaldo a lo mencionado anteriormente en la Figura 6 se esquematiza de mejor manera la evolución de capacidad antioxidante de los tratamientos estudiados. El Tratamiento 3 es más efectivo para disminuir la acidez de las muestras a lo largo de todo el ensayo. Para comprobar lo reportado en la tabla 12 se realizó un análisis de varianza ANOVA seguido de la prueba HSD Tukey al 95 % de confianza para los tres tratamientos y el control, donde se observó que los tres tratamientos no eran significativamente diferentes, sin embargo, el mejor tratamiento para disminuir la acidez correspondiente a la concentración de 700 ppm. En concordancia con la investigación de **Chen et al., (2014)**, que determinó que en concentraciones más elevadas de aceite esencial (AE) de romero, los compuestos fenólicos presentes en el mismo tienen una mayor probabilidad de donar hidrógenos a los radicales libres, fortaleciendo de manera significativa su efectividad antioxidante (**Mezza et al., 2013**).

Figura 6

Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero sobre el índice de acidez (% ácido oleico) durante el almacenamiento.



Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa + 500 ppm luctanox LG), Tratamiento 1 (grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2 (grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3 (grasa +700 ppm de AE de romero).

En relación con el índice de peróxido, se observó que la muestra control experimentó un incremento a partir del día 0 hasta el día 60 de 4,483 (meqO₂/kg) a 7,847 (meqO₂/kg), respectivamente y, seguido de una disminución en el día 90 de 6,549 (meqO₂/kg). Por otro lado, los tratamientos T0 y T1 mostraron un aumento en sus valores de índice de peróxidos al día 90, mientras que los tratamientos T2 y T3 mantuvieron una reducción gradual hasta el día 90 como se muestra en la Tabla 12.

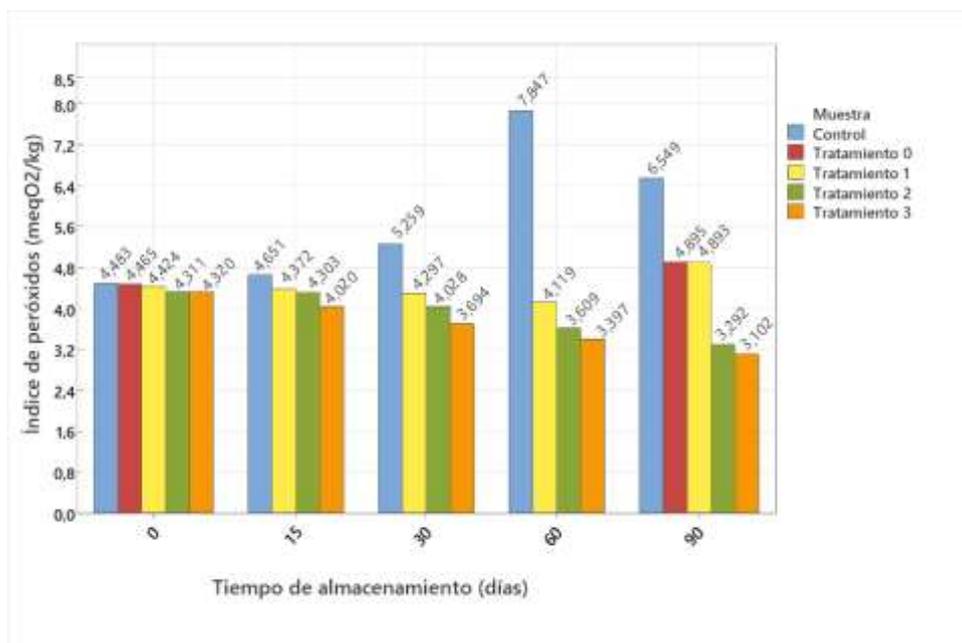
En la Figura 7 se observa de mejor manera el efecto de las concentraciones de AE de romero, el luctanox y la muestra control durante los 90 días de estudio. De acuerdo con la gráfica se observa que el control (en color celeste) presentó un incremento gradual hasta el día 60, y una disminución en el día 90. De acuerdo con los hallazgos de **Flavia & Zorica, (2013)** en su estudio la grasa almacenada tras 60 días presentó un valor de 6,8 meqO₂/kg, pero después de 90 días su valor fue de 5,9 meqO₂/kg, lo que respalda los resultados obtenidos en la muestra control. Adicionalmente, se realizó un análisis de varianza ANOVA seguido de la prueba HSD Tukey al 95 % de confianza para los tres tratamientos y el control donde se observó que los tratamientos T2 (400 ppm) y T3 (700 ppm) no eran significativamente diferentes ya que compartían la misma letra (**Anexo 2**), sin embargo, era significativamente diferente con el control. Por lo que, los resultados indican que el mejor tratamiento para evitar la peroxidación se pueda dar con las dos concentraciones.

De acuerdo con **Chen et al., (2014)**, los cambios oxidativos en las grasas animales surgen cuando el oxígeno del aire reacciona con los dobles enlaces de los ácidos grasos, dando lugar a la formación de compuestos que, al descomponerse originan otros. Este proceso puede generar radicales libres que dan lugar a olores y sabores desagradables, fenómeno conocido como rancidez (**Zamuz et al., 2022**)

Por otro lado, los tratamientos T1 (en color amarillo), T2 (en color verde) y T3 (en color anaranjado) presentaron una disminución en su valor de índice de peróxidos, esto se debe a que los componente presentes en el aceite esencial (AE) de romero actúan en la estabilización de radicales libres ya que sus estructuras contienen un grupo hidroxilo (-OH), de tal forma que transfieren un átomo de hidrógeno del grupo OH al radical libre, lo que mejora la estabilidad del aceite (Aleu et al., 2018).

Figura 7

Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero sobre los valores del índice de peróxidos (meqO₂/kg) durante el almacenamiento.



Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +500ppm luctanox), Tratamiento 1 (grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2 (grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3 (grasa +700 ppm de AE de romero)

En cuanto al índice de saponificación, se observa que la muestra control aumenta progresivamente desde el día 0 cuyo valor es de 195,125 mg KOH/g a 202,937 mg KOH/g en el día 90. En cuanto al tratamiento 0 se observó un leve aumento de 195,093

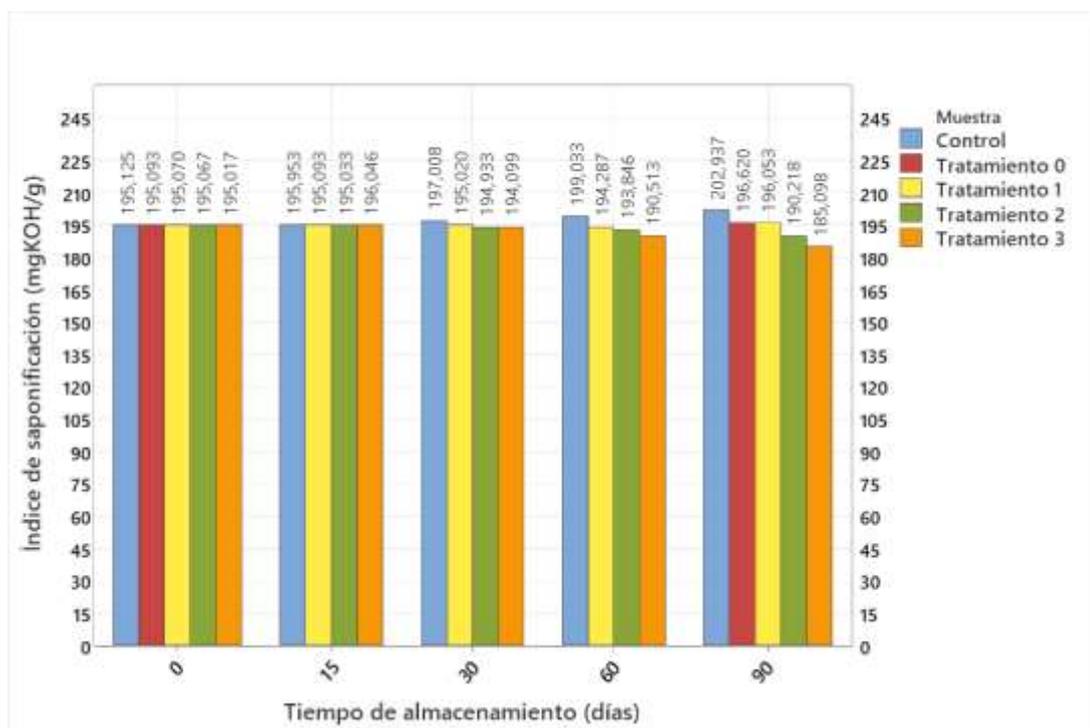
mg KOH/g en día 0 a 196,620 mg KOH/g en el día 90, mientras que los tratamientos 2 y 3 presentaron una disminución significativa en el día 90 con valores finales de 190,218 mg KOH/g y 185,098 mg KOH/g, respectivamente. Por lo que, se asume que los tratamientos T0 y T1 fueron los mejores para mantener un índice de saponificación similar a la inicial. Según los resultados del análisis de Tukey, se concluye que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos 1, 2 y 3. Asimismo, el control es estadísticamente equivalente al tratamiento 1 y al tratamiento 2. Sin embargo, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre el control y el tratamiento 3 (**Anexo 2**).

En la figura 8 se muestra el efecto de las concentraciones de aceite esencial de romero sobre los valores del índice de saponificación (mgKOH/g) entre los 0 a 90 días de almacenamiento. Inicialmente no hubo diferencia significativa ($p \geq 0,05$) entre la muestra control (en color celeste) y los tratamientos T0, T1, T2 y T3. No obstante, al día 90 de almacenamiento, se observó un aumento de los índices de saponificación para la muestra control en comparación con los tratamientos. Según el **Codex Stan 211-1999** los índices de saponificación aceptables se encuentran entre 190-202 mg/KOH para grasas animales, por lo tanto, el control y el tratamiento 3 superan los límites máximos y mínimos Tabla 12. Mientras que el tratamiento T0, T1 y T2 se encuentran dentro límites establecidos.

Según **Badrul & Jaafar, (2021)** mencionan que la oxidación y la hidrólisis son procesos que inducen la descomposición de los lípidos, generando aldehídos y cetonas, estos últimos pueden potencialmente contribuir al aumento del índice de saponificación como fue el caso de la muestra control. Por otro lado, un valor bajo de saponificación indica la presencia de ácidos grasos de cadena larga y cuyo valor de saponificación se encuentra entre el 165-195 mgKOH/g en comparación con los ácidos grasos de cadena corta (**Bragança et al., 2013; Cunha et al., 2020**)

Figura 8

Efecto de las concentraciones de aceite esencial de romero sobre los valores del índice de saponificación (mgKOH/g) durante el almacenamiento.



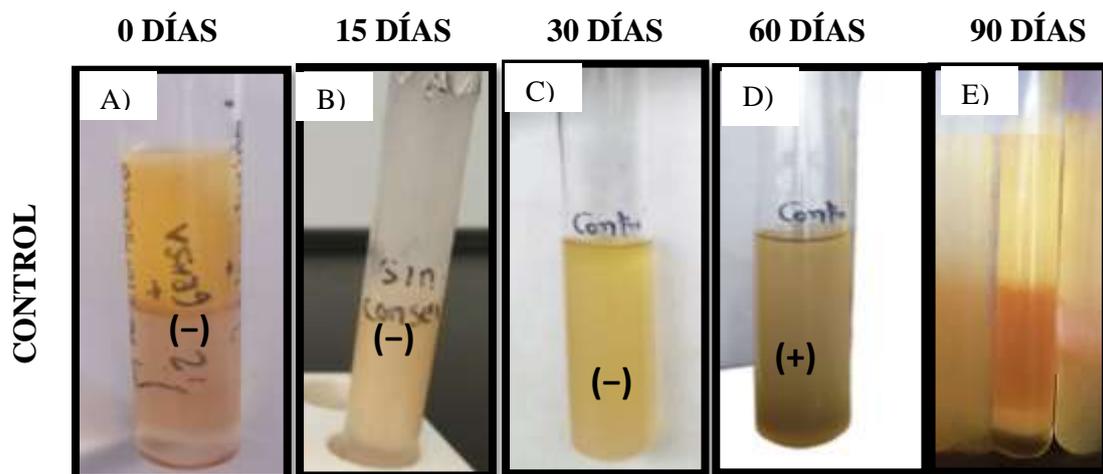
Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +500 ppm luctanox LG), Tratamiento 1 (grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2 (grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3 (grasa +700 ppm de AE de romero)

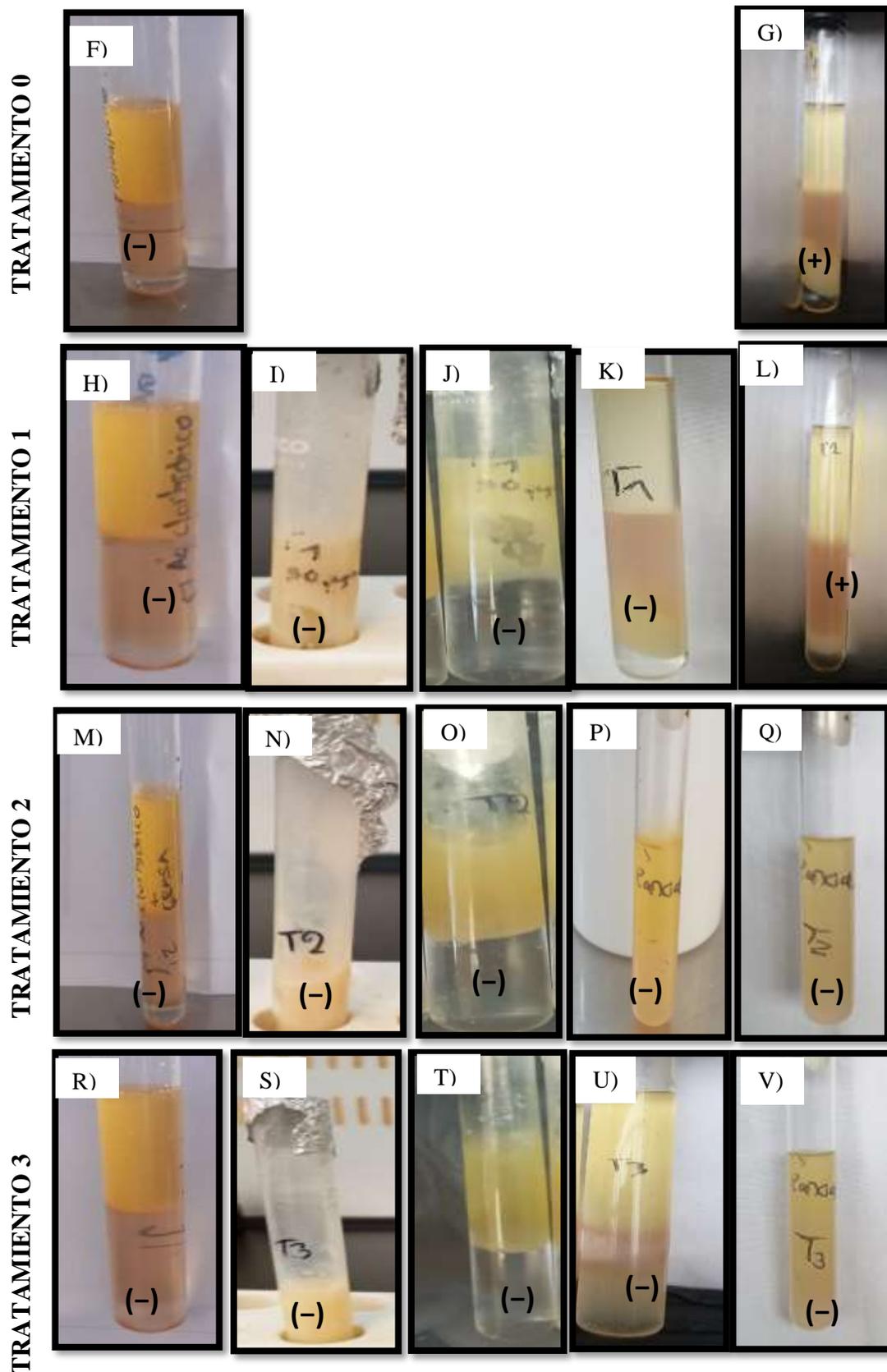
Para determinar el deterioro en la muestra control y los tratamientos durante 90 días de almacenamiento se empleó el método de coloración roja que, en presencia de fluroglucinol, forman ciertos derivados aldehídicos presentes en las grasas rancias (INEN, 1973c). En la figura 9 se observa que la muestra control (Figura 9 E), el tratamiento 0 (Figura 9G) y el tratamiento 1 (Figura 9L) a los 90 días presentaron un resultado positivo a la rancidez, pasado de un color amarillo propio de las grasas a un color rojo indicador de rancidez. En cuanto a los tratamientos 2 (Figura 9 Q) y 3 (Figura 9 V) presentaron una coloración rosa en la capa ácida lo que indica negativo a rancidez manteniendo una calidad aceptable de la grasa posterior a los 90 días de conservación.

La adición del AE de romero en la grasa bovina mostró un efecto positivo hasta el día 60 de conservación, sin embargo, en concentraciones altas su efecto fue mayor esto se evidencia con los tratamientos T2 y T3 a 400 y 700 ppm. Estos hechos sugieren que a altas concentraciones de AE de romero previenen la oxidación secundaria siendo más eficaz que el antioxidante sintético luctanox LG que a los 90 días de almacenamiento presentó una coloración rojiza positiva a rancidez. La rancidez es la oxidación (descomposición) principalmente de ácidos grasos insaturados que resulta en sabores y olores desagradables en grasas y aceites (Sahin, 2019) . Este proceso ocurre lentamente y de manera espontánea, y puede acelerarse por la luz, el calor y ciertos minerales, sin embargo, puede prevenirse mediante un almacenamiento adecuado y/o la adición de antioxidantes (Moslavac et al., 2019).

Figura 9

Efecto de las concentraciones del aceite esencial de romero en la grasa durante el almacenamiento.





Nota. Ensayo de rancidez; la simbología utilizada indica (+) positivo a rancidez; (-) negativo a rancidez. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +500 ppm luctanox LG), Tratamiento 1 (grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2 (grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3 (grasa +700 ppm de AE de romero)

3.1.3 Evaluación del crecimiento microbiano en las muestras con y sin antioxidantes, aplicando criterios específicos conforme a las normativas nacionales e internacionales

La contaminación microbiana en las grasas puede ocasionar diversos problemas, incluidos la rancidez, los sabores indeseados y posibles riesgos para la salud. En consecuencia, el uso de antioxidantes se vuelve esencial para mitigar estos riesgos y prolongar la vida útil de las grasas animales (**Ojeda et al., 2013**). Los resultados del recuento de enterobacterias UFC/g en la grasa, evaluados en los cuatro tiempos 0, 30, 60 y 90 días (Tabla 14); mostraron que tanto el grupo control como los tratamientos T0, T1, T2 y T3 no reflejaron diferencias significativas; por tanto, se mantienen dentro de los límites establecidos. De forma similar, los resultados de detección de *salmonella* A-P/25g no mostraron diferencia significativa a los 0, 30, 60 y 90 días de almacenamiento (Tabla 15). Estos hallazgos respaldan el proceso de inocuidad de la grasa durante la conservación y confirman que la concentración de enterobacterias y *salmonella* se encuentra dentro de los límites máximo permisible por la norma INEN.

Este hallazgo es congruente con investigaciones anteriores que sugieren que la aplicación de antioxidantes en grasas animales puede contribuir a preservar su calidad microbiológica durante el almacenamiento prolongado (**Badrul & Jaafar, 2021; Ojeda et al., 2013; Viuda et al., 2010**). Asimismo, **Chen et al. (2014)** han señalado que los antioxidantes presentes en el aceite esencial de romero pueden tener un efecto inhibitorio sobre el crecimiento microbiano, lo que respalda la estabilidad microbiológica observada. Específicamente, se han identificado compuestos como alcafor, Alfa Pineno y varios flavonoides como los principales responsables de las propiedades citotóxicas (**Burns et al., 2015; Molitor et al., 2021**).

El impacto de los componentes presentes en el aceite esencia (AE) de romero en la membrana celular de las bacterias se traduce en una actividad citotóxica que afecta de

manera directa la fase mitótica tanto de las bacterias Gram positivas como de las Gram negativas. Este fenómeno ha sido especialmente evidente en microorganismos clave como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.* y *S. aureus*, según lo informado por (Choi et al., 2019; Molitor et al., 2021)

Tabla 14

Resultados del recuento de enterobacterias UFC/10g correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento.

Tiempo (días)	TRATAMIENTOS				
	Control	Tratamiento 0	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
0	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
30	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
60	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +luctanox), Tratamiento 1(grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2(grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3(grasa +700 ppm de AE de romero)

Tabla 15

Resultados de la detección de Salmonella Ausencia/Presencia en 25 g de muestra correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento.

Tiempo (días)	TRATAMIENTOS				
	Control	Tratamiento 0	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
30	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
60	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
90	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +500ppm luctanox), Tratamiento 1(grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2(grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3 (grasa +700 ppm de AE de romero)

En la determinación de hongos y levaduras en los cuatro tiempos de evaluación, el grupo control y los tratamientos T0 (grasa + 500ppm luctanox), T1 (50 ppm), T2 (400 ppm) y T3 (700 ppm) presentaron un aumento en los recuentos durante el almacenamiento, pero no más allá del rango estándar (Tabla 16). La variabilidad en la eficacia de los antioxidantes tanto natural (AE de romero) como sintético (Luctanox LG) podría deberse a factores como la concentración del antioxidante, la composición inicial de la grasa y las condiciones de almacenamiento.

Según **Bart, (2007)** informa que la actividad antimicrobiana o antifúngica de la mayoría de los aceites esenciales podría estar causada por las propiedades de los terpenos/terpenoides, que, por su naturaleza altamente lipófila y bajo peso molecular, son capaces de alterar la membrana celular, provocar la muerte celular o inhibir la esporulación y germinación de hongos que deterioran los alimentos. En el caso del AE de romero la actividad antifúngica se le confiere a los monoterpenos, especialmente el alfa-pineno

Por el contrario, **Ojeda et al., 2013** señalan que, aunque los antioxidantes pueden desempeñar un papel fundamental en la inhibición del crecimiento microbiano, no siempre logran eliminar completamente la proliferación de hongos y levaduras, especialmente en condiciones de almacenamiento prolongado.

Tabla 16

Resultados del recuento de hongos y levaduras UFC/10g correspondiente a los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento.

Tiempo (días)	TRATAMIENTOS				
	Control	Tratamiento 0	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
0	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

30	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
60	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
90	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10

Nota. Control (grasa sin conservante), Tratamiento 0 (grasa +luctanox), Tratamiento 1(grasa +50 ppm de AE de romero), Tratamiento 2(grasa +400 ppm de AE de romero), Tratamiento 3(grasa +700 ppm de AE de romero)

3.2 Análisis de factibilidad económica

El análisis de costos-beneficio se evaluó del mejor tratamiento correspondiente a la concentración de 700 ppm de aceite esencial de romero y el tratamiento con luctanox LG 500 ppm conservante utilizado en la curtiembre. Los resultados mostraron que cada miligramo de aceite esencial de romero tiene un costo unitario de 0,001 dólares y un valor total de 15 dólares mientras que cada miligramo de luctanox LG tiene un costo unitario de 0,00044 dólares y un valor total de 11 dólares. Para obtener el costo de los dos tipos de antioxidante evaluadas se partió de una base de 1kg de grasa (**Anexo 5**); cuyos valores fueron de 0,70 para la concentración de 700 ppm de aceite esencial de romero y 0,22 dólares para el luctanox LG 500 ppm estos resultados se muestran en la Tabla 17.

En consecuencia, se observa que el Luctanox LG a una concentración de 500 ppm resulta más económico, sin embargo, su eficiencia para conservar la grasa por periodos largos de tiempo es muy baja con respecto al aceite esencial de romero. De acuerdo con la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (**EFSA, 2021**), los antioxidante sintéticos y sus mezclas destinado para piensos o alimentación animal no deben superar la dosis máxima es de 150 ppm, solos en combinaciones mientras que los extractos de romero (E 392) está actualmente autorizado como aditivo alimentario con dosis máxima de 5000 ppm en una amplia variedad de categorías de alimentos (**Bampidis et al., 2022b; UNIÓN EUROPEA, 2005**). En el enfoque de rentabilidad, el aceite esencial de romero mejora significativamente la calidad de la grasa a largo

plazo, esto podría resultar de gran interés para las curtiembres y una posición más fuerte en el mercado de los antioxidantes naturales para alimentos de consumo animal.

Tabla 17

Análisis de costos de los antioxidantes Luctanox LG y aceite esencial(AE) de romero

Antioxidante	Cantidad adquirida (mg)	Valor Unitario \$/mg	Valor Total \$	Costo de la concentración evaluada (\$)	
				700 ppm	500 ppm
AE de Romero	15000	0,001	15	0,70	–
Luctanox LG	25000	0,00044	11	–	0,22

Nota. (¢) centavos

3.3 Verificación de hipótesis

En base a los resultados obtenidos en el presente proyecto de investigación, se acepta la hipótesis alternativa; ya que, el proceso de conservación utilizando un extracto de romero comercial en la grasa proveniente de los residuos de carnaza de una curtiembre en Ambato, si presenta límites significativos de degradación en comparación al método de conservación convencional.

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se caracterizó la grasa obtenida de la carnaza residual cuyos valores promedio incluyen 0.24 % de humedad, 0.36 % ácido oleico índice de acidez, 2.90 meqO₂/kg índice de peróxidos y 195. 12 mgKOH/g índice de saponificación, en la cual, todos los valores se establecieron dentro de las normas NTE INEN 1313:2012 requisitos para mantecas comestibles de producción industrial, proveniente de grasas animales.
- Se evaluó la eficacia de las concentraciones del aceite esencial de romero a diferentes condiciones de estabilidad oxidativa en el equipo Oxitest. La muestra de grasa enriquecidas con 700 ppm de aceite esencial (AE) de romero presentó el mejor tiempo de vida útil con 2397 días, lo que sugiere que las concentraciones altas de AE romero son más eficaces para prevenir la degradación de la grasa en condiciones de almacenamiento. A 100 °C y a 275 ppm de los dos tipos de antioxidantes, el mejor tiempo de vida útil fue del luctanox LG con 6, 5 horas mediante el método de Rancimat.
- En cuanto a la evaluación fisicoquímica se demostró que la concentración de 700 ppm (T3) de aceite esencial (AE) de romero causaban el efecto antioxidante más potente con valores de 0,358 % acidez, 3,102 meqO₂/kg peróxidos, 185,098 mgKOH/g saponificación en comparación con la capacidad antioxidante de luctanox LG con valores de con valores de 0,504 % acidez, 4,849 meqO₂/kg peróxidos, 196,620 mgKOH/g saponificación tras 90 días de almacenamiento a temperatura ambiente (15°C).

- En base al análisis costos-beneficios entre el aceite esencial de romero y el conservante Luctanox LG, se observó que, el Luctanox LG a una concentración de 500 ppm presenta un costo de 0,22 USD frente a los 0,70 USD del aceite esencial de romero en el proceso de conservación de la grasa durante 90 días de almacenamiento. Aunque, el costo del AE de romero es mayor su capacidad para preservar la grasa en periodos largos de tiempo es una alternativa natural y viable para las curtiembres, ofreciendo beneficios que podrían mejorar la calidad del producto final y además, situarse en el mercado de los antioxidantes naturales.
- Los resultados del control microbiológico UFC/g en la grasa, evaluados en los cuatro tiempos 0, 30, 60 y 90 días mostraron la eficacia antibacteriana y antifúngica del aceite esencial (AE) de romero. Los niveles de enterobacterias (UFC/g), *salmonella* (Ausencia-Presencia/25g), hongos y levaduras (UFC/g) se mantuvieron dentro de límites aceptables de acuerdo con la norma NTE INEN 1313:2012 requisitos para mantecas comestibles de producción industrial, proveniente de grasas animales.

4.2 Recomendaciones

- Se sugiere extender el periodo de almacenamiento para evaluar de manera más completa la estabilidad y la posible formación de productos de oxidación, simulando escenarios del mundo real para confirmar su idoneidad para condiciones de almacenamiento prolongado.
- Considerando la complejidad de las grasas residuales de curtiembres, se sugiere avanzar hacia la implementación de modelos cinéticos que aborden de manera integral la relación estructura-actividad de los antioxidantes.
- En cuanto a los costos-beneficios, se recomienda realizar un análisis económico más detallado considerando la cantidad requerida para la producción en gran escala.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abril, I. (2018). *Análisis de la Cadena Productiva del Sector Industrial de Cuero y sus efectos en la producción de Calzado en la provincia de Tungurahua*.
- Afaf, E., & Jan, P. (2020). Antioxidants in Food Preservation. In *Handbook of Food Preservation* (pp. 299–322). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429091483-22>
- Aguiar, G., Das Graças, M., Rodrigues, A., Lee, N., & Mendes, E. (2023). Essential Oil and Plant Extracts as Preservatives and Natural Antioxidants Applied to Meat and Meat Products: A Review. In *Food Technology and Biotechnology* (Vol. 61, Issue 2). University of Zagreb. <https://doi.org/10.17113/ftb.61.02.23.7883>
- Aleu, G., Rosmini, M., Sequeira, G., Zogbi, A., Vico, J., Saavedra, S., & Sanchez, I. (2018). *Guía para el aseguramiento de la calidad en industrias de alimentos de origen animal* (1a ed). https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/151117/CONICET_Digital_Nro.88d55991-65b5-443a-a272-7610389f904d_X.pdf?sequence=8&isAllowed=y
- AOAC. (2016). Determination of the total fat content in dry animal feed. Official Methods of Analysis . <https://www.aoac.org/scientific-solutions/standards-andofficial-methods/>
- Bampidis, V., Azimonti, G., Bastos, M. de L., Christensen, H., Fašmon Durjava, M., Kouba, M., López-Alonso, M., López Puente, S., Marcon, F., Mayo, B., Pechová, A., Petkova, M., Ramos, F., Sanz, Y., Villa, R. E., Woutersen, R., Brantom, P., Chesson, A., Westendorf, J., ... Dusemund, B. (2022b). Safety and efficacy of two solvent extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) when used as feed additive for cats and dogs (Kemin Nutrisurance Europe SRL). *EFSA Journal*, 20(1), e06978. <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2022.6978>
- Bart, S. (2007). *Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food*. Utrecht University.
- Bragança, I., Crispim, A., Sampaio, A., Ramalho, E., Crispim, F., Caetano, N. S., & Silva, P. C. (2013). Añadiendo valor a las pulpas de curtiduría: Parte I - Aceites e hidrolizados de proteínas - Producción y aplicación. *Revista de La Sociedad de Tecnólogos y Químicos Del Cuero*, 97(2), 62–67.

- Bondioli, P., Carelli, G. P., & Grosso, M. (2019). *Animal fats for non-food uses. A review of technology and critical points*. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 96(1), 5-15.
- Booramurthy, V. K., Kasimani, R., & Pandian, S. (2022). Biodiesel Production from Tannery Waste using a Nano Catalyst (Ferric-Manganese Doped Sulphated Zirconia). *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 44(1), 1092–1104. <https://doi.org/10.1080/15567036.2019.1639849>
- Burns, A. M., Lawlor, P. G., Gardiner, G. E., McCabe, E. M., Walsh, D., Mohammed, M., Grant, J., & Duffy, G. (2015). Salmonella occurrence and Enterobacteriaceae counts in pig feed ingredients and compound feed from feed mills in Ireland. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(3–4), 231–239. <https://doi.org/10.1016/J.PREVETMED.2015.07.002>
- Centinguil, I., & Yardimci, M. (2008). *The importance of fats in farm animal nutrition*. *Kocatepe Veterinary Journal*, 1(1).
- Chen, X., Zhang, Y., Zu, Y., Yang, L., Lu, Q., & Wang, W. (2014). Antioxidant effects of rosemary extracts on sunflower oil compared with synthetic antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 385–391. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12311>
- Choi, S. H., Jang, G. W., Choi, S. Il, Jung, T. D., Cho, B. Y., Sim, W. S., Han, X., Lee, J. S., Kim, D. Y., Kim, D. B., & Lee, O. H. (2019). Development and validation of an analytical method for carnosol, carnosic acid and rosmarinic acid in food matrices and evaluation of the antioxidant activity of rosemary extract as a food additive. *Antioxidants*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/antiox8030076>
- Codex Alimentarius. (1999). *Normas del codex para grasas animales especificadas*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B211-1999%252FCXS_211s.pdf
- Constantinescu, R., Zăinescu, G., & Bostaca, G. (2018). Biotechnology for obtaining a retanning agent from fleshings. *ICAMS Proceedings of the International Conference on Advanced Materials and Systems*, 497–501. <https://doi.org/10.24264/icams-2018.X.1>

- Corporación de desarrollo de Ambato y Tungurahua. (2022). *Programa integral para la reactivación económica del sector cuero y calzado de Tungurahua, encadenamiento productivo y comercial desde del enfoque de la innovación de Ambato y Tungurahua.*
- Cunha, A. F., Caetano, N. S., Ramalho, E., & Crispim, A. (2020). Fat extraction from fleshings - optimization of operating conditions. *Energy Reports*, 6, 381–390. <https://doi.org/10.1016/j.egy.2020.11.176>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. In *Antioxidants* (Vol. 8, Issue 10). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- dōTERRA. (Octubre de 2023). Aceite esencial de romero *Rosmarinus officinalis*. dōTERRA Ecuador C. LTDA. Obtenido de https://www.doterra.com/EC/es_EC/p/rosemary-oil
- Etemadian, Y., Ghaemi, V., Shaviklo, A. R., Pourashouri, P., Sadeghi Mahoonak, A. R., & Rafipour, F. (2021). Development of animal/ plant-based protein hydrolysate and its application in food, feed and nutraceutical industries: State of the art. *Journal of Cleaner Production*, 278, 123219. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.123219>
- UNIÓN EUROPEA. (2005). *Evaluation Report of the Community Reference Laboratory Feed Additives Authorisation on the Method(s) of Analysis for Rosemary extract liquid.* <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2022.6978>
- Flavia, P., & Zorica, V. (2013). Changes in the quality of alimentary animal fats due to storage conditions . *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19(1), 37-42.
- Flores, N., & Brito, H. (2023). Exploring Tannery Solid Wastes as a Source of Animal Feed. *Processes*, 11(10), 2965. <https://doi.org/10.3390/pr11102965>
- Gan, J., Zhao, M., He, Z., Sun, L., Li, X., & Feng, Y. (2022). The Effects of Antioxidants and Packaging Methods on Inhibiting Lipid Oxidation in Deep Fried Crickets (*Gryllus bimaculatus*) during Storage. *Foods*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/foods11030326>

- García, V. A., Marín, N., Roa, D. F., Agudelo, L. M., Botero, L., & Lellesch, L. M. (2022). *Characterization of By-products with High Fat Content Derived from the Production of Bovine Gelatin*. 11, 1575. <https://doi.org/10.12688/f1000research.128622.1>
- Giriprasad, H., & Goswami, M. (2013). Animal fat-Processing and Its Quality Control. *Journal of Food Processing & Technology*, 04(08). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000252>
- Gobierno Provincial de Tungurahua. (2017). *Agenda TUNGURAHUA desde la visión territorial*. <https://www.tungurahua.gob.ec/images/archivos/transparencia/2017/AgendaTerritorialTungurahua2016.pdf>
- González, N. (2013). *Extracción y caracterización de los antioxidantes secundarios del romero (Rosmarinus officinalis L.) para promover la obtención y la aplicación de antioxidantes naturales sobre grasas y aceites*. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/37945>
- Hidalgo, L. E. R., Rogel, C. J. V., & Bermeo, S. M. B. (2019). Characterization of Sacha inchi seed oil (*Plukenetia volubilis*) from 'Canton San Vicente, Manabí, Ecuador', obtained by non-thermal extrusion processes. *Granja*, 30(2), 70–79. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.07>
- INEN 1313. (2012). *Mantecas comestibles. requisitos*. <https://www.fao.org/faolex/results/details/es/c/LEX-FAOC019188/>
- 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. 1–6). <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. (2009). *Determinación de la humedad en alimentos* (pp. 1–6). https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/nte_inen_49_1.pdf

- Jiang, H., Liu, J., & Han, W. (2016). The status and developments of leather solid waste treatment: A mini-review. In *Waste Management and Research* (Vol. 34, Issue 5, pp. 399–408). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/0734242X16633772>
- Kamal, A., & Pokorny, J. (2020). Antioxidants in Food Preservation. In *Handbook of Food Preservation* (pp. 299–322). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429091483-22>
- Kleinberg, M. N., Rios, M. A. S., Buarque, H. L. B., Parente, M. M. V., Cavalcante, C. L., & Luna, F. M. T. (2019a). Influence of Synthetic and Natural Antioxidants on the Oxidation Stability of Beef Tallow Before Biodiesel Production. *Waste and Biomass Valorization*, 10(4), 797–803. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0120-x>
- Kleinberg, M. N., Rios, M. A. S., Buarque, H. L. B., Parente, M. M. V., Cavalcante, C. L., & Luna, F. M. T. (2019b). Influence of Synthetic and Natural Antioxidants on the Oxidation Stability of Beef Tallow Before Biodiesel Production. *Waste and Biomass Valorization*, 10(4), 797–803. <https://doi.org/10.1007/S12649-017-0120-X>
- Mcmurry, J. (2008). *QUÍMICA ORGÁNICA: Vol. 7a. edición* (S. Cervantes, Ed.; 7a.edición).
- Mezza, G. N., Borgarello, A. V., Daguero, J. D., & Pramparo, M. C. (2013). Obtention of rosemary essential oil concentrates by molecular distillation and free radical scavenging capacity analysis. *International Journal of Food Engineering*, 9(2), 147–153. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2013-0013>
- Ministerio del Ambiente. (2021). *Programa Nacional para la Gestión de Desechos Sólidos*. <https://www.ambiente.gob.ec/programa-pngidsecuador/#:~:text=El%20PNGIDS%20pretende%20incidir%20en,manejo%20de%20los%20desechos%20s%C3%B3lidos.>
- Molitor, A., Yucel, U., Vipham, J., Jones, C., & Trinetta, V. (2021). Effects of moisture and temperature on Salmonella survivability in beef tallow, white grease, and chicken rendered fat. *Translational Animal Science*, 5(3). <https://doi.org/10.1093/TAS/TXAB110>

- Moslavac, T., Jokic, S., Subaric, D., Babic, J., Jozinovi, A., Grgic, S., & Margan, A. (2019). *Influencia de los antioxidantes añadidos sobre la estabilidad oxidativa de la grasa de res*. MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu, 21(1.), 52-61.
- Mozhiarasi, V., Thillai, ., Natarajan, S., & Natarajan, T. S. (2022). Slaughterhouse and poultry wastes: management practices, feedstocks for renewable energy production, and recovery of value added products. *Biomass Conversion and Biorefinery 2022, 1*, 1–24. <https://doi.org/10.1007/S13399-022-02352-0>
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, 5(3), 98. <https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
- Ojeda, A. M., van Baren, C. M., Elechosa, M. A., Juárez, M. A., & Moreno, S. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control*, 31(1), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.022>
- Parada, M., Carreras, F., & Flores, B. (2018). *Obtención de un tensoactivo a partir del proceso de recuperación de sebo de la industria de curtiembre*. *Perfiles*, 2 (20), 33-39.
- Priebe, G., & Gutterres, M. (2012). *Producción de oleína a partir de residuos previos al descarnado de pieles en curtiembres*. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0327-07932012000100012&script=sci_arttext&tlng=es
- Priebe, G. P. S., & Gutterres, M. (2012). OLEIN PRODUCTION FROM PRE-FLESHING RESIDUES OF HIDES IN TANNERIES. In *Latin American Applied Research* (Vol. 42).
- Puhazhselvan, P., Aparna, R., Ayyadurai, N., Gowthaman, M. K., Saravanan, P., & Kamini, N. R. (2017). Enzyme based cleaner process for enhanced recovery of lipids from tannery fleshing waste. *Journal of Cleaner Production*, 144, 187–191. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2016.12.148>
- Puhazhselvan, P., Pandi, A., Sujiritha, P. B., Antony, G. S., Jaisankar, S. N., Ayyadurai, N., Saravanan, P., & Kamini, N. R. (2022). Recycling of tannery

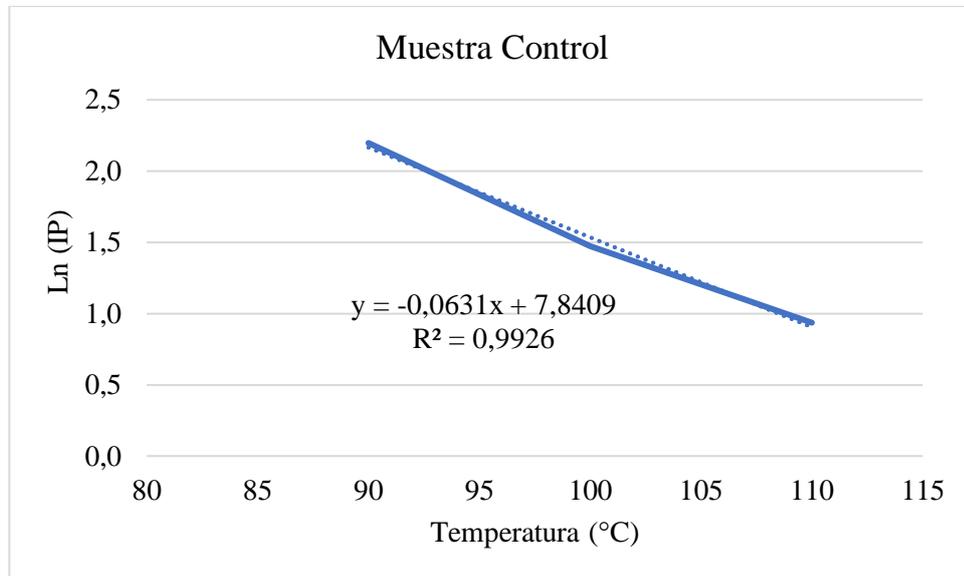
- fleshing waste by a two step process for preparation of retanning agent. *Process Safety and Environmental Protection*, 157, 59–67. <https://doi.org/10.1016/J.PSEP.2021.11.003>
- Qi, Y., Huang, Y., Dong, Y., Zhang, W., Xia, F., Bai, H., Stevanovic, Z. D., Li, H., & Shi, L. (2023). Effective Improvement of the Oxidative Stability of Acer truncatum Bunge Seed Oil, a New Woody Oil Food Resource, by Rosemary Extract. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/antiox12040889>
- Ruiz Mora, F. E. (2022). *Extracción, caracterización e índice de estabilidad del aceite de ajonjolí (Sesamum indicum L.) a diferentes condiciones de inhibición oxidativa (Master's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ingeniería en Sistemas, Electrónica e Industrial. Maestría en Química)*.
- Sandhya, K. V., Abinandan, S., Vedaraman, N., & Velappan, K. C. (2016). Extraction of fleshing oil from waste limed fleshings and biodiesel production. *Waste Management*, 48, 638–643. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.09.033>
- Sahin, S. (2019). Evaluation of Stability against Oxidation in Edible Fats and Oils. *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 02(03). <https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-11000027>
- Shahidi, F., & Hossain, A. (2022). Role of Lipids in Food Flavor Generation. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 15). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27155014>
- Symoniuk, E., Wroniak, M., Napiórkowska, K., Brzezińska, R., & Ratusz, K. (2022). Oxidative Stability and Antioxidant Activity of Selected Cold-Pressed Oils and Oils Mixtures. *Foods* 2022, Vol. 11, Page 1597, 11(11), 1597. <https://doi.org/10.3390/FOODS11111597>
- Tinello, F., Lante, A., Bernardi, M., Cappiello, F., Galgano, F., Caruso, M. C., & Favati, F. (2018). Comparison of OXITEST and RANCIMAT methods to evaluate the oxidative stability in frying oils. *European Food Research and Technology*, 244(4), 747–755. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2995-y>
- TULSMA. (2017). *Texto unificado de legislación secundaria de medio ambiente*. www.lexis.com.ec

- Verma, S. K., & Sharma, P. C. (2023). Current trends in solid tannery waste management. *Critical Reviews in Biotechnology*, 43(5), 805–822. <https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2068996>
- Viguera, B. (2016). *Estudio del efecto de extracto de romero en la estabilidad oxidativa en patatas fritas mediante Rancimat*.
- Vinicius, C., Rigueto, T., Rosseto, M., Dal, D., Krein, C., Elisangela, B., Ostwald, P., Avila Massuda, L., Zanella, B. B., & Dettmer, A. (2020). Alternative uses for tannery wastes: a review of environmental, sustainability, and science. *Leather Science and Engineering*, 1–20. <https://doi.org/10.1186/s42825-020-00034-z>
- Viuda, M., Navajas, Y., Zapata, E., Fernández, J., & Pérez, J. (2010). *Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet*. 25, 13–19. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Younes, M., Aggett, P., Aguilar, F., Crebelli, R., Dusemund, B., Filipič, M., Frutos, M. J., Galtier, P., Gott, D., Gundert-Remy, U., Kuhnle, G. G., Lambré, C., Lillegaard, I. T., Moldeus, P., Mortensen, A., Oskarsson, A., Stankovic, I., Waalkens-Berendsen, I., Woutersen, R. A., ... Leblanc, J. C. (2018). Refined exposure assessment of extracts of rosemary (E 392) from its use as food additive. *EFSA Journal*, 16(8). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2018.5373>
- Zamuz, S., Bohrer, B. M., Campagnol, P. C. B., Domínguez, R., Pateiro, M., Santos, E. M., & Lorenzo, J. M. (2022). Lipid oxidation of animal fat. In *Food Lipids* (pp. 89–103). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823371-9.00002-2>

ANEXOS

Anexo 1. Determinación del tiempo de vida útil a partir de los resultados del análisis en Oxitest

Anexo 1.1 *Curvas de extrapolación para determinar el tiempo de vida útil de la grasa obtenida de la carnaza residual sin conservante (Control).*



Cálculo del tiempo de conservación de la grasa obtenida de la carnaza residual sin conservante.

Ecuación de la recta

$$y = mx + c$$

Donde:

y=Logaritmo natural del periodo de inducción (Ln(IP))

m= pendiente de la recta

x= Temperatura ambiente promedio de Ambato (15°)

c= Ordenada de origen

$$y = -0,0631x + 7,8409$$

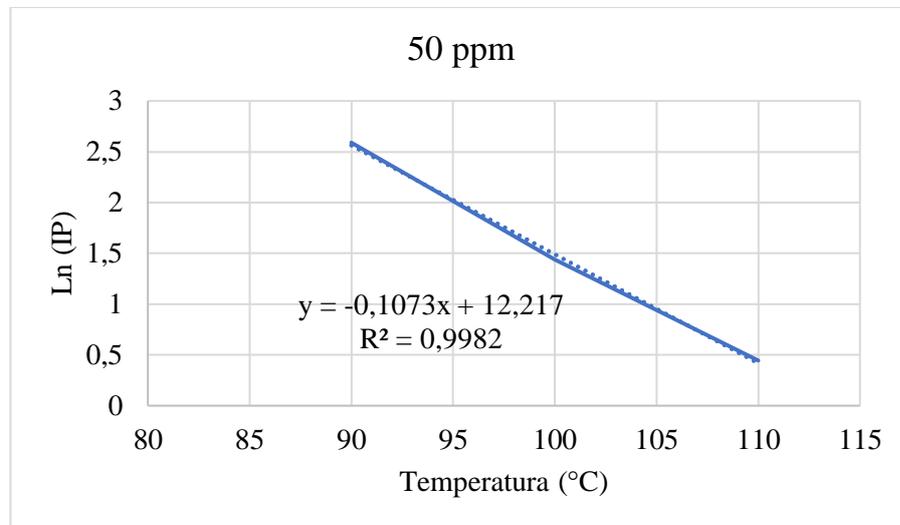
$$y = (-0,0631 * 15^\circ) + 7,8409$$

$$y = 6,894$$

$$\text{EXP } 6,894 = 986,733 \text{ horas}$$

vida útil= 41 días

Anexo 1.2 *Curvas de extrapolación para determinar el tiempo de vida útil de la grasa obtenida de la carnaza residual con 50 ppm de extracto de romero*



Cálculo del tiempo de conservación de la grasa obtenida de la carnaza residual con 50 ppm de extracto de romero.

$$y = -0,108x + 12,21$$

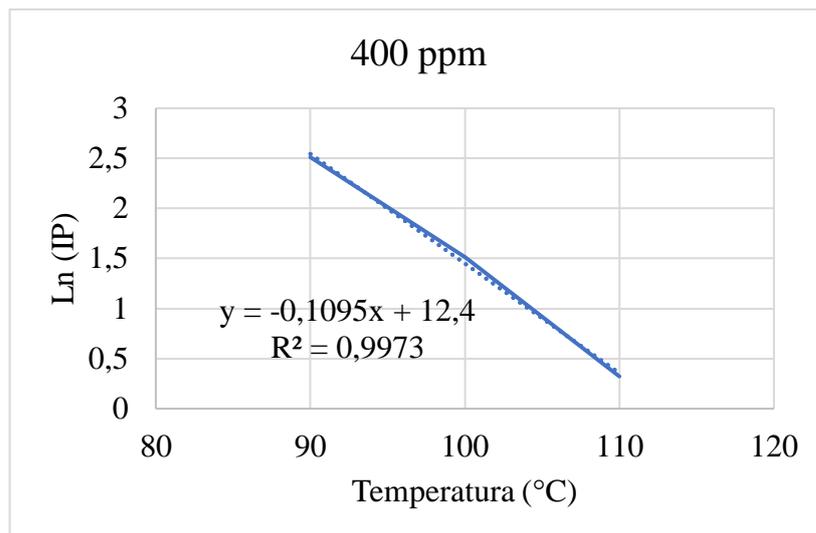
$$y = (-0,108 * 15) + 12,21$$

$$y = 10,59$$

$$\text{EXP } 10,59 = 39735,489 \text{ horas}$$

vida útil= 1655 días

Anexo 1.3 *Curvas de extrapolación para determinar el tiempo de vida útil de la grasa obtenida de la carnaza residual con 400 ppm de extracto de romero*



Cálculo del tiempo de conservación de la grasa obtenida de la carnaza residual con 400 ppm de extracto de romero.

$$y = -0,1095x + 12,4$$

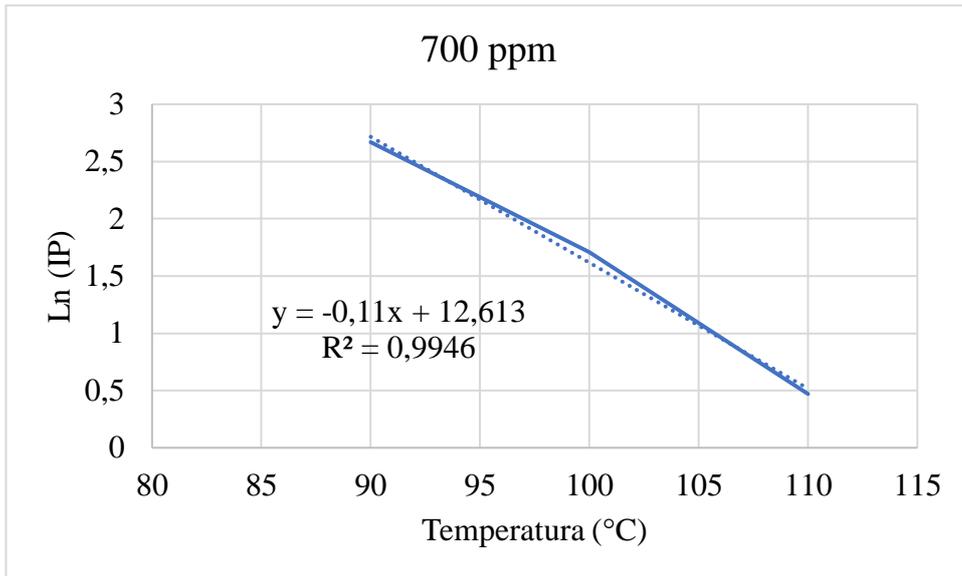
$$y = (-0,1095 * 15^\circ) + 12,4$$

$$y = 10,75$$

$$\text{EXP } 10,75 = 46981,068 \text{ horas}$$

vida útil = 1957 días

Anexo 1.4 Curvas de extrapolación para determinar el tiempo de vida útil de la grasa obtenida de la carnaza residual con 700 ppm de extracto de romero



Cálculo del tiempo de conservación de la grasa obtenida de la carnaza residual con 700 ppm de extracto de romero.

$$y = -0,11x + 12,63$$

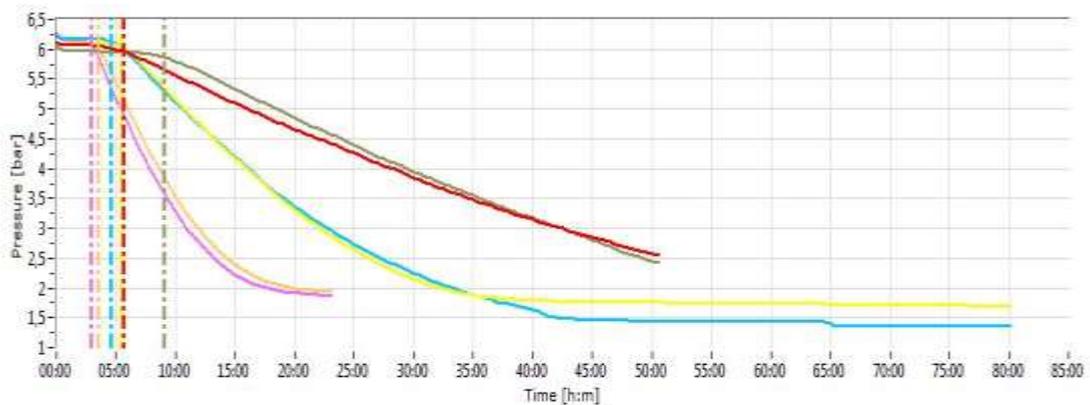
$$y = (-0,11 \cdot 15^\circ) + 12,63$$

$$y = 10,96$$

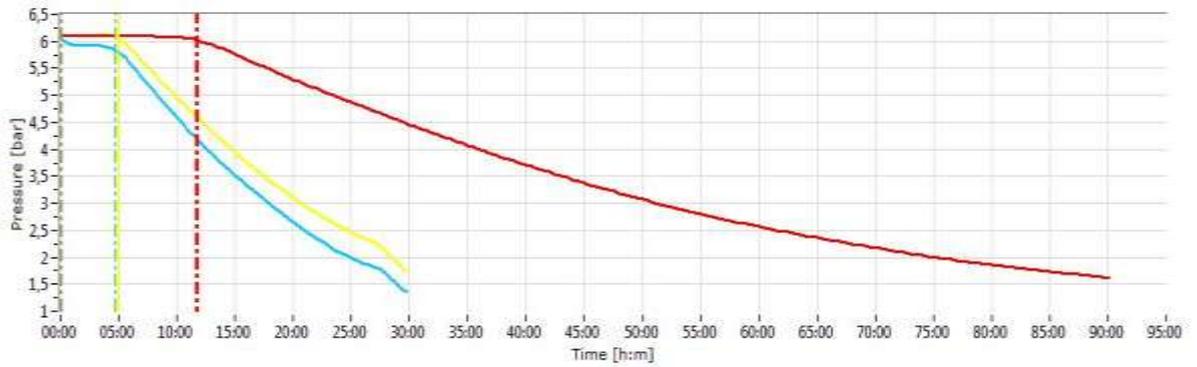
$$\text{EXP } 10,96 = 57526,443 \text{ horas}$$

$$\text{vida útil} = 2396 \text{ días}$$

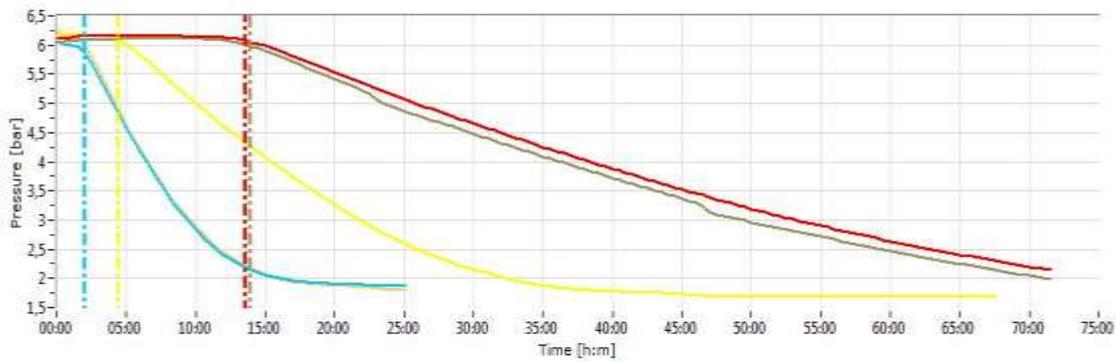
Anexo 1.5. Resultados del equipo Oxitest en el análisis de la vida útil de la grasa control a 90, 100 y 110 °C.



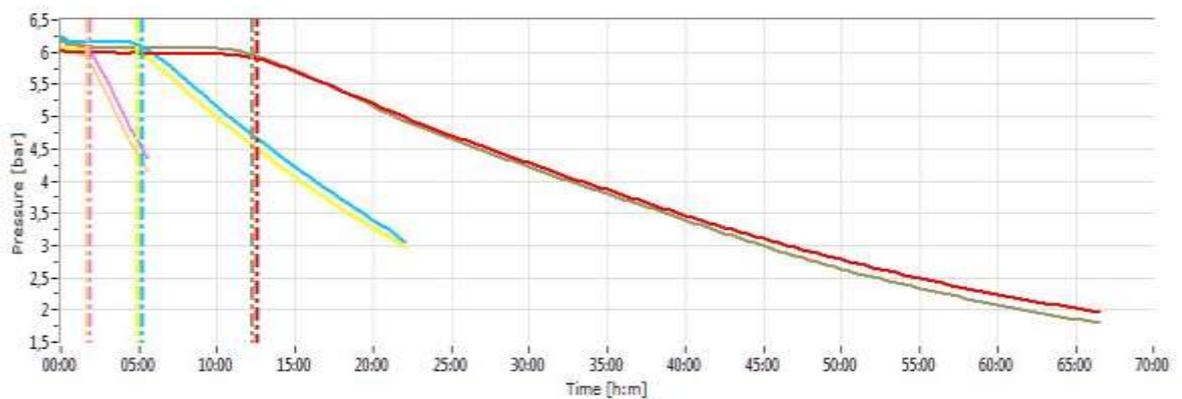
Anexo 1.6 Resultados del equipo Oxitest en el análisis de la vida útil del tratamiento 1 (50 ppm) a 90, 100 y 110 °C



Anexo 1.7 Resultados del equipo Oxitest en el análisis de la vida útil del tratamiento 2 (400 ppm) a 90, 100 y 110 °C.



Anexo 1.8 Resultados del equipo Oxitest en el análisis de la vida útil del tratamiento 3 (700 ppm) a 90, 100 , 110 °C.



Anexo 2. Análisis Estadísticos

Análisis de la varianza de para el ÍNDICE DE ACIDEZ

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo	4	0,01960	0,01960	0,004900	0,28	0,882
Tratamientos	3	0,32372	0,32372	0,107906	6,26	0,008
Error	12	0,20669	0,20669	0,017224		
Total	19	0,55001				

Nota. Tiempo 0, 15,30,60 y 90 días de conservación; **Tratamientos:** Control (grasa sin conservante), Tratamiento 1 (50 ppm), tratamiento 2(400 ppm), Tratamiento 2(700 ppm)

Prueba de múltiples rangos para el índice de acidez por tratamiento

Método: 95,0 % Tukey

Tratamientos	N	Media	Agrupación
Control	5	0,742589	A
Tratamiento 1 (50 ppm)	5	0,489087	B
Tratamiento 2 (400 ppm)	5	0,441216	B
Tratamiento 3 (700 ppm)	5	0,429653	B

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Análisis de la varianza de para el ÍNDICE DE PERÓXIDOS

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamientos	3	12,7634	12,7634	4,2545	5,27	0,015
Tiempo	4	0,4786	0,4786	0,1196	0,15	0,960
Error	12	9,6794	9,6794	0,8066		
Total	19	22,9213				

Nota. Tiempo 0, 15,30,60 y 90 días de conservación; **Tratamientos:** Control (grasa sin conservante), Tratamiento 1 (50 ppm), tratamiento 2(400 ppm), Tratamiento 2(700 ppm)

Prueba de múltiples rangos para el índice de peróxidos por tratamiento

Método: 95,0 % Tukey

Tratamientos	N	Media	Agrupación	
Control	5	5,75767	A	
Tratamiento 1 (50 ppm)	5	4,42117	A	B
Tratamiento 2 (400 ppm)	5	3,90954		B
Tratamiento 3 (700 ppm)	5	3,70856		B

Nota. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Análisis de la varianza de para el ÍNDICE DE SAPONIFICACIÓN

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tratamiento	3	97,196	97,196	32,399	3,19	0,063
Tiempo	4	8,528	8,528	2,132	0,21	0,928
Error	12	121,785	121,785	10,149		
Total	19	227,509				

Nota. Tiempo 0, 15,30,60 y 90 días de conservación; **Tratamientos:** Control (grasa sin conservante), Tratamiento 1 (50 ppm), tratamiento 2(400 ppm), Tratamiento 2(700 ppm)

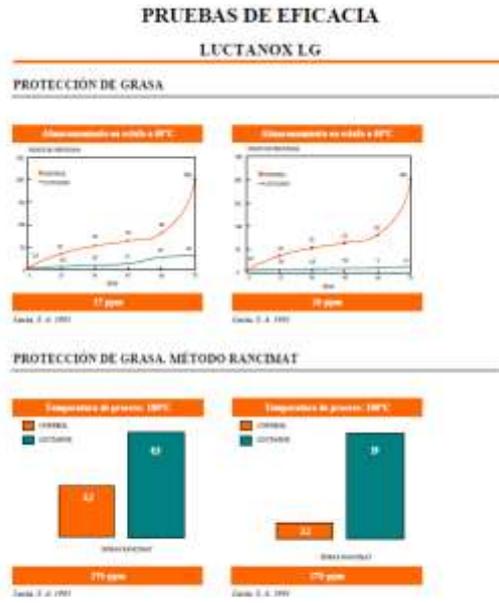
Anexo 4. Ficha Técnica del antioxidante sintético Luctanox LG

LUCTANOX LG 81680-Z	
BENEFICIOS	GRASAS Y MARGINAS
<ul style="list-style-type: none"> • Mejor estabilidad en grasas que el etoxiquin para: • Mantener la calidad de la harina de pescado evitando la rancidez y el rechazo del pez. • Mantener el color natural del alimento evitando la oxidación de las grasas y aceites aplicados por recubrimiento. 	
DESCRIPCIÓN	
Antioxidante sintético líquido, soluble en grasas, para la protección de harinas de pescado de pollos, de pescado, grasas y aceites para alimentación animal.	
COMPOSICIÓN	
Etiquetas = BHT, extractos de menta y diésteres de los ácidos grasos, Mezclas de poliolefinas.	
ASPECTO	
Líquido de color café oscuro, de viscosidad media, olor característico y fácilmente soluble en grasas y aceites.	
DOSIS	
De 500 a 1.000 g/t de grasas, aceite o harina animal, dependiendo del estado de conservación del sustrato antes del tratamiento y del término de almacenamiento esperado.	
ENVASE	
Envase de EPDE con 20 kg de peso neto o bidones de 100 kg netos. 100 % reciclables.	
ESTABILIDAD	
Un año en el envase original, cerrado y almacenado en un lugar fresco y seco.	

81680

División de Zootecnia

Lucta



81680

División de Zootecnia

Lucta

Anexo 5. Análisis económico

Cálculos en base de 1kg de grasa

Aceite esencial de Romero

15000 mg → \$15

700 mg → x

$$x = \frac{700 \text{ mg} * \$15}{15000 \text{ mg}}$$

x = \$0,7 = 70 ¢

Luctanox LG

25000 mg → \$11

500 mg → x

$$x = \frac{500 \text{ mg} * \$11}{25000 \text{ mg}}$$

x = \$0,22 = 22 ¢

Anexo 6. Licencia de Minitab

Portal de licencias de Minitab Mis productos: Nelly Esther Flores Tapia

Nelly Esther Flores Tapia
nefflores@uta.edu.ec

Información personal
Revise o actualice la información de su cuenta web.
[Información de usuario](#)
[Información de la cuenta](#)

Mis productos
Acceda a sus suscripciones.
[Minitab® Distatool Software](#)
[Centro de Educación de Minitab](#)

Licenciamiento
Cree o renueve sus licencias para múltiples usuarios y administre el acceso a sus productos web.
[Licenciamiento para múltiples usuarios](#)
[Productos web](#)

Actividad de la cuenta
Envíe y dé seguimiento a las solicitudes de soporte en línea y revise pedidos en línea realizados recientemente.

Descargas
Descargue archivos de instalación y plantillas para todos sus productos de Minitab.

Seguridad
Revise o actualice su configuración de seguridad.
[Cambiar contraseña](#)