



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Trabajo de Integración
Curricular previa la obtención
del Grado Académico de
Ingeniera Agroindustrial

Proyecto de Investigación:

“ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS BIOCONSERVANTES: ACEITE ESENCIAL DE CULANTRO SILVESTRE (*Eryngium foetidum*) Y LA BACTERIA ÁCIDO-LÁCTICA (*Lactobacillus plantarum*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ENCAPSULAMIENTO, EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS AHUMADOS (CHULETA DE CERDO (*Sus scrofa*))”.

Autora:

YELENA JAHAIRA GUADAMUD BRIONES

Director del Proyecto de Investigación:

DR. JUAN ALEJANDRO NEIRA MOSQUERA, PHD.

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2023



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **YELENA JAHAIRA GUADAMUD BRIONES**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Yelena Guadamud

YELENA JAHAIRA GUADAMUD BRIONES

C.I.: 0942374265



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito **Dr. Juan Alejandro Neira Mosquera**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Yelena Jahaira Guadamud Briones**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS BIOCONSERVANTES ACEITE ESENCIAL DE CULANTRO SILVESTRE (*Eryngium foetidum*) Y LA BACTERIA ÁCIDO-LÁCTICA (*Lactobacillus plantarum*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ENCAPSULAMIENTO, EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS AHUMADOS (CHULETA DE CERDO (*Sus scrofa*))**”, previo a la obtención del título de **Ingeniera Agroindustrial**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.



firmado electrónicamente por:
**JUAN ALEJANDRO
NEIRA MOSQUERA**

**Dr. Juan Alejandro Neira Mosquera PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito, **Ph.D Juan Alejandro Neira Mosquera**, mediante el presente cumpla en presentar a usted, el informe de proyecto de Investigación titulado “ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS BIOCONSERVANTES: ACEITE ESENCIAL DE CULANTRO SILVESTRE (*Eryngium foetidum*) Y LA BACTERIA ÁCIDO-LÁCTICA (*Lactobacillus plantarum*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ENCAPSULAMIENTO, EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS AHUMADOS (CHULETA DE CERDO (*Sus scrofa*))”, Presentado por la estudiante **Yelena Jahaira Guadamud Briones**, egresada de la Carrera de Agroindustria, que fue revisado bajo mi dirección según resolución del Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Industria y Producción, que se ha desarrollado de acuerdo al Reglamento de la Unidad de Integración Curricular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y cumple con el requerimiento de análisis de URKUND el cual avala los niveles de originalidad en un 94% y similitud 6%, del trabajo investigativo. Valido este documento para que el estudiante siga con los trámites pertinentes, de acuerdo como lo establece el Reglamento.



Document Information

| | |
|-------------------|---|
| Analyzed document | PROYECTO DE INVESTIGACION STA. YELENA.docx (D174450955) |
| Submitted | 2023-09-23 18:11:00 |
| Submitted by | Juan Alejandro Neira Mosquera |
| Submitter email | neiramosquera@uteq.edu.ec |
| Similarity | 6% |
| Analysis address | neiramosquera.uteq@analysis.urkund.com |



Firmado electrónicamente por:
**JUAN ALEJANDRO
NEIRA MOSQUERA**

**Dr. JUAN ALEJANDRO NEIRA MOSQUERA PhD.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS BIOCONSERVANTES ACEITE ESENCIAL DE CULANTRO SILVESTRE (*Eryngium foetidum*) Y LA BACTERIA ÁCIDO-LÁCTICA (*Lactobacillus plantarum*) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ENCAPSULAMIENTO, EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS AHUMADOS (CHULETA DE CERDO (*Sus scrofa*))”.

Presentado al Consejo Directivo de Facultad como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Agroindustrial.

Aprobado por:

ANDREA
CRISTINA CORTEZ
ESPINOZA

Firmado digitalmente por
ANDREA CRISTINA CORTEZ
ESPINOZA
Fecha: 2023.11.10 11:46:35
-05'00'

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL
Ing. Andrea Cortez Espinoza MSc.



Firmado electrónicamente por:
ROBERT WILLIAM
MOREIRA MACIAS

MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Ing. Robert Moreira Macías.

GINA
MARIUXI
GUAPI ALAVA

Firmado
digitalmente por
GINA MARIUXI GUAPI
ALAVA
Fecha: 2023.11.11
20:14:09 -05'00'

MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Ing. Gina Guapi Alava MSc.

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2023

AGRADECIMIENTO:

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, cuya guía y fortaleza me han sostenido a lo largo de este viaje académico, sin su amor y apoyo inquebrantable, esta meta no habría sido posible. A mi madre, Yajaira Briones, y a mi padre, Nicolás Guadamud, les debo una gratitud infinita. Su apoyo incondicional, sabiduría y amor han sido mi fuente de inspiración constante. Su sacrificio y confianza en mí me han impulsado a llegar hasta aquí. Mi hermano, Anderson Guadamud, ha sido mi compañero y amigo de toda la vida. Gracias por estar a mi lado y alentarme en cada paso del camino.

Al Ingeniero Joffre Sánchez por su apoyo constante, tus palabras de aliento, tu paciencia infinita y tu amor, te agradezco por ser mi compañero, por comprender mis compromisos y por estar siempre ahí, sosteniéndome cuando te he necesitado.

Al Doctor Juan Alejandro Neira, le agradezco por su orientación experta y sus invaluable aportes a mi investigación. La sabiduría que ha compartido y su mentoría diligente han desempeñado un papel fundamental en el desarrollo de este trabajo, es usted una persona a quien admiro mucho, de igual manera mis más sinceros agradecimientos al ingeniero Jhoan Plúas, por su contribución significativa en esta investigación, le agradezco al ingeniero Erick García por su colaboración en el proyecto y paciencia durante el desarrollo de este, se lo aprecia mucho.

A mis amigos, compañeros de clase y a todos los docentes que han compartido su conocimiento y experiencia conmigo a lo largo de mi vida académica, les estoy agradecida. Cada uno de ustedes ha sido un pilar en mi formación y desarrollo.

Quiero reconocer y agradecer a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron al éxito de este proyecto. A la UTEQ mi alma mater, que ha sido mi casa durante estos años, le agradezco por brindarme la oportunidad de aprender, crecer y desarrollarme como profesional.

Yelena Jahaira Guadamud Briones

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios, quien ha sido mi guía constante en este camino. A mi madre, Yajaira Briones, ya mi padre, Nicolás Guadamud, cuyo amor, apoyo y sacrificio han sido mi inspiración. Y, finalmente, a mí misma, por la determinación y el esfuerzo para alcanzar esta meta. Este logro es un tributo a nuestro amor y perseverancia.

Yelena Jahaira Guadamud Briones

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal estudiar el efecto de la aplicación de dos bioconservantes: el aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) en chuletas de cerdo ahumadas. Para lo cual se aplicó un diseño factorial AxBxC donde el factor A: Tipos de bioconservantes (aceite esencial del culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*)) factor B: Tipos de concentraciones (1%, 2% y 3%) factor C: métodos de aplicación (método de aspersion y método de encapsulado) mediante el método estadístico ANOVA y la prueba de significación de TUKEY ($P < 0.05$) por medio del programa STHAGRAPHIS y STATISTICA, donde se eligieron los mejor tratamientos con un margen de error al 5%. Se logró identificar la concentración óptima para la aplicación de los bioconservantes, Los resultados de la investigación destacan que una concentración del 1% dio resultados óptimos en los parámetros fisicoquímicos mientras que las concentraciones del 2% y 3% se obtuvieron resultados óptimos en los parámetros microbiológicos y la aplicación por el método de aspersion es el método más idóneo para la obtención de resultados positivos en los parámetros fisicoquímicos mientras que el método de encapsulado da mejores resultados en los análisis microbiológicos.

Palabras claves: Bioconservantes, chuletas de cerdo, cárnicos ahumados.

ABSTRACT

The main objective of this research is to study the effect of the application of two biopreservatives: the essential oil of wild coriander (*Eryngium foetidum*) and the lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*) in smoked pork chops. For which a factorial design AxBxC was applied where factor A: Types of biopreservatives (essential oil of wild coriander (*Eryngium foetidum*) and lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*)) factor B: Types of concentrations (1%, 2% and 3%) factor C: application methods (spray method and encapsulation method) by means of the statistical method ANOVA and the significance test of TUKEY ($P < 0.05$) by means of the SPSS and STATISTICA programs, where the best treatments were chosen with a margin of error of 5%. It was possible to identify the optimum concentration for the application of biopreservatives a concentration of 1% gave optimum results in the physicochemical parameters, while concentrations of 2% and 3% gave optimum results in the microbiological parameters and the application by the spray method is the most suitable method for obtaining positive results in the physicochemical parameters, while the encapsulation method gives better results in the microbiological analyses.

Keywords: Biopreservatives, pork chops, smoked meats.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|------|
| DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS..... | ii |
| CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN | iii |
| CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO | iv |
| AGRADECIMIENTO..... | vi |
| DEDICATORIA | vii |
| TABLA DE CONTENIDO..... | viii |
| INDICE DE TABLAS..... | xii |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | xiii |
| CÓDIGO DUBLÍN | xiv |
| Introducción | xv |
| CAPÍTULO I..... | 1 |
| CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN..... | 1 |
| 1.1. Problema de Investigación | 2 |
| 1.1.1. <i>Planteamiento del problema</i> | 2 |
| <i>Diagnóstico.</i> | 2 |
| <i>Pronóstico</i> | 2 |
| 1.1.2. <i>Formulación del problema</i> | 3 |
| 1.1.3. <i>Sistematización del Problema</i> | 3 |
| 1.2. Objetivos..... | 4 |
| 1.2.1. <i>Objetivo general</i> | 4 |
| 1.2.1. <i>Objetivos específicos</i> | 4 |
| 1.3. <i>Justificación</i> | 5 |
| CAPÍTULO II..... | 6 |
| FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN | 6 |

| | |
|---|-----------|
| 2.1. Marco Conceptual..... | 7 |
| 2.1.1. <i>Bioconservantes.....</i> | 7 |
| 2.1.2. <i>Bioconservantes para productos cárnicos</i> | 7 |
| 2.1.3. <i>Aceites esenciales</i> | 10 |
| 2.1.4. <i>Aceite esencial de culantro silvestre (Eryngium foetidum).....</i> | 11 |
| 2.1.5. <i>Bacteria ácida láctica (lactobacillus plantarum).....</i> | 12 |
| 2.1.6. <i>Técnica de encapsulamiento</i> | 14 |
| 2.1.6.1. <i>Técnicas de encapsulación químicos.....</i> | 16 |
| 2.1.6.2. <i>Técnicas de encapsulación físicos.....</i> | 19 |
| 2.1.7. <i>Métodos para controlar la liberación.....</i> | 22 |
| 2.1.8. <i>Encapsulamiento para productos cárnicos ahumados.....</i> | 24 |
| 2.2. Marco referencial..... | 25 |
| 2.2.1. <i>Antecedentes</i> | 25 |
| 2.2.2. <i>Método de encapsulación del Lactobacillus plantarum</i> | 25 |
| 2.2.3. <i>Aceites esenciales en la conservación de alimentos</i> | 26 |
| 2.2.4. <i>Uso de las bacteriosinas como bioconservantes</i> | 27 |
| 2.2.5. <i>Efectos bioconservantes del aceite esencial de culantro silvestre (Eryngium foetidum)</i> | 30 |
| 2.2.6. <i>Beneficios del uso de bacteriocinas para la bioconservación de la carne y derivados 31</i> | |
| 2.2.7. <i>Bioconservación en productos cárnicos</i> | 32 |
| 2.2.8. <i>Lactobacillus plantarum como bioconservante en productos cárnicos</i> | 33 |
| CAPÍTULO III..... | 34 |
| METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN | 34 |
| 3.1. Localización..... | 35 |
| 3.1.1. <i>Materia prima.....</i> | 35 |
| 3.2. Tipo de investigación | 35 |

| | | |
|-------------------------------------|---|-----------|
| 3.2.1. | <i>Investigación experimental</i> | 35 |
| 3.2.2. | <i>Investigación analítica</i> | 35 |
| 3.2.3. | <i>Investigación bibliográfica</i> | 36 |
| 3.3. | Métodos de investigación | 36 |
| 3.3.1. | <i>Método inductivo-deductivo</i> | 36 |
| 3.3.2. | <i>Método Analítico</i> | 36 |
| 3.4. | Fuentes de recopilación de información | 36 |
| 3.5. | Diseño de la investigación | 36 |
| 3.5.1. | <i>Diseño experimental</i> | 36 |
| 3.5.2. | <i>Manejo del experimento</i> | 37 |
| 3.5.2.1. | <i>Extracción del aceite esencial del culantro silvestre (Eryngium foetidum)</i> | 37 |
| 3.5.2.2. | <i>Replica e inoculación del Lactobacillus plantarum (BAL)</i> | 37 |
| 3.5.2.3. | <i>Proceso de elaboración de chuletas ahumadas de cerdo (Sus scrofa)</i> | 39 |
| 3.5.2.4. | <i>Análisis realizados</i> | 41 |
| 3.5.2.5. | <i>Análisis fisicoquímicos</i> | 41 |
| 3.5.2.6. | <i>Análisis microbiológicos</i> | 44 |
| 3.6. | Instrumentos de investigación | 44 |
| 3.7. | Tratamiento de datos | 44 |
| 3.8. | Recursos humanos y materiales | 47 |
| CAPÍTULO IV | | 48 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | | 48 |
| 4.1. | Resultados | 49 |
| 4.1.1. | <i>Análisis de varianza de resultados de las variables evaluadas en el proyecto de investigación</i> | 49 |
| 4.1.1.1. | <i>Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados del factor A (Tipos de bioconservantes)</i> | 54 |
| 4.1.1.2. | <i>Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados del factor B</i> | |

| | |
|---|----|
| <i>(Concentraciones de bioconservantes)</i> | 56 |
| 4.1.1.3. Prueba de significación (Tukey $P<0,05$) para los resultados del factor C (métodos de aplicación) | 59 |
| 4.1.1.4. Prueba de significación (Tukey $P<0,05$) para los resultados de la interacción $A \times B \times C$ (Tipos de bioconservantes + Concentraciones de bioconservantes + Métodos de aplicación) | 61 |
| 4.1.1.5. Resultados de los análisis microbiológicos | 65 |
| 4.1.2. Balance de masa | 67 |
| 4.1.2.1. Balance de masa del proceso de elaboración de chuletas ahumadas de cerdo (<i>Sus scrofa</i>) | 67 |
| 4.1.2.2. Balance de masa del aceite de culantro silvestre por el método de arrastre de vapor | 68 |
| 4.2. Discusión | 69 |
| 4.2.1. Tipos de bioconservantes (Factor A) | 69 |
| 4.2.2. Concentraciones (Factor B) | 70 |
| 4.2.3. Métodos de aplicación Factor C | 72 |
| 4.2.4. Tipos de bioconservantes*Concentraciones*Métodos de aplicación ($A \times B \times C$) | 73 |
| 4.2.5. Microbiológicos | 74 |
| CAPÍTULO V | 76 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 76 |
| 5.1. Conclusiones | 77 |
| 5.2. Recomendaciones | 78 |
| CAPÍTULO VI | 79 |
| 6.1. Bibliografía | 80 |
| CAPÍTULO VII | 89 |
| ANEXOS | 89 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Alimentos y bacteria | 8 |
| Tabla 2 Fórmula para la elaboración de salmuera..... | 39 |
| Tabla 3 Descripción de los Tratamientos propuestos para el estudio del efecto de dos bioconservantes: aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) y <i>Lactobacillus plantarum</i> mediante la técnica de encapsulamiento y aspersión, en la conservación de productos cárnicos ahumados de (Chuleta de <i>Sus scrofa</i> “cerdo”) | 45 |
| Tabla 4 Esquema del análisis de varianza AXBXC para variables en estudio..... | 46 |
| Tabla 5 Recursos humanos y materiales para la realización del proyecto de investigación. | 47 |
| Tabla 6 Análisis de varianza para la variable pH..... | 49 |
| Tabla 7 Análisis de varianza para la variable Ceniza..... | 50 |
| Tabla 8 Análisis de varianza para la variable humedad | 51 |
| Tabla 9 Análisis de varianza para la variable proteína..... | 52 |
| Tabla 10 Análisis de varianza para la variable acidez..... | 53 |
| Tabla 11 Resultados del estudio de tipos de bioconservantes (factor A) (Tukey $P < 0,05$). 54 | |
| Tabla 12 Resultados del estudio concentraciones de los bioconservantes (factor B) (Tukey $P < 0,05$) | 56 |
| Tabla 13 Resultados del estudio métodos de aplicación (factor C) (Tukey $P < 0,05$) | 59 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Usos y aplicaciones de aceites esenciales como bioconservantes en productos cárnicos..... | 9 |
| Figura 2 Prueba de significación de Tukey para (Factor A: Tipos de bioconservantes)..... | 54 |
| Figura 3 Prueba de significación de Tukey para (Factor B: Concentraciones de los bioconservantes)..... | 57 |
| Figura 4 Prueba de significación de Tukey para (Factor C: Método de aplicación)..... | 59 |
| Figura 5 Comportamiento de las variables de estudio en los tratamientos | 66 |

CÓDIGO DUBLÍN

| | |
|------------------------------|--|
| Título: | “ESTUDIO DEL EFECTO DE DOS BIOCONSERVANTES: ACEITE ESENCIAL DE CULANTRO SILVESTRE (<i>Eryngium foetidum</i>) Y LA BACTERIA ÁCIDO-LÁCTICA (<i>Lactobacillus plantarum</i>) MEDIANTE LA TÉCNICA DE ENCAPSULAMIENTO, EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS AHUMADOS (CHULETA DE CERDO (<i>Sus scrofa</i>))”. |
| Autora | Yelena Jahaira Guadamud Briones |
| Palabras claves: | Bioconservantes, chuletas de cerdo, cárnicos ahumados. |
| Fecha de publicación: | Noviembre, 2023 |
| Editorial: | Quevedo- UTEQ “La María”, 2023 |
| Resumen: | El presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal estudiar el efecto de la aplicación de dos bioconservantes: el aceite esencial de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) y la bacteria ácido láctica (<i>Lactobacillus plantarum</i>) en chuletas de cerdo ahumadas. Para lo cual se aplicó un diseño factorial AxBxC donde el factor A: Tipos de bioconservantes (aceite esencial del culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) y la bacteria ácido-láctica (<i>Lactobacillus plantarum</i>)) factor B: Tipos de concentraciones (1%, 2% y 3%) factor C: métodos de aplicación (método de aspersión y método de encapsulado) mediante el método estadístico ANOVA y la prueba de significación de TUKEY ($P < 0.05$) por medio del programa STHAGRAPHIS y STATISTICA, donde se eligieron los mejor tratamientos con un margen de error al 5%. Se logró identificar la concentración óptima para la aplicación de los bioconservantes, Los resultados de la investigación destacan que una concentración del 1% dio resultados óptimos en los parámetros fisicoquímicos mientras que las concentraciones del 2% y 3% se obtuvieron resultados óptimos en los parámetros microbiológicos y la aplicación por el método de aspersión es el método más idóneo para la obtención de resultados positivos en los parámetros fisicoquímicos mientras que el método de encapsulado da mejores resultados en los análisis microbiológicos. |
| Abstract: | The main objective of this research is to study the effect of the application of two biopreservatives: the essential oil of wild coriander (<i>Eryngium foetidum</i>) and the lactic acid bacteria (<i>Lactobacillus plantarum</i>) in smoked pork chops. For which a factorial design AxBxC was applied where factor A: Types of biopreservatives (essential oil of wild coriander (<i>Eryngium foetidum</i>) and lactic acid bacteria (<i>Lactobacillus plantarum</i>)) factor B: Types of concentrations (1%, 2% and 3%) factor C: application methods (spray method and encapsulation method) by means of the statistical method ANOVA and the significance test of TUKEY ($P < 0.05$) by means of the STHAGRAPHIS and STATISTICA programs, where the best treatments were chosen with a margin of error of 5%. It was possible to identify the optimum concentration for the application of biopreservatives a concentration of 1% gave optimum results in the physicochemical parameters, while concentrations of 2% and 3% gave optimum results in the microbiological parameters and the application by the spray method is the most suitable method for obtaining positive results in the physicochemical parameters, while the encapsulation method gives better results in the microbiological analyses. |
| Descripción | 110 hojas: dimensiones 29 x 21 cm + CD ROM 6162 |
| URL | |

INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos se presentan en el mercado como opciones de consumo inmediato, lo que plantea la necesidad de garantizar la seguridad alimentaria. En este contexto, los bioconservantes desempeñan un papel crucial al prevenir el desarrollo de microorganismos perjudiciales, sin los efectos secundarios asociados a los conservantes químicos, como alergias, intolerancias o impactos negativos en la salud a largo plazo. Esta medida es especialmente relevante en respuesta a la creciente amenaza de brotes de toxiinfecciones originados por patógenos emergentes en la carne y sus derivados, como se señala en un estudio reciente (Inocente et al., 2021, p.14).

Esta investigación se realizó con el propósito de buscar una alternativa para reemplazar paulatinamente el uso de conservantes químicos en productos cárnicos, situación que genera preocupaciones crecientes en la salud de los consumidores. En respuesta a esta inquietud, se busca proporcionar como alternativa el empleo de bioconservantes. La relevancia de este proyecto se enfoca en mejorar la calidad y la seguridad de los productos cárnicos ahumados, y al mismo tiempo satisfacer la creciente demanda de alimentos saludables por parte de los consumidores.

El objetivo de esta investigación es estudiar el impacto de la aplicación de dos bioconservantes: aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) en chuletas de cerdo ahumadas. Para lograr este objetivo se identificó la concentración adecuada del aceite esencial del culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) aplicadas en tres concentraciones diferentes, mediante dos métodos: método de directo y mediante encapsulamiento, la determinación del efecto bioconservante se realizó mediante análisis microbiológicos y bromatológicos. Este proceso tuvo una duración de dos meses.

El análisis estadístico de resultados se realizó mediante un ANOVA con arreglo factorial AxBxC donde el factor A: Tipos de bioconservantes (aceite esencial del culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*)) factor B: Tipos de concentraciones (1%, 2% y 3%) factor C: métodos de aplicación (método de aspersión y método de encapsulado) mediante el método estadístico ANOVA y la prueba de significación de TUKEY ($P < 0.05$).

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de Investigación

1.1.1. Planteamiento del Problema

El uso generalizado de conservantes químicos, en particular nitratos y nitritos, en productos cárnicos presenta un problema crítico para la salud de los consumidores. Estos aditivos se asocian con riesgos de toxicidad aguda y la formación de nitrosaminas, conocidos agentes cancerígenos. Los nitratos, nitritos sódicos (E250) y nitrato potásico (E249) son los conservantes de alimentos mayormente usados. El nitrito es tóxico (2 gramos pueden causar la muerte en una persona (Quingatuña, 2009).

El uso de los conservantes químicos está afectando la salud de los consumidores (Salcido, 2010). Menciona en su artículo que la población está interesada en consumir alimentos libres de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades. La industria cárnica enfrenta el desafío de equilibrar la necesidad de mantener la frescura de los productos con la seguridad y salud de los consumidores, al mismo tiempo que cumple con las regulaciones y expectativas del mercado en evolución.

Diagnóstico.

Actualmente en el Ecuador existe poca investigación en cuanto al uso de bioconservantes en la elaboración de productos cárnicos ahumados, es decir las industrias cárnicas por lo general emplean productos químicos, haciendo cada vez más cuestionable el consumo de estos debido a múltiples riesgos en la salud que se asocian con la utilización de conservantes convencionales.

Pronóstico.

Si el uso de conservantes químicos en la elaboración y consumo de productos cárnicos ahumados continúa, en el futuro se pueden predecir muchos escenarios posibles y efectos a largo plazo, ya que el uso prolongado de conservantes químicos puede tener un efecto negativo en la salud de los consumidores.

Estos efectos pueden incluir alergias alimentarias, intolerancias, sensibilidades y en casos más extremos, se ha especulado sobre un posible vínculo entre ciertos conservantes y enfermedades crónicas como el cáncer. A medida que las personas se vuelven más consciente del vínculo entre los alimentos y la salud, es posible que aumente la demanda de productos más naturales y orgánicos, así como se presume que los consumidores elijan productos cárnicos ahumados que no contengan conservantes químicos y busquen alternativas más saludables. Si continúa el consumo de productos cárnicos ahumados elaborados con conservantes químicos, es probable que veamos debates en curso sobre la salud y la seguridad alimentaria, así como cambios en las preferencias de los consumidores y la industria alimentaria en respuesta a estas preocupaciones.

1.1.2. Formulación del problema

¿Se puede viabilizar la utilización del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) como agentes conservantes en la preservación de chuletas de cerdo ahumadas?

1.1.3. Sistematización del Problema

¿Qué concentraciones del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) serán las adecuadas para su aplicación como bioconservante dentro de la elaboración de productos cárnicos ahumados chuleta de cerdo (*Sus scrofa*)?

¿Cuál de las técnicas de aplicación del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) es la que más se adapta en la conservación de productos cárnicos ahumados chuletas de cerdo (*Sus scrofa*)?

¿Cuál será el efecto conservante que se determinará en el aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) sobre la conservación de productos cárnicos ahumados?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Estudiar el efecto de dos bioconservantes: aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) mediante la técnica de encapsulamiento, en la conservación de productos cárnicos ahumados (Chuleta de cerdo “*Sus scrofa*”).

1.2.1. Objetivos Específicos

- Identificar la concentración adecuada del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) como bioconservantes en la elaboración de productos cárnicos ahumados (Chuleta de cerdo “*Sus scrofa*”).
- Establecer la técnica de aplicación adecuada del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) como bioconservantes en Chuletas ahumadas de cerdo “*Sus scrofa*”).
- Determinar el efecto conservante del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) en la conservación de productos cárnicos ahumados.

1.3. Justificación.

Tener una alternativa saludable a la hora de adicionar aditivos como son los bioconservantes a los alimentos destinados al consumo humano, reducirá las enfermedades provocadas por conservantes químicos en la población. El culantro (*Eryngium foetidum*) es beneficioso para la salud y sirve como antioxidante natural, siendo muy fácil de producir en las zonas tropicales húmedas del país. El culantro presenta dentro de su composición ácidos linoleico, oleico y ascórbico, el último responsable de sus propiedades antibacterianas, los ácidos grasos como el linoleico y el oleico, así como ácido ascórbico (vitamina C), que tiene propiedades antibacterianas, lo convierte en una opción interesante como bioconservante en alimentos, especialmente en productos cárnicos. Estos componentes ayudan a inhibir el crecimiento de bacterias y levaduras que hacen que los alimentos se echen a perder (Rosero-Gómez, 2020).

En cuanto a las BAL (*Lactobacillus plantarum*) (Suarez M, 2008). Se han determinado diferentes bacteriocinas producidas por esta bacteria, las cuales poseen un efecto antagónico ante organismos gram positivos y en algunos casos, en gram negativos. Los mismos autores señalan que la *plantaricina F*, producida por (*Lactobacillus plantarum*) BF001, es efectiva frente a *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Micrococcus*, *Leuconostocs*, *Pediococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella* y *Pseudomonas*.

El presente trabajo de investigación se realizará con el fin de estudiar el efecto de dos bioconservantes aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y el *lactobacillus plantarum* mediante la técnica de encapsulamiento y aspersion) en productos cárnicos ahumados como las chuletas de cerdo (*Sus scrofa*), determinando así su actividad antimicrobiana como conservante natural. El mercado está buscando consumir productos orgánicos y la industria agroalimentaria debe adaptarse y dar al consumidor lo que demanda y necesita.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual

2.1.1. Bioconservantes

Los bioconservantes comprenden elementos claves en el proceso de conservación como método para la dilatación de la vida útil e incremento de la seguridad de los alimentos a través de la utilización de sus microbiotas naturales o de sus metabolitos. Esto generalmente se realiza a partir de sustancias naturales que poseen propiedades antibacterianas, además de la utilización de microorganismos capaces de producir sustancias inhibidoras que se encargan de impedir el desarrollo de microorganismos que puedan llegar a afectar la calidad de los alimentos (Castellanos et al., 2022, p.20).

Los bioconservantes son sustancias o composiciones químicas con efecto antimicrobial, es decir; admite el retraso de transformaciones perjudiciales originadas por microorganismos en los productos y de los que llegan a formar parte (Becerra et al., 2022, p.16). Es importante mencionar que, entre los sistemas de conservación, la bioconservación está obteniendo un gran desarrollo, ya que actualmente sus componentes naturales están siendo utilizados y están siendo añadidos a los alimentos para garantizar su seguridad.

Un ejemplo de esto como innovación de bioconservación, se constituye en la utilización de bacteriófagos (virus que matan bacterias) como agentes antimicrobianos, que impiden el desarrollo de bacterias patógenas en los alimentos (Flores, 2022, p. 14)

Para Rodríguez (2021) la bioconservación responde a una “técnica que permite la extensión de la vida en percha de un alimento, esto mediante la utilización de microbiota natural y sus componentes antimicrobianos; su objetivo es obtener alimentos más seguros e incluso generar alimentos mínimamente procesados y sin aditivos” (p.22). Dentro de estos productos antimicrobianos se pueden mencionar algunos metabolitos de bajo peso molecular como el ácido láctico y las bacteriocinas de origen proteico que inhiben la actividad de microorganismos que actúan como patógenos y alterantes dentro del alimento (Inocente et al., 2021, p.8).

2.1.2. Bioconservantes para productos cárnicos

Los bioconservantes o bioconservación en el ámbito de los productos cárnicos, hace referencia al incremento de la vida útil y de la seguridad de los alimentos utilizando su

microflora natural y sus productos antibacterianos (Rivadeneira y Zambrano, 2021, p.31)

Para Vallejo (2021) los bioconservantes “constituyen una sustancia que permite la conservación de productos cárnicos” (p.7). En este sentido, de acuerdo con Tibaduiza et al (2021) establecen que “la combinación del crecimiento bacteriano (temperatura, pH, aw, potencial redox etc.) y nuevas técnicas de conservación (atmósferas modificadas, bioconservación, altas presiones hidrostáticas) podrían establecer una serie de obstáculos más selectivos para el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes” (p.14).

Tabla 1

Alimentos y bacteria

| Tipo de alimentos | Bacteriocinas | Cultivos productores de bacteriocina |
|-----------------------------------|---|---|
| Carne cruda | Descontaminación de la superficie Inhibición de bacterias alterantes | Inhibición de bacterias alterantes |
| Productos cárnicos cocidos | Inactivación de patógenos en productos envasados al vacío Reducción de la formación del limo Barrera adicional frente a patógenos o alterantes en tratamientos combinados | Maduración acelerada |
| Productos fermentados | Barrera adicional en embutidos ligeramente fermentados y con PH menos ácidos. | Reducción de los niveles de bacteriocina |

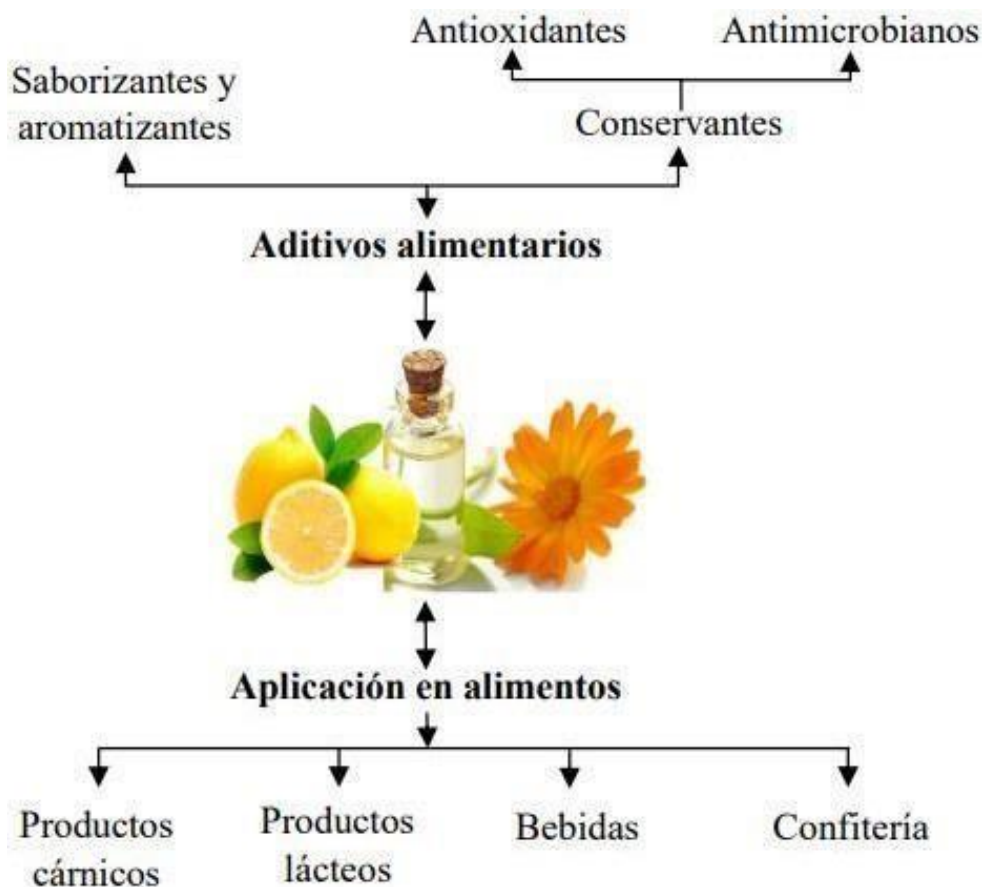
FUENTE: (Araújo, 2019).

Entre los bioconservantes de los productos cárnicos, se haya la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (ver figura 1) en donde existe una alteración de la membrana y la pared celular, penetrando fácilmente a través de estas gracias a su naturaleza (Cofre, 2022).

Esta acción antibacteriana es mayor en bacterias grampositivas debido a la presencia e interacción directa con la capa de peptidoglicano (Ruales, 2021, p.19). Mientras que, en las bacterias gramnegativas, su membrana externa contiene lipopolisacáridos que crean una barrera contra las moléculas hidrófobas, lo cual impide su paso y por ende mayor resistencia (Rodríguez, 2021, p.8).

Figura 1

Usos y aplicaciones de aceites esenciales como bioconservantes en productos cárnicos.



FUENTE: (Cofre, 2022).

En este sentido, establece Díaz y Salgado (2022) que, “las bacterias del ácido láctico (BAL) son microorganismos GRAS (reconocidos generalmente como seguros) los cuales constituyen una parte de la microflora inicial de la carne y que se desarrollan fácilmente después del procesado. El almacenamiento en refrigeración de carnes rojas en atmósfera modificada favorece el crecimiento de BAL inhibiendo a los microorganismos putrefactores lo que produce un alargamiento de la vida útil de la carne (p.12).

Por su parte Barcenilla (2019) argumenta que “los productos metabólicos de las BAL ejercer una función conservadora en los productos cárnicos, esto a través de diversos mecanismos sin embargo se considera que el principal es la producción de sustancias inhibitoras especialmente el ácido láctico y las bacteriocinas” (p.31), estas últimas responden a un compuesto antimicrobiano de naturaleza proteica, catiónicas, termoestables y que pueden ser inactivadas por las proteasas intestinales (Vargas, 2023, p.8).

2.1.3. Aceites esenciales

Los aceites esenciales comprenden una mezcla compleja de sustancias líquidas que se obtienen a partir del proceso de expresión, fermentación de las plantas como; flores, brotes, semillas, hojas, ramas, corteza, hiervas, frutas y raíces principalmente (Ruales, 2021, p.10). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales está basada en la alteración de la membrana y la pared celular, ya que pueden penetrar fácilmente a través de estas gracias a su naturaleza hidrófoba (Cofre, 2022, p.42)

Los aceites esenciales poseen un gran potencial antimicrobiano y antioxidante, por lo que suele emplearse como conservantes naturales satisfaciendo la demanda de alimentos seguros, sanos y nutritivos; ya que pueden actuar contra los microorganismos patógenos que causan enfermedades en los consumidores alargando la calidad y durabilidad (Llorens, 2021, p.30).

De acuerdo con Sánchez et al (2020) los aceites esenciales tienen una amplia variedad de compuestos químicos que “actúan estableciendo relaciones de sinergismo para realizar las actividades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas, antivirales, insecticidas, entre otras que los caracterizan” (p.10).

En este sentido, la actividad antimicrobiana y antioxidante de los aceites esenciales se pueden emplear en envases y empaques (envases activos) que van a proteger y le confieren directa o indirectamente al alimento las propiedades anteriormente mencionadas (Jiménez et al., 2022, p.5).

Respeto a las propiedades de los aceites esenciales son absolutamente definidos como agentes antimicrobianos y antioxidante, lo que permite en muchos casos la conservación de alimentos como los productos cárnicos frescos (Flores, 2022, 52).

En criterios de Cofre (2022) a excepción de algunos aceites, como la de las almendras amargas, que se producen por hidrólisis de heterósidos, estas esencias se encuentran como tales en la planta, “son sintetizadas y segregadas por determinadas estructuras histológicas especializadas, frecuentemente localizadas sobre o en la proximidad de la superficie de la planta: células oleíferas, conductos o cavidades secretoras, o en pelos glandulosos” (p.19).

Así mismo pueden estar depositadas en tejidos específicos como en el pericarpio de los frutos cítricos; en los pétalos de las rosas; en la corteza, tallo y hojas de la canela; en las maderas del alcanforero y sándalo; en los pelos glandulares de hojas, tallos y flores de la menta; en las raíces de la valeriana, entre otros (Cofre, 2022, p.21).

Para Piedad et al (2023) los aceites esenciales se caracterizan por ser generalmente líquidos a temperatura ambiente con un valor de densidad menor a la del agua, la mayoría de ellos se desvían la luz polarizada, poseen un índice de refracción elevado, volátiles, de color ligeramente amarillos o incoloros recién destilados, arrastrables por vapor de agua, pero muy poco solubles en agua, presentan solubilidad en alcoholes, disolventes orgánicos habituales y alcohol de alta gradación

En cuanto a las propiedades químicas de los aceites esenciales para Roca (2022) “los aceites esenciales presentan las siguientes; miscibilidad en etanol; índice de acidez y saponificación y éster; determinación de aldehídos y cetonas; formación de fenilhidrazonas; índice de aceto; técnicas cromatográficas; métodos espectroscópicos” (p.14)

En el mundo vegetal existen muchas especies oleaginosas y que poseen propiedades conservadoras, los aceites esenciales son en general líquidos a temperatura ambiente con un valor de densidad menor a la del agua, la mayoría de ellos se desvían la luz polarizada, poseen un índice de refracción elevado, volátiles, de color ligeramente amarillos o incoloros recién destilados, arrastrables por vapor de agua, pero muy poco solubles en agua, presentan solubilidad en alcoholes, disolventes orgánicos habituales y alcohol de alta gradación (Ceballos, 2022, p.11).

2.1.4. Aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*)

El culantro (*Eryngium foetidum*) han sido definido Rosero et al (2020) “es una hierba proveniente de América tropical y las Antillas, se empleó en diversas recetas relacionada a productos cárnicos por sus propiedades de conservación” (p.4).

Algunos estudios recientes como el de Landines (2022) indican esta planta es rica en calcio, hierro, caroteno, y riboflavina; y que sus hojas se utilizan mucho “como saborizantes y condimentos de algunos alimentos y que una composición variable de su aceite esencial, sobre todo, en sus hojas constituyen un conservante para los productos naturales en los que se aplica” (p.11).

El culantro (*Eryngium foetidum*) ha sido definida por Sánchez (2021) como una hierba terrestre bienal perteneciente a la familia *Apiaceae*, siendo de origen tropical muy frecuente en América, África y el Caribe, la cual tiene un ciclo de vida de seis meses aproximadamente y que se desarrolla principalmente en condiciones de sombra y humedad siendo el verano la época más favorable para crecer y desarrollarse.

En cuanto a sus propiedades oleaginosas, tiene hojas lanceoladas con los márgenes dentados y nervadura amarillenta, posee inflorescencias terminales muy ramificadas, compuestas por cabezuelas, sus flores son pequeñas de color blancas, azules y moradas dividida en 5 pétalos libres elíptico – oblongo; su fruto es globoso, comprimido lateralmente que en su madurez se separa en dos frutillos conteniendo cada uno, una semilla, las cuales son usadas para la propagación desde semillero y que se puede extraer aceite (López N. , 2018).

El culantro presenta dentro de su composición ácidos linoleico, oleico y ascórbico, el último responsable de sus propiedades antibacterianas, lo que la hace rica en antioxidantes y es antibacterial lo que lo hace propicio como un conservante en productos alimenticios especialmente como cárnico (Rodríguez, 2018).

De acuerdo con Roca (2022) “el efecto antioxidante de los polifenoles puede ser explicado mediante mecanismos químicos en los que se desactivan radicales libres a consecuencia de la presencia de estructuras aromáticas en las moléculas fenólicas” (p.10), esto gracias a diferentes procesos: los métodos ABTS y DPPH evalúan la capacidad de la muestra para neutralizar radicales libres.

2.1.5. *Bacteria ácida láctica (lactobacillus plantarum)*

El empleo de bacterias ácido-lácticas (BAL) “en la biopreservación de alimentos continúa tomando relevancia en los últimos años debido a la capacidad para controlar microorganismos patógenos y alterantes” (Sánchez, 2022, p.4).

Para Díaz y Loayza (2023) la aplicación de cepas biopreservantes como lo comprende la bacteria ácida láctica, así como de los extractos y metabolitos producidos por ellas, han demostrado tener control sobre diversos microorganismos no deseados consiguiendo alargar la vida útil de los alimentos y dar seguridad contra bacterias que puedan afectar la salud del consumidor.

Según Díaz y Salgado (2022) “el grupo de bacterias lácticas asociadas con los alimentos incluyen cocos de géneros: *lactococcus*, *streptococcus*, *pediococcus*, *leuconostoc* y bacilos de los géneros *Lactobacillus* y *Carnobacterium*” (p.24).

Las bacterias ácido-lácticas se caracterizan por producir una variedad de compuestos antimicrobianos, dependiendo de las condiciones del medio de crecimiento y de la cepa en concreto. Entre los compuestos que pueden producir se encuentran ácidos orgánicos (láctico, acético, fórmico, propiónico y butírico), etanol, ácidos grasos, acetoina, peróxido de hidrógeno, diacetilo, propionato, fenil-lactato, hidroxifenil-lactato, dipéptidos cíclicos, bacteriocinas, dióxido de carbono, entre otros (Fajardo et al., 2021, p.8).

Las bacterias ácido-lácticas eliminan o inhiben a la flora competidora es mediante la producción de ácido láctico, ácido acético y posiblemente bacteriocinas; existen otros compuestos antimicrobianos producidos por las BAL que no son de interés en bioconservación de productos cárnicos, debido a que son producidos en bajas concentraciones, como es el caso de la reuterina. Otras sustancias afectan negativamente las propiedades sensoriales, como el peróxido de hidrógeno o el diacetilo, mientras que otras acarrear problemas legales, como el ácido benzoico (Fernández, 2022, p.27).

González et al (2021) menciona que, dentro de las bacterias lácticas, “el grupo *Lactobacillus* es el más importante y heterogéneo, incluyendo especies con propiedades bioquímicas y fisiológicas muy diferentes” (p.11). Las bacterias lácticas “no necesitan oxígeno para crecer, son tolerantes a la presencia de CD₂, nitritos, humo y concentraciones de sal relativamente altas y toleran valores de pH bajos” (Díaz y Salgado, 2022).

En cuanto a los productos cárnicos, las condiciones existentes en las carnes envasadas a vacío, en las curadas y en los productos cárnicos favorecen el crecimiento de estos microorganismos, en la carne envasada a vacío los microorganismos dominantes son *Lactobacillus sp*, *Leuconostoc sp* y *Carnobacterium sp* (Ruales, 2021, p.16).

De acuerdo con Sánchez (2022) “la utilización de los carbohidratos disponibles en el alimento y la reducción del pH a causa de los ácidos orgánicos producidos, son el principal mecanismo de antagonismo microbiano de las bacterias lácticas” (p.42).

Estas bacterias también producen otras sustancias antagonistas dentro de las cuales se destacan el diacetilo, peróxido de hidrógeno, acetaldehído, compuestos no proteicos de bajo peso molecular y las bacteriocinas (Piedad et al., 2023, p.15).

Los ácidos orgánicos contribuyen al desarrollo de sabor, aroma y textura de los alimentos, pero también a su estabilidad mediante la inhibición de microorganismos alterantes. La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos y del pH es complementaria, siendo la fracción no disociada de los ácidos orgánicos la que posee una mayor actividad inhibidora debido a su naturaleza lipofílica, ya que pueden atravesar la membrana celular y disociarse en el citoplasma (Flores, 2022, p.18).

Estas moléculas pueden ejercer dos efectos: por un lado, interfieren con funciones celulares, como puede ser la translocación de sustrato y la fosforilación oxidativa, por otro lado, la disociación de los ácidos orgánicos provoca el incremento de protones en el interior celular (Sánchez, 2021, p.8).

Araújo (2019) indica que cuando la concentración de protones “excede la capacidad tampón del citoplasma se transportan hacia el exterior mediante bomba de protones, reduciendo de esta manera las reservas energéticas de la célula” (p.8). Cuando estas reservas se agotan, la bomba de protones se detiene y se provoca el descenso del pH interno, lo cual causa a su vez desnaturalización de las proteínas y desestabilización de otros componentes estructurales y funcionales de las células, interfiriendo así con la viabilidad (Bohrer, 2019, p.11)

Las bacterias lácticas pueden sobrevivir y desarrollarse en presencia de pH relativamente bajo a diferencia de otros grupos microbianos con metabolismo respiratorio, pues poseen un sistema de transporte simultáneo de ácido láctico y de protones al exterior celular, que además de contribuir a la homeostasis del pH interno, origina energía (López, 2020, p.17).

2.1.6. Técnica de encapsulamiento

La encapsulación comprende una “técnica que permite el empaquetamiento de alimentos, o materiales como aceites, bacterias probióticas, enzimas, lactosuero, pigmentos vegetales, minerales, vitaminas y aditivos alimenticios” (Díaz et al., 2023).

En este sentido, los principales agentes utilizados para encapsular son polivinil alcohol, alginatos, lípidos, carbohidratos, gomas y proteínas; esta encapsulación se lleva a cabo a través de procesos físicos o mecánicos; en los procesos químicos se encuentran, coacervación, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento en liposomas, inclusión molecular y en los procesos mecánicos están las técnicas de co-cristalización, secado congelamiento/enfriamiento, extrusión y por último se encuentra la técnica de secado por aspersión, siendo esta la más importante y utilizada en la industria alimentaria (Basantez, 2022).

La encapsulación de aditivos para la industria de alimentos comprende una técnica arcaica; sin embargo, cada día encuentra mayor aplicación en resolver problemas para la conservación de productos alimenticios al mantener su calidad organoléptica (Díaz et al., 2023, p.6).

Los aditivos encapsulados presentan mayor estabilidad a factores ambientales y limitansu interacción con otros ingredientes, asegurando los distintos efectos que se requieren. En el caso de aditivos funcionales para el organismo, como minerales, vitaminas y probióticos, la encapsulación otorga un mayor beneficio asegurando que su liberación sea controlada (Zamora y Rodiles, 2020, p.15). Para Basantez (2022) “la técnica de encapsulación de aditivos se considera como un factor de competitividad entre industrias ya que permite ofrecer al consumidor un producto con mejores cualidades organolépticas y funcionales” (p.10).

De acuerdo con las estipulaciones de Díaz et al (2023) la encapsulación, “Es un método físico que consiste en el atrapamiento de agentes bioactivos (aromas, sabores, vitaminas, enzimas, entre otros) y microorganismos en una matriz que puede ser o no polimérica, de esta manera la encapsulación los protege de las condiciones adversas del entorno al que sonsometidas” (p.32)

En este sentido, los procesos de encapsulación se pueden dividir en dos: procesos químicos y procesos físicos. En cuanto a los procesos químicos, estos se dividen en las técnicas de coacervación y los demás que se mencionan a continuación_; dentro de los procesos físicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Díaz et al., 2023).

2.1.6.1. Técnicas de encapsulación químicas.

a) Coacervación.

Comprende un método químico de separación de las fases líquido-líquido de forma espontánea, ocurre al mezclar polielectrolitos de cargas opuestas en un medio acuoso. Esta puede ser simple o compleja: para la simple se utiliza solo un tipo de polímero y la adición de agentes fuertemente hidrofílicos a la solución coloidal, mientras que en la compleja se usan dos o más polímeros. De acuerdo Brignone (2020) “el coacervado es el soluto polimérico separado en forma de pequeñas gotas líquidas. La presencia del coacervado alrededor de pequeñas gotas insolubles forma capsulas” (p.15).

b) Co-cristalización.

Constituye un proceso de encapsulación donde dos ingredientes son incorporados en un conglomerado poroso de microcristales de sacarosa formados por cristalización espontánea (Mallea, 2022). En este caso, los procesos son llevados a cabo por concentración de jarabes de sacarosa hasta supersaturación. Lo anterior se logra con agitación constante del material a encapsular, esto permite una nucleación y aglomeración del producto (Díaz et al., 2022)

Para Mallea (2022) “la co-cristalización comprende una alternativa flexible y económica por ser un procedimiento relativamente simple; numerosos productos pueden ser encapsulados como jugos de frutas, aceites esenciales, saborizantes, aromatizantes y azúcar morena (sacarosa) etc” (p.13).

Finalmente, se puede indicar que la estructura del cristal de sacarosa puede ser modificada para formar agregados de cristales muy pequeños que incorporan los sabores, un ejemplo puede ser la cristalización espontánea del jarabe de sacarosa lograda a altas temperaturas (cerca de 120 °C). Durante el proceso, el líquido saborizado es transformado en gránulos secos y algunos compuestos termosensitivos pueden ser degradados (Jarrín, 2021).

c) Polimerización interfacial.

Constituye un proceso que produce la polimerización de un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana, que dará lugar a la pared de las microcápsulas (Simba, 2022).

Para este proceso se siguen tres pasos: el primero corresponde a la dispersión de una solución acuosa de un reactante soluble en agua, en una fase orgánica para producir una emulsión de agua en aceite. El segundo se basa en la formación de una membrana polimérica en la superficie de las gotas de agua, iniciada por la adición de un complejo soluble en aceite a la emulsión anterior. Y el tercero se trata de la separación de las microcápsulas de la fase orgánica y su transferencia en agua para dar una suspensión acuosa (Simba, 2022).

Finalmente, la separación de las microcápsulas se puede llevar a cabo por centrifugación. La selección del método de encapsulación está en función del: tamaño medio de la partícula requerida, de las propiedades físicas del agente encapsulante, de la sustancia a encapsular, de las aplicaciones del material encapsulado propuesto, del mecanismo de liberación deseado y del costo (Jácome, 2022).

d) Gelificación iónica.

Existen dos técnicas de gelificación: Gelificación iónica o externa y la interna, está pertenecen a la gelificación externa, la sal de calcio soluble es agregada a una emulsión A/O. El tamaño de partícula no puede ser bien controlado y las partículas tienden a coagular en grandes masas antes de adquirir la consistencia apropiada. Además, el tamaño de partícula que se obtiene es grande entre 400 μm y 1 mm (Ceballos, 2022, p.7).

e) Gelificación interna.

La gelificación interna se basa en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble en una solución de alginato de sodio. Esto se lleva a cabo por acidificación de un sistema aceite-ácido soluble, con participación en la fase acuosa del alginato. Esta técnica permite obtener partículas de un tamaño de aproximadamente 50 μm . De acuerdo con esta técnica, a la fase acuosa, generalmente formada por alginato y carbonato cálcico, se le adiciona la fase oleosa (aceite vegetal, Span 80 y ácido acético) (Pérez, 2022).

f) Incompatibilidad polimérica.

En este se utiliza el método del fenómeno de separación de fases, en una mezcla de dos polímeros químicamente diferentes e incompatibles en un mismo solvente (Barbecho, 2019).

El material por encapsular interaccionará solo con uno de los dos polímeros, el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular, formando una película que los engloba. De manera general, este proceso se lleva a cabo en solventes orgánicos y cuando el material a encapsular es sólido (Pérez, 2022).

g) Atrapamiento por liposomas e inclusión molecular.

Para la aplicación en sistemas alimenticios líquidos, la mejor forma para proteger ingredientes hidrosolubles es por encapsulación en liposomas. Son una única o multicapa de fosfolípidos conteniendo cualquier componente lipofílico. Puede describirse como vesículas que se forman cuando películas de fosfolípidos son dispersadas en un medio acuoso, son selectivamente permeables a iones y se pueden formar cuando una solución acuosa de sustancia activa es mezclada con la película del lípido; su aplicación en alimentos es posible si solventes no orgánicos son utilizados, por ejemplo, empleando deshidratación (Zamora y Rodiles, 2020).

Materiales hidrofóbicos e hidrofílicos pueden ser atrapados en liposomas que también pueden ser utilizados para la liberación de vacunas, enzimas y vitaminas del cuerpo; estos materiales consisten en una o más capas de lípidos no tóxicos y aceptables en alimentos; sin embargo, la permeabilidad, estabilidad, actividad superficial y afinidad pueden variar con el tamaño y composición del lípido. La liberación del principio activo se realiza por difusión a través de la bicapa, por destrucción de la vesícula, por medio de una concentración crítica de iones de calcio o por un cambio de pH (Díaz et al., 2022).

h) Inclusión molecular.

Esta técnica es definida como el resultado de interacciones entre componentes en los cuales una pequeña molécula se ajusta dentro de otra y es rodeada por la forma circular de la otra molécula que es el agente encapsulante, en este caso es la ciclodextrina. A través de este proceso se pueden proteger sabores y otros ingredientes sensibles al calor que son adicionados en alimentos, aceite de ajo, cebolla y vitaminas A, E, K (Zamora y Rodiles, 2020).

2.1.6.2. Técnicas de encapsulación físicas.

a) Aspersión.

Este comprende una técnica de microencapsulación por el método de secado por aspersión es el método más común de encapsulación de ingredientes alimenticios, como ejemplos se tienen: vitaminas (C, E), ácido fólico, aromas, orégano, citronela, aceite de cardamomo, bacterias probióticas, lípidos, ácido linoléico, aceites vegetales; minerales como hierro; pigmentos de antocianina y leche entre otros alimentos (Barcenilla, 2019).

Para Basantez (2022). Este método es el más utilizado en la industria alimenticia por ser el más económico que el anterior de co-cristalización para, conservar los nutrientes disponibilidad fácil de equipamientos, costos de procesamiento bajo, buena estabilidad del producto final y flexible. En comparación con otros métodos, el secado por aspersión proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta (p.12).

En cuanto a la mayor eficiencia de encapsulación que se alcanza con el secado por aspersión, se encuentra entre 96 y 100%, valores superiores en comparación con otros métodos (Zamora y Rodiles, 2020). Dentro de los parámetros más importantes a controlar durante el secado por aspersión se encuentran: las temperaturas de entrada y salida del aire de secado, el flujo de alimentación del producto a secar, el tiempo de residencia y el acondicionamiento de la materia prima. Al respecto, el proceso de secado por aspersión involucra tres etapas: preparación de la dispersión o emulsión, homogenización y atomización (Troya, 2022).

Finalmente, este proceso consiste en atomizar el material que se encuentra en estado líquido, ya sea como solución o como dispersión, formándose al final finas gotas sobre una corriente de gas calentado, cuando las pequeñas gotas del líquido toman contacto con el gas, y a una mayor temperatura, se produce una rápida evaporación del solvente formándose una fina película del material de recubrimiento que se encuentra (Díaz et al., 2022). El autor concluye que, en este método el componente o sustancia a encapsular es rodeado por una matriz protectora, normalmente un polímero como goma acacia, maltodextrina, almidón y carbometil celulosa.

b) Aspersión por enfriamiento o congelamiento.

Es el método que se considera más adecuado para el secado de materiales biológicos y alimentos sensibles (Barcenilla, 2019). La aspersión por enfriamiento y congelamiento involucran dispersión de ingredientes solubles en agua en una grasa fundida o cera; esta dispersión se realiza a través de inyectores con calefacción dentro de una cámara a temperatura ambiente o temperatura de refrigeración; si la cámara está a temperatura ambiente, el material de encapsulación tendría un punto de fusión entre 45 y 122 °C y si la cámara está fría, los materiales fundirían a 32-42 °C pudiendo ser utilizados (Basantez, 2022). Las microcápsulas son insolubles en agua, es por ello que podría ser liberado su contenido cuando la temperatura del producto alimenticio aumenta por encima de la temperatura de fundición de la grasa o cera (Zamora y Rodiles, 2020).

De acuerdo con Vallejo (2021). Una variante del secado por aspersión consiste en enfriamiento o congelamiento, donde el material a encapsular es mezclado con el acarreador y es atomizado por medio de aire frío.

Las microcápsulas son producidas por nebulización de la emulsión o suspensión que contiene el material y la sustancia activa puede ser sólida o líquida. Las coberturas empleadas usualmente son aceites vegetales, de esta manera se pueden encapsular líquidos sensibles al calor y materiales que no son solubles en disolventes convencionales (p.31).

La reducción de la temperatura produce una “solidificación del lípido y el atrapamiento de la sustancia activa en el centro de la cápsula” (Simba, 2022). La aspersión por enfriamiento es usualmente empleada para encapsular compuestos químicos como sulfato ferroso, vitaminas, minerales, acidulantes, sabores y aromas, productos de panadería, sopas en polvo y alimentos conteniendo un alto nivel de grasa (Zamora y Rodiles, 2020).

La selección del proceso de encapsulación para una aplicación considera el tamaño medio de la partícula requerida, las propiedades físico-químicas del agente encapsulante y la sustancia a encapsular (Castellanos et al., 2022). En la aspersión por congelamiento, el material de cubierta es derretido y atomizado a través de una boquilla de neumático en un vaso, generalmente este contiene un baño de hielo de dióxido de carbono (CO₂), (temperatura -50 °C) en una cama fluidizada derretida (Brignone, 2020).

Así, las gotas se adhieren sobre las partículas y forman una película de cubierta solidificada. Estos procesos son adecuados para protección de algunos materiales hidrosolubles, que pueden de manera diferente ser volatilizados o dañados durante el procesamiento térmico (Brignone, 2020).

c) Extrusión (EX).

Comprende un proceso rápido, simple y económico; considerada como la técnica de encapsulación más antigua que se conoce. Este proceso consiste en formar una disolución entre un componente hidrocoloide y el componente de interés, para inyectarla a través de un orificio de boquilla y formar perlas (Zamora y Rodiles, 2020, p.22).

La EX se puede realizar con un instrumento básico como una jeringa o uno muy complejo como una extrusora de fusión, que dependerán de los encapsulados que se desea obtener. La microencapsulación por extrusión involucra el paso de una emulsión del material activo y el material pared a través de un dado a alta presión. La extrusión constituye el segundo proceso más usado, después del secado por aspersion, para la encapsulación de sabores (Zamora y Rodiles, 2020, p.22).

Un proceso típico involucra la mezcla de sabores con jarabe de maíz o almidón modificado caliente, extrudiendo la mezcla en forma de esferitas (pellets) dentro de un baño con un disolvente frío como el iso-propoanol. El disolvente frío solidifica el jarabe en un sólido amorfo, bañando los sabores (Parra Huertas, 2010).

d) Procesos alternos.

En cuanto a los procesos alternos, se tienen los antisolventes supercríticos (ASS) es una técnica análoga al secado por aspersion, el alimento es continuamente llevado a un proceso de aspersion dentro de dióxido de carbono (que actúa como antisolvente en la mayoría de polímeros incluyendo lisozima) (Tibaduiza et al., 2021). La técnica y sus variaciones, requieren polímeros disueltos en un solvente o mezcla (llamados co-solventes) miscibles con CO₂ para luego ser pulverizado dentro de CO₂ (Barcenilla, 2019).

El potencial de la aplicación de ASS en el área de alimentos ha sido recientemente mostrado para la microencapsulación de la nisina en nanopartículas de poli (L-láctico) (PLA), su naturaleza hidrofóbica permite la interacción intermedia con la nisina de una manera controlada (Zamora y Rodiles, 2020, p.26).

En cuanto a los procesos de microfluidización y tecnologías basadas en líquidos, dentro de los más utilizados, está el flujo induciendo cizalla de líquidos y otros agregados blandos para producir o mantener dispersión de nano tamaños de los materiales procesados (Becerra et al.,2022). La microfluidización es una tecnología en el procesamiento de los alimentos, especialmente en los productos lácteos, y ha sido empelada en la producción de liposomas submicrón para la liberación de sulfato de hierro, ácido ascórbico y otros componentes hidrofílicos mal absorbidos, además para la encapsulación de cultivos probióticos (Zamora y Rodiles, 2020, p.28).

2.1.7. Métodos para controlar la liberación

Al exponer las técnicas de encapsulamiento, es importante definir los métodos para controlar la liberación. En este sentido; la liberación controlada puede ser definida como un método por el cual agentes o ingredientes están disponibles en sitios y tiempos deseados a una velocidad específica (Simba, 2022). Es por ello que Tibaduiza et al (2021). Consideran que una ventaja importante es que el compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado a velocidades controladas bajo la influencia de condiciones específicas. Para lograr con éxito la liberación deben tenerse en cuenta los siguientes aspectos: selección de la membrana, naturaleza química, morfología, temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de cruzamiento también influyen en la difusión de la membrana, aunque pueden disminuir la velocidad de liberación (FMO, 2022).

Para Zamora y Rodiles (2020) “los métodos de liberación de las cápsulas se pueden llevar a cabo por disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla, temperaturas, reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica” (p.14). En palabras del autor, esta liberación de componentes de una cápsula puede ser controlada por difusión de la pared de la cápsula o por una membrana que cubre la pared.

La eficiencia de la liberación controlada principalmente depende de la composición y estructura de la pared, pero también de las condiciones de operación durante la producción y uso de estas partículas (temperatura, pH, presión, humedad) (Basantez, 2022). Además, el autor refiere que, de los parámetros anteriores, la liberación controlada está en función del tipo de polímero empleado que puede ser hidrofílico o lipídico.

Es por lo que los mecanismos fundamentales de liberación son la difusión y la erosión. La difusión se rige por la entrega del medio acuoso al interior del sistema donde disuelve al fármaco y difunde a través del material polimérico, creando poros por los cuales se libera el resto de los fármacos contenidos en las microesferas (Zamora y Rodiles, 2020).

En la erosión se pone de manifiesto un mecanismo de liberación por relajación de las macromoléculas, lo cual está determinado por la biodegradabilidad intrínseca del polímero y las características del medio de disolución en que se encuentra (Brignone, 2020).

La erosión trae consigo el cambio constante de la geometría y como resultado de ello la liberación del principio activo estará influenciada por una combinación de ambos mecanismos (difusión/erosión) que no es más que la degradación de las microesferas (Brignone, 2020).

De acuerdo con Sánchez (2021) la liberación controlada de las cápsulas consta de tres etapas:

1. Liberación inicial del principio activo enlazado a la superficie o embebido en la región superficial de la M.E.
2. Liberación difusional del principio activo a través de la matriz del polímero y a través de los poros durante la degradación de la matriz.
3. Liberación erosional del principio activo por la desintegración de la matriz del polímero y disolución después que la matriz pierde su integridad y las cadenas del polímero, son degradadas a un tamaño lo suficientemente pequeñas como para ser solubilizadas (p.32).

Por otro lado, es clave mencionar que existen varios factores que afectan la liberación del principio activo desde estos sistemas. Entre ellos se encuentran la composición y masa molecular del polímero, el contenido de principio activo, el tamaño y porosidad de las microesferas y las características físico-químicas del principio activo (Castellanos et al, 2022)

Finalmente, la calidad de las cápsulas obtenidas por los métodos de encapsulación dependerá del resultado obtenido y más si se realizan análisis de verificación determinando su calidad, dentro de esos análisis están: cenizas, humedad, higroscopicidad, solubilidad, actividad acuosa, rendimiento de proceso, morfología y tamaño de las microcápsulas, estabilidad de color, análisis sensorial, peso, densidad, unitaria del encapsulado y distribución celular (Tibaduiza et al., 2021)

2.1.8. Encapsulamiento para productos cárnicos ahumados

El encapsulamiento para productos cárnicos ahumados comprende una forma de conservación. Las carnes que se van a someter al ahumado deberán estar condimentadas o por lo menos con el nivel de sal mínimo necesario (Sánchez, 2022, p.15).

Esto comprende una preparación, respecto a mezclas de sal y condimentos, que se frota en la superficie de las carnes y se dejan en reposo. Dentro del problema se debe eliminar la humedad superficial, y se prepararán para la disposición en el ahumador (Sánchez, 2022, p.15).

Para Barbecho (2019). Las carnes se preparan amarrándolos con el cordel de tal manera que permita colgarlos en el gancho. Generalmente una amarra horizontal en la parte superior y otra en la parte inferior, unidas por una amarra vertical a lo largo del cuerpo de los animales pequeños son suficientes para mantenerlos colgados, en el caso de las piezas de cerdo y de res, es necesario mayor cantidad de amarras. En este sentido el proceso de ahumado es una de las técnicas de conservación de alimentos, en donde se obtiene un producto con sabor, olor y color aceptable para el consumidor (p.32).

Esta característica es proporcionada por los componentes presentes en humo; dichos componentes que se aplican a los diversos alimentos son agentes multifuncionales; actúan como factores saborizantes, bacteriostáticos y anti oxidativos, la concentración en las que se presentan las propiedades, bacteriostáticas y de antioxidación son muy limitadas para los niveles en los cuáles son aceptables para su efecto saborizantes (Vallejo, 2021, p. 13).

2.2. Marco referencial

2.2.1. Antecedentes

Esta investigación está enmarcada en estudiar el efecto de dos bioconservantes: aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) mediante la técnica de encapsulamiento para productos cárnicos ahumados (chuleta de cerdo)

Partiendo de este objetivo se analizaron diversas investigaciones que partieron de la identificación del proceso de conservación de alimentos, en este se examinan la necesidad de prolongar la vida útil de los mismos contra los microorganismos que los estropean y hacen inseguro su consumo, a través del aceite esencial y la bacteria ácido-láctica.

Hoy en día se emplean conservantes sintéticos para evitar la descomposición y deterioro de los alimentos, pero las recientes políticas de aprobación y la preferencia de los consumidores hacia el consumismo orgánico proporcionan una oportunidad para que los productos naturales tradicionalmente usados sean una alternativa complementaria, bajo este precepto se definen los objetivos de este estudio.

2.2.2. Método de encapsulación del *Lactobacillus plantarum*

(Peredo, 2016). Este autor encapsuló mediante el método de coacervación compleja mediante aspersión, donde se demostró que el método es apropiado para generar cápsulas con (*Lactobacillus plantarum*), manteniendo su viabilidad durante la encapsulación.

2.2.3. Aceites esenciales en la conservación de alimentos

Un primer estudio que constituye fundamento para esta investigación es el de Valeria Ceballos y Lina Londoño (2018) titulado “*Aceites esenciales en la conservación de alimentos*” en este mencionan que, desde la antigüedad, los aceites esenciales se han empleado por su potencial plaguicida contra una amplia variedad de plagas agrícolas como parte de las prácticas tradicionales. Pero que, su aplicación como agente antimicrobiano y antioxidante es una tendencia creciente y reciente que refleja el interés hacia el “*consumismo verde*” y hacia la prolongación de la vida útil de los alimentos.

Los aceites esenciales de plantas aromáticas como el culantro han sido objeto de una amplia investigación no sólo por ser un producto natural utilizado por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes para la conservación de los alimentos (Ceballos y Londoño, 2018, p.23).

El estudio de Ceballos y Londoño comprendió una revisión que permitió compilar la información actual con relación al uso de aceites esenciales en el proceso de conservación de los alimentos. Las investigadoras emplearon una metodología de revisión bibliográfica referente a los aceites esenciales en la conservación de alimentos, utilizando bases de datos Science Direct y EBSCO host utilizando los términos *essential oils* y *food conservation*, empleando el conector Booleano “AND”. Las bases de datos arrojaron 14.042 y 362 resultados, de los cuales 418 y 355 eran de acceso libre respectivamente, segmentaron sus fuentes en los últimos cinco años (Ceballos y Londoño, 2018, p.23).

Los principales resultados permitieron evidenciar que, los componentes fenólicos son mayormente responsables de los efectos conservadores de los aceites esenciales en términos de propiedades antibacterianas y antioxidantes, se evidenció que posee propiedades antifúngicas, insecticidas, repelentes de insectos, acaricidas, larvicidas, antihelmínticas, antiinflamatorias, citotóxicas, antibióticas, anti carcinógenas, por lo que se utiliza en diferentes industrias como la de alimentos (Ceballos y Londoño, 2018, p.23).

La gran eficacia en diferentes áreas de los aceites esenciales está dada precisamente por la diversidad de sus componentes, ya que considerando el elevado número de compuestos identificados es difícil atribuir la responsabilidad de la actividad antimicrobiana o antioxidante a un compuesto específico, por lo que se ha sugerido que dicha actividad no

está asociada exclusivamente con un constituyente específico, sino que se trata más bien de un efecto sinérgico de todos los constituyentes contenidos (Ceballos y Londoño, 2018, p.23).

La investigación concluyó en la que las propiedades de los aceites esenciales como el culantro silvestre y que se derivan de las plantas pueden ser utilizados como agentes antimicrobianos y antioxidantes en los productos alimenticios tanto para prolongar su vida útil como para mantener y potenciar su calidad y características organolépticas. Constataron que su aplicación reemplazaría el uso de los preservantes y compuestos antimicrobianos sintéticos que pueden causar daños potenciales a los consumidores, además, existe una tendencia creciente hacia el consumo y uso de productos naturales como son los aceites esenciales, rechazando así los productos sintéticos (Ceballos y Londoño, 2018, p.23).

Estos aceites pueden ser usados directamente en el producto (alimento) o en empaques activos. Es fundamental comprender el efecto de los aceites esenciales y optimizar sus combinaciones para su uso en la preservación con el fin de aprovechar mejor sus efectos sinérgicos contra el deterioro y los organismos patógenos; así mismo se hace necesaria la realización de nuevos estudios sobre la citotoxicidad para una mejor comprensión del papel antibacteriano de los aceites esenciales (Ceballos y Londoño, 2018)

2.2.4. Uso de las bacteriocinas como bioconservantes

En otro estudio, como es el de Grande et al (2018) se investigó sobre la bioconservación de alimentos cárnicos en donde se definió que las bacteriocinas, así como las cepas bacterianas que las producen, han sido ampliamente estudiadas para la conservación de los alimentos por métodos naturales (bioconservación). En productos cárnicos, los investigadores establecieron que se han desarrollado numerosos estudios empleando bacteriocinas como nisina, pediocinas y otras, bien solas o aplicadas con otros antimicrobianos (como ácidos orgánicos o agentes quelantes) o tratamientos (como el calor, las altas presiones o la luz pulsada) para la inactivación de bacterias patógenas o alterantes (Grande et al., 2018).

Así mismo especificaron que los resultados de muchos de estos tratamientos son bastante prometedores, como por ejemplo el empleo de bacteriocinas como recubrimientos protectores en salchichas o productos ahumados (Grande et al., 2018).

Las cepas de bacterias lácticas seleccionadas por su capacidad productora de bacteriocinas ofrecen buenas perspectivas como cultivos protectores, pero sobre todo como cultivos iniciadores en la elaboración de productos cárnicos fermentados, mejorando la seguridad microbiológica de los mismos. El empleo de cultivos iniciadores bacteriocinogénicos con propiedades funcionales definidas abre nuevas vías para la innovación y el desarrollo de nuevos productos cárnicos fermentados (Grande et al., 2018).

Los investigadores también analizaron el control de bacterias patógenas y alterantes en carne cruda, las bacteriocinas han sido ensayadas en la conservación de carne cruda, o bien en combinación con otros antimicrobianos para la descontaminación y/o inhibición del crecimiento bacteriano en carne fresca almacenada (Grande et al., 2018).

En cuanto a las técnicas empleadas, se pudo evidenciar que se han aplicado en forma de lavado, pulverización o inmersión en soluciones de bacteriocina sola o en combinación con otros agentes antimicrobianos para potenciar su actividad. Para incrementar la eficacia del tratamiento, y también para evitar la contaminación cruzada, la carne cruda tratada ha sido congelada, envasada en diferentes condiciones atmosféricas tales como el envasado al vacío, atmósferas modificadas, o envasado activo con agentes secuestradores de O₂ o sistemas generadores de CO₂ (Grande et al., 2018).

También se han utilizado métodos adicionales como la irradiación en dosis bajas, descontaminación de la superficie con luz UV o las altas presiones (Aymerich et al., 2008). Todos estos tratamientos durante el procesado actúan sobre el microbiota inicial y pueden actuar sinérgicamente con las bacteriocinas para aumentar la seguridad y vida útil del alimento. Aunque los productos de carne cruda son procesados antes de su consumo mediante tratamientos que normalmente destruyen las bacterias patógenas, éstos pueden ser una fuente considerable de contaminación cruzada e incluso en algunos casos pueden producir toxinas microbianas termoestables (Grande et al., 2018).

Finalmente, los investigadores concluyeron que las bacteriocinas o sus bacterias productoras ofrecen buenas oportunidades para la conservación de productos cárnicos, adicionadas de forma individual o empleadas junto con otras barreras o tratamientos. En el mercado existen preparados que contienen la bacteriocina nisina, para aplicación en una amplia variedad de alimentos. También existen inóculos o cultivos protectores a base de bacterias lácticas que son empleados por la industria cárnica en la elaboración de alimentos fermentados (Grande

et al., 2018).

El empleo de cultivos iniciadores con propiedades funcionales (incluyendo su carácter probiótico) es un aspecto poco estudiado aun, y constituye un campo interesante de investigación para el desarrollo de productos más seguros, enriquecidos en sabor de forma más natural, o con propiedades funcionales (Grande et al., 2018).

El estudio de Robinson Rodríguez constituyó una revisión sistemática aplicando la declaración PRISMA (Preferred Reported Items for Systematic review and Meta-Analyses) con el fin de obtener una síntesis de información adecuada mediante un proceso de identificación, cribado, elegibilidad e inclusión, con lo cual se realizó un análisis estadístico para determinar los mejores estudios que contribuyeron al cumplimiento de los objetivos planteados dentro del proyecto (Rodríguez R., 2021).

Contó con 4 pasos sistemáticos que son: identificación, cribado, selección e inclusión de estudios. Se analizó el efecto bactericida de la nisina, evidenciando la prolongación de vida útil de los alimentos tratados y reducción de las unidades formadoras de colonia de los microorganismos patógenos. De igual manera se estudió la capacidad inhibidora in vitro reportada de nuevas bacteriocinas frente a distintos microorganismos en los que resalta *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, demostrando un alto espectro de inhibición bajo diferentes rangos de pH y *termoestabilidad* que permitiría su aplicación en diferentes alimentos. En este sentido, dichas características de las bacteriocinas las posicionan como una potencial alternativa a los conservantes químicos que se usan en la actualidad y así solventar una tendencia creciente del mercado en consumir productos con ingredientes naturales, sin embargo, es importante continuar realizando estudios para ampliar la variedad de bacteriocinas y promover su aplicación (Rodríguez, 2021).

El investigador concluyó que las bacteriocinas y sus características inhibidoras, amplios rangos de pH y su termoestabilidad las hacen idóneas para su aplicación como bioconservantes en alimentos y sustitución potencial de los conservantes químicos. Añadió que el continuo estudio de nuevas bacteriocinas permite que se expanda la posibilidad de aplicación en diferentes alimentos, ya que se pueden hallar bacteriocinas con mayores capacidades de inhibición y mejores características como bioconservante (Rodríguez, 2021).

Comprobó que el modo de acción de cada bacteriocina es diferente, esto es debido a diversos factores, como dosis de aplicación, nivel de purificación, tipo de cepa indicadora y las condiciones experimentales en las que se obtengan, provocando así que la bacteriocina tenga un efecto bactericida o bacteriostático frente a cada microorganismo patógeno (Rodríguez, 2021).

2.2.5. Efectos bioconservantes del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*).

Respecto a la investigación de los efectos del aceite esencial de culantro silvestre (*eryngium foetidum*) mediante la técnica de encapsulamiento para productos cárnicos ahumados (chuleta de cerdo) se analizó la investigación de Jaramillo (2022) titulado la “*Composición química volátil del aceite esencial de Eryngium foetidum L. colombiano y determinación de su actividad antioxidante / Volatile chemical composition of the essential oil from colombian Eryngium foetidum L. and determination of its antioxidant activity*” en donde el investigador, pudo dar a conocer el culantro (*Eryngium foetidum*) es una hierba nativa de América tropical y las Antillas y que se usa en diferentes recetas de comida típicas, el objetivo de investigación fue establecer la composición química volátil del aceite esencial obtenido de hojas y tallos frescos de *E. foetidum* y evaluar su actividad antioxidante.

La metodología empleada se basó en un procedimiento directo en donde el aceite esencial fue aislado usando la técnica de hidrodestilación, la composición química volátil se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a detectores de ionización en llama (GC-FID) y espectrometría de masas (GC-MS), la actividad antioxidante fue determinada mediante el ensayo de decoloración del radical DPPH. (2,2-difenil-1-picril hidracilo) (Jaramillo, 2022).

Los principales resultados demostraron que el aceite esencial de las hojas de *E. foetidum* presentó un alto porcentaje de aldehídos alifáticos (E-2-dodecenal, 5-dodeceno, tetradecanal, tetradecenal) y aromáticos (2,4,6-trimetilbenzaldehído, 3,4,5-trimetilfenol). La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición del radical DPPH. (89,39%). El investigador concluyó que en el aceite esencial de *E. foetidum* predominaron compuestos aldehídos alifáticos y aromáticos. El resultado del ensayo de DPPH. mostró que el aceite esencial posee una capacidad antioxidante alta, esto lo hace una fuente importante de antioxidantes naturales (Jaramillo, 2022).

2.2.6. Beneficios del uso de bacteriocinas para la bioconservación de la carne y derivados.

En este orden, los análisis investigativos de Karla Vallejo, también constituyen un eje fundamental que sostienen los objetivos propuestos para este estudio. En la investigación de Vallejo (2021) para Escuela Superior Politécnica de Chimborazo la investigadora propuso como objetivo principal reconocer los beneficios del uso de bacteriocinas para la bioconservación de la carne y derivados, para lo cual revisó fuentes bibliográficas de trabajos de titulación y artículos que se encuentran publicados en repositorios de Universidades nacionales e internacionales y en plataformas digitales.

Estableció que las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas son empleadas como bioconservantes naturales en carne; la nisina, *pediocina PA-1* y *enterocina A* son sobresalientes ya que inhiben la contaminación con microorganismos patógenos, al igual que el uso de *Lactobacillus plantarum* como cultivo protector. Los resultados obtenidos en el análisis de la investigación bibliográfica, revelaron que el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas complementadas con tratamientos físicos, tales como la presión hidrostática, químicos como películas protectoras entre otros que usan bacterias gram positivas, admiten la reducción del microbiota patógeno, inhibiendo a microorganismos gram negativos en su mayoría que se encuentran en carne y productos cárnicos (Vallejo, 2021).

La investigadora analizó los resultados de varias investigaciones en la conservación de productos cárnicos, especialmente en carne de res y cerdo, además de carne de pollo cruda, salami, hamburguesa de carne, salchichas, chorizo; en las cuales la nisina fue la bacteriocina más utilizada por su eficaz acción para inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en carne de res cruda y salami; por lo que el efecto conservante que producen permite el alargamiento de la vida útil del producto y asegura la inocuidad estos productos alimenticios para el consumidor final (Vallejo, 2021). Concluyó que las bacteriocinas inhiben patógenos, reduciendo la cinética del crecimiento logarítmico de estos en la fase de desarrollo microbiano durante el almacenamiento de estos productos cárnicos.

2.2.7. Bioconservación en productos cárnicos

Otro estudio que se expone a continuación y que respalda esta investigación es el de Pérez, (2022) sobre la bioconservación en productos cárnicos, en este el investigador especificó que “la industria cárnica está bajo el escrutinio del consumidor y mencionó como afectaciones, la BSE en ternera, las dioxinas en pollo, la fiebre aftosa en corderos, intoxicaciones alimentarias por Salmonella, Listeria, E. coli verocitotoxigénica etc.” (p.22).

Indicó que estas crisis se deben a los continuos brotes de toxiinfecciones causados por patógenos emergentes en carne y productos cárnicos demuestran que a pesar de los recientes progresos en tecnología de alimentos con la introducción de nuevas técnicas y conceptos de seguridad como el análisis de peligros y control de puntos críticos (APPC), el problema de la seguridad alimentaria no está todavía resuelto. La industria cárnica necesita aplicar nuevas estrategias a fin de implementar el concepto de salubridad total en sus productos (Pérez P. , 2022).

Su investigación respondió a un enfoque absolutamente bibliográfico, en el cual determinó que la combinación de obstáculos tradicionales al crecimiento bacteriano (temperatura, pH, aw, potencial redox etc.) y nuevas técnicas de conservación (atmósferas modificadas, bioconservación, altas presiones hidrostáticas) podrían establecer una serie de obstáculos más selectivos para el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes. Pérez analizó el concepto de bioconservación como estrategia a base de elementos conservadores orgánicos indicando que se hace referencia al incremento de la vida útil y de la seguridad de los alimentos utilizando su microflora natural y/o sus productos antibacterianos (Pérez P. , 2022).

Por otro lado, su proposición se basó a partir de los resultados más efectivos realizados sobre el empleo de bacterias del ácido láctico (BAL) ya que son microorganismos GRAS (reconocidos generalmente como seguros) que constituyen una parte de la microflora inicial de la carne y que se desarrollan fácilmente después del procesado. Estableció que como almacenamiento en refrigeración de carnes rojas en atmósfera modificada favorece el crecimiento de BAL inhibiendo a los microorganismos putrefactos lo que produce un alargamiento de la vida útil de la carne esto de acuerdo a las fuentes primarias que revisó (Pérez , 2022, p. 23).

El investigador también hizo énfasis en que los productos metabólicos de las BAL pueden ejercer un papel positivo en la conservación de la carne y de los productos cárnicos mediante varios mecanismos siendo el más importante la producción de sustancias inhibidoras especialmente el ácido láctico y las bacteriocinas. Definió que las bacteriocinas constituyen compuestos antimicrobianos de naturaleza proteica, catiónicas, termoestables y que pueden ser inactivadas por las proteasas intestinales. En cuanto a la conservación eficaz de productos cárnicos indicó que las BAL psicrotóficas y productoras de bacteriocinas tienen un buen potencial para ser utilizadas como bioprotectoras en este tipo de productos revisó (Pérez , 2022, p. 28).

Concluyó en su estudio que las bacteriocinas de las BAL han sido estudiadas en profundidad, sin embargo, los aspectos aplicados no han merecido la misma atención, indicó que las limitaciones que pueden presentar la aplicación de bacteriocinas pueden ser solventada con la aplicación de barreras complementarias y sinérgicas como el lactato sódico o potásico o técnicas físicas emergentes de conservación como las altas presiones (Pérez, 2022, 31).

Manifestó que se han publicado numerosas aplicaciones que eliminan con éxito la presencia de *Listeria monocytogenes* de salchichones y fiambres, en jamón cocido loncheado y envasado al vacío y en frankfurts aplicándolo bien en la superficie o en forma de tripas activas. La aplicación conjunta de bacteriocinas y altas presiones en jamón cocido o ahumado permitió la eliminación de *Salmonella* y de *Escherichia coli* que habían sido inoculadas artificialmente. Asimismo, la aplicación de bacteriocinas permite eliminar las bacterias productoras de limo en productos cocidos que sin ser patógenas alteran el producto provocando un rechazo por parte del consumidor alargando de esta forma la vida útil del producto (Pérez, 2022, 31).

2.2.8. *Lactobacillus plantarum* como bioconservante en productos cárnicos

(Barros, 2016). En su investigación demuestra la posibilidad de elaborar bioconservantes a partir de *L. plantarum* y *P. pentosaceus* ya que está comprobado que estos microorganismos tienen la capacidad de producir metabolitos antimicrobianos sobre microorganismos patógenos (*E. coli* O157:H7 y *L. monocytogenes*) y también sobre las bacterias alterantes de la carne.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

3.1. Localización.

Parte del desarrollo de la investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Finca Experimental “La María” Ubicado en el Kilómetro 7 1/2 Vía Quevedo – El Empalme, Cantón Mocache, Provincias de los Ríos, cuya ubicación Geográfica es de 1° 3’18” de latitud Sur y 79°25’ 24” de longitud oeste, con una altitud de 77.6 msnm

Además, en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE que se encuentra ubicada en la provincia de Santo Domingo, en la parroquia Luz de América en el Km 24.

3.1.1. Materia prima.

- Chuletas de cerdo “ *Sus Scrofa* ” las cuales fueron obtenidas en una granja ubicada en el cantón el Empalme – Av. Guayaquil
- *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) el cual fue recolectado en una finca ubicada en el cantón el Empalme – Av. Guayas.
- *Lactobacillus plantarum* la bacteria ácido láctica con la que se trabajó en este proyecto de investigación fue donada por el departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE)

3.2. Tipo de investigación.

3.2.1. Investigación experimental.

La investigación aplicada es de tipo experimental, donde en primeras instancias se elaboraron los bioconservantes y las chuletas de cerdo ahumadas, una vez fueron aplicados los bioconservantes se esperó un tiempo determinado para poder realizar los análisis y obtener los datos de cada uno de los tratamientos y así determinar cuál de estos tiene un mejor efecto bioconservante en los productos cárnicos ahumados.

3.2.2. Investigación analítica.

Mediante este tipo de investigación estudie y demuestre los diversos datos obtenidos dentro de la investigación, los cuales son: análisis bromatológicos y análisis microbiológicos de los diferentes tratamientos de las chuletas de cerdo ahumadas.

3.2.3. Investigación bibliográfica.

La investigación bibliográfica nos permitió realizar la recopilación de información ya sea de libros, artículos científicos e informes y tesis, que nos sirven de referencia en cuanto al estudio del efecto del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido-láctica (*Lactobacillus plantarum*) mediante la técnica de encapsulamiento y aspersion, en la conservación de productos cárnicos ahumados (Chuleta de cerdo (*Sus scrofa*)) comparando así los valores obtenidos.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método inductivo-deductivo.

Este método nos permite comparar los resultados obtenidos sobre las diferentes variables microbiológicas y bromatológicas del producto final, también la determinación de las conclusiones de los objetivos planteados dentro de la investigación.

3.3.2. Método Analítico.

Este método nos permitió conocer los resultados de los tratamientos estudiados mediante los datos obtenidos por los análisis microbiológicos y bromatológicos realizados en los laboratorios y así determinar cuál es el mejor tratamiento.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

Las fuentes primarias son las que se obtuvieron mediante la recopilación de datos realizadas en laboratorio durante la fase experimental.

Las fuentes secundarias fue toda aquella información obtenida de libros, artículos científicos, sitios web, revistas científicas, etc. las cuales sirvieron como sustento para llevar a cabo la investigación.

3.5. Diseño de la investigación.

3.5.1. Diseño experimental.

La investigación en curso se fundamenta de un diseño de bloques completamente al azar con arreglo factorial AXBXC siendo: Factor A= Tipos de bioconservantes (aceite de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) y *Lactobacillus plantarum*); Factor B=Concentraciones de

bioconservantes (1 %, 2 % y 3 %); y Factor C= Técnica de aplicación (Encapsulamiento y Aspersión, obteniéndose un total de 36 unidades experimentales.

3.5.2. Manejo del experimento.

3.5.2.1. Extracción del aceite esencial del culantro silvestre (*Eryngium foetidum*).

Se realizó la extracción del aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) mediante el método de arrastre por vapor usando la trampa de Clevenger, para esto se recolecto la materia prima y se la llevo a una estufa con una temperatura de 60°C por 24 horas después se procedió a pesar 37gr de muestra para ponerla en el balón y se le agrego 395ml de agua destilada, se prende la manta calefactora posteriormente se realiza la extracción durante 7 horas.

El cálculo del rendimiento del aceite esencial de Romero se lo realizo usando la ecuación expuesta por (Miranda Morales, 2016):

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{V_{a.e}}{m_{MV}} \times 100$$

Donde:

$V_{a.e}$ =Volumen del aceite esencial obtenido, ml.

m_{MV} =Masa de material vegetal, g.

3.5.2.2. Replica e inoculación del *Lactobacillus plantarum* (BAL).

La batería ácido láctica se recepto en un tubo de ensayo dentro de un cooler, para replicar la bacteria se siguió el siguiente proceso:

- **Preparación de caldo MRS**
- Se preparo 500 ml de caldo y se deposita en un matraz, con el aza se realiza 3 tomas y se inoculan en el matraz, se lo sella con algodón y Parafilm.
- Se inoculan por 24 horas a 37°C posterior a este tiempo se midió la absorbancia.
- Se sembró en una dilución 10^{10} UFC/ml.

- En tubos de ensayos se centrifugó, se botó el líquido y se trabajó con el sedimento, este se debe lavar 3 veces.
- **Solución tampón de ácido cítrico - citrato de sodio**
 - a. En 1270 ml de agua se agregaron 24,40 gr de ácido cítrico y 730 ml de agua se adicionaron 18,34 gr de citrato de sodio.
 - b. Los tubos fueron lavados con 5 ml de las soluciones mezcladas.
 - c. Se centrifugo a 10.000 rpm x 15 min hasta obtener un color claro.
 - d. El tercer lavado se suspenden las bacterias las bacterias lavadas en la mismo solución tampón de ácido cítrico – citrato de sodio (1:1v/v).
- **Conservación**

Las bacterias cultivadas en caldo MRS de 24 horas son conservadas en tubos eppendorf de 1,5 ml con 30% de glicerol a una temperatura de -20°C.

- **Preparación de la Gelación iónica**

La elaboración de las emulsiones iónicas se basó en el procedimiento descrito por (López Colorado & Villalta Hernández, 2009). Aplicando algunas modificaciones en su proceso.

Para ello se tomó 2 g de Alginato de sodio y se disolvió en 50 ml de la solución bioconservante y seguidamente se diluyó 15 g de cloruro de calcio en 100 ml de agua destilada. Con ayuda de una micropipeta se fueron liberando las gotas de alginato en la solución de cloruro de calcio que se encontraba en una ligera agitación.

3.5.2.3. *Proceso de elaboración de chuletas ahumadas de cerdo (Sus scrofa).*

Tabla 2

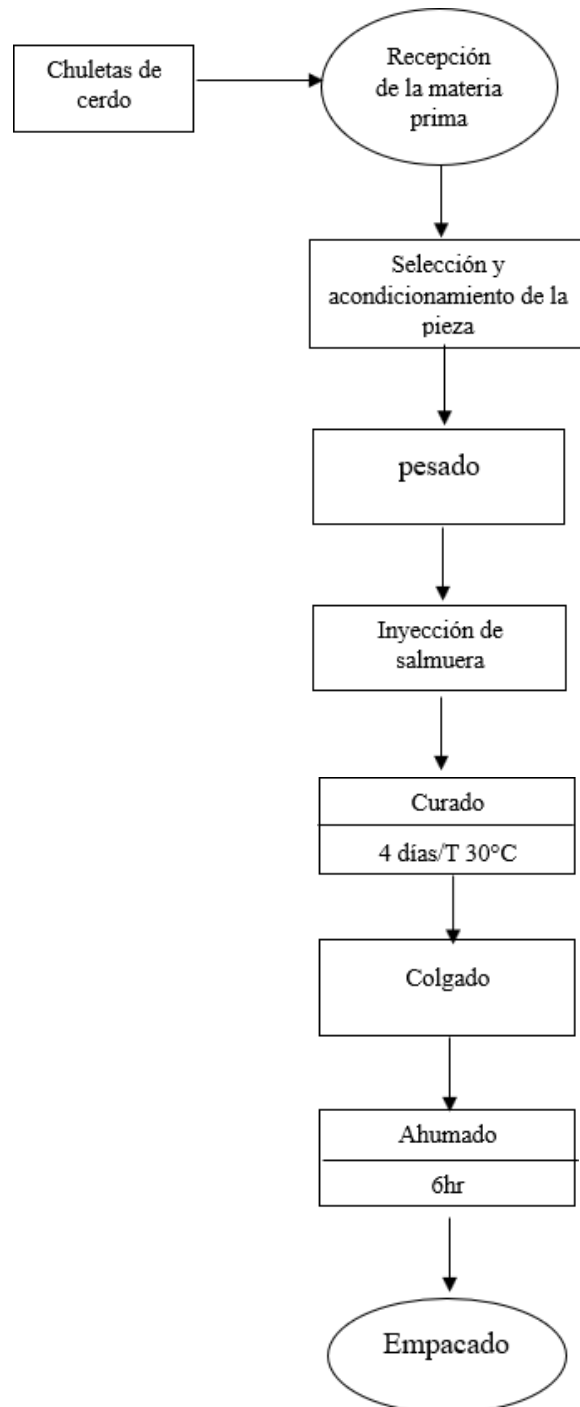
Fórmula para la elaboración de salmuera

| Integrantes | Peso |
|--------------------|-------------|
| Sal | 1kg |
| Azúcar refinada | 180gr |
| Proteína vegetal | 10gr |
| Humo liquido | 10ml |

ELABORADO: AUTORA.

- **Chuletas de cerdo ahumadas**

Diagrama de flujo



ELABORADO: AUTORA.

3.5.2.4. *Análisis realizados.*

Análisis microbiológicos

- Salmonella: NTE INEN 764
- Coliformes totales: NTE INEN 765
- Entero bacterias
- Mohos y levaduras

Análisis bromatológicos

- pH: NTE INEN 783
- Proteína: NTE INEN 781
- Acidez: NTE INEN
- Ceniza
- Humedad

3.5.2.5. *Análisis fisicoquímicos.*

a) Determinación de pH

La determinación de pH en las chuletas de cerdo ahumadas se realizó utilizando un potenciómetro el cual fue previamente calibrado con una solución buffer con pH 6, se preparó la muestra tomando 10 g de ella y se licuó con 100 ml de agua destilada por un minuto, se procedió a filtrar con el fin de eliminar el tejido conectivo y se introdujo el electrodo para identificar el pH de la muestra.

b) Determinación de acidez

Se realizó , una titulación ácido-base utilizando una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,01 de normalidad, la muestra tomada fue de 10 g y se licuó con 200 ml de agua destilada por 1 min, se filtró y la solución se agregó al matraz Erlenmeyer hasta llenar con agua destilada, en un matraz se añadió 25 ml de la solución con 75 ml de agua destilada más 5 gotas de fenolftaleína (C₂₀H₁₄O₄) como indicador, se procedió a titular.

%Ácido láctico

$$= \frac{V(\text{NaOH}) * N(\text{NaOH}) * \text{Meq}(\text{ácido láctico}) * \text{Factor de dilución}}{\text{peso de la muestra}}$$

$$* 100$$

$$\text{Meq} = 0,01$$

$$\text{Factor de dilución} = 0,09$$

c) Determinación de humedad

La humedad fue determinada por mediante el método del secado diferenciando los pesos, se inició con el lavado y la esterilización en estufa de los crisoles a 100°C durante 15 min, luego se procedió a pesar 2g de muestra, los cuales se llevan a estufa a 105°C hasta obtener un peso constante aproximadamente 5 horas, se retiran los crisoles y se dejan enfriar en el desecador para proceder a pesar.

$$W = \frac{Mh - Ms}{Ms - Mr} * 100$$

Mh= Peso del recipiente más muestra húmeda

Ms= Peso del recipiente más muestra seca

Mr= Peso del recipiente

d) Determinación de cenizas

Para la determinación de ceniza en las chuletas de cerdo se realizó el lavado y secado de crisoles a una temperatura de 100°C durante 20 minutos, luego fueron pesados y se colocaron 2 g de muestra de cada tratamiento en los crisoles, se llevaron a la estufa con una temperatura de 600 °C por 3 horas, posterior a esto se deja enfriar la mufla por aproximadamente 1 hora, se procede a extraer los crisoles con la muestra y son ubicados en un desecador durante 30 minutos y finalmente son pesados.

$$C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} * 100$$

C=cantidad de cenizas en la muestra en porcentaje de masa

m= Masa del crisol vacío en gramos

m₁=Masa del crisol con la muestra (antes de la incineración) en gramos

m₂=Masa del crisol con las cenizas (después de la incineración) en gramos

e) **Determinación de Proteína**

El análisis se realizó siguiendo lo descrito por la normativa INEN 465, se efectuó la digestión de la muestra, utilizando 0,3 g de esta, que se colocaron sobre un papel libre de nitrógeno y se introdujeron en un tubo digestor. Se añadió una pastilla catalizadora y 5 ml de ácido sulfúrico al tubo, luego se colocaron en un block digest con la campana de extracción de gases encendida, y la digestión se llevó a cabo a una temperatura de entre 350y 400°C, durante un tiempo de 1 a 2 horas, después de aquello la muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente.

A continuación, se procedió a la destilación, se agregaron 15 ml de agua destilada a cada tubo, y se colocó el tubo junto con un matraz de recepción que contenía una solución de ácido bórico al 2% (en una cantidad de 50 ml) en un sistema de destilación de Kjeltex, se puso en marcha el proceso y se añadieron 30 ml de hidróxido de sodio al 40%.

El último paso consistió en la titulación, del destilado recolectado en el matraz y se añadieron 3 gotas de indicador, para luego titularlo con ácido clorhídrico a una concentración de 0,1N e indicar el consumo de ácido.

$$\%PB = \frac{(VHCl - VB) * 1,401 * NHCl * F}{g \text{ de muestra}}$$

Peso atómico del nitrógeno= 1,401

NHCl= normalidad del ácido clorhídrico 0,1N

F= Factor de conversión 6,25

VHCl= volumen consumido del ácido clorhídrico

VB= volumen del blanco 0,3

3.5.2.6. *Análisis microbiológicos.*

- a) **Determinación de salmonella:** NTE INEN 1529-15:2009 Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección.
- b) **Determinación de Coliformes totales:** INEN 1 529-6 1990-02 Control microbiológico de los alimentos. determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable.
- c) **Determinación de mohos y levaduras:** NTE INEN 1 529-10:98 1998-01 Control microbiológico de los alimentos. mohos y levaduras viables. recuento en placa por siembra en profundidad.

3.6. **Instrumentos de investigación.**

Para la recopilación de la información bibliográfica los recursos que se utilizaron para abordar el problema y extraer información de ellos fueron: el análisis de documentos y archivos de fuentes seguras, otro instrumento es la observación de datos e información experimental ya realizada por investigadores oficiales.

Para el desarrollo del diseño experimental, el registro se llevó en hojas guía para luego tabular en Microsoft Excel, lo que permitió posteriormente utilizar un software estadístico como STATGRAPHICS versión 16.1.03 y IBM SPSS STATISTICS 25, que facilitaron observar los resultados de manera clara, obteniendo tabla de datos y gráficas que ayudaron al planteamiento del análisis y el resultado de la investigación.

3.7. **Tratamiento de datos**

Mediante los datos registrados por tratamiento en cada una de las variables a ser evaluadas en la investigación se tabularon en una lámina de Excel, para lograr determinar el efecto al momento de conservar los productos cárnicos ahumados, usando como bioconservantes el aceite esencial de culantro silvestre (*Eryngium foetidum*) y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) mediante la técnica de encapsulamiento, para lo cual se procederá aplicar un ANOVA (Análisis de Varianza) y pruebas de significación de TUKEY para identificar el mejor tratamiento con un margen de error del 5 %.

Tabla 3 Descripción de los Tratamientos propuestos para el estudio del efecto de dos bioconservantes: aceite esencial de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) y *Lactobacillus plantarum* mediante la técnica de encapsulamiento y aspersión, en la conservación de productos cárnicos ahumados de (*Chuleta de Sus scrofa* “cerdo”).

| Tratamiento | Descripción |
|--------------------|--|
| T1 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 1 % + Encapsulado |
| T2 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 1 % + Aspersión |
| T3 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 2 % + Encapsulado |
| T4 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 2 % + Aspersión |
| T5 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 3 % + Encapsulado |
| T6 | Aceite E. de culantro silvestre (<i>Eryngium foetidum</i>) + 3 % + Aspersión |
| T7 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 1 % + Encapsulado |
| T8 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 1 % + Aspersión |
| T9 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 2 % + Encapsulado |
| T10 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 2 % + Aspersión |
| T11 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 3 % + Encapsulado |
| T12 | <i>Lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 3 % + Aspersión |

ELABORADO: AUTORA.

Tabla 4*Esquema del análisis de varianza AXBXC para variables en estudio.*

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | Razón de varianza |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| FA | SCA | a-1 | CMA | CMB CMA/CME |
| FB | SCB | b-1 | CMC | CMB/CME |
| FC | SCC | c-1 | | CMC/CME |
| INTERACCIONES | | | CMAB CMAC | |
| I. (AB) | SCAB SCAC | | CMBC | CMAB/CME |
| I. (AC) | SCBC SCABC | (a-1) (b-1) | CMABCCME | CMAC/CME |
| I. (BC) | SCE | (a-1) (c-1) | | CMBC/CME |
| I. (ABC)Error | SCT | (b-1) (c-1) | | CMABC/CME |
| TOTAL | | (a-1) (b-1) (c-1) | | |
| | | abc (n-1) | | |
| | | abc (n-1) | | |

ELABORADO: AUTORA.

3.8. Recursos humanos y materiales.

Tabla 5

Recursos humanos y materiales para la realización del proyecto de investigación.

| Recursos humanos | |
|-------------------------|---------------------------------------|
| ○ | Tesista: Guadamud Briones Yelena |
| ○ | Tutor: Dr. Juan Alejandro Neira, PhD. |
| ○ | Colaboradores: Ing. Jhoan Plúas, MSc |

| Materia prima | Reactivos |
|---|---------------------|
| ○ Chuletas de cerdo | ○ Sal nital |
| ○ Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i> . | ○ Salmuera |
| ○ <i>Lactobacillus plantarum</i> | ○ Sal |
| | ○ Humo líquido |
| | ○ Ácido ascórbico |
| | ○ Cloruro de calcio |
| | ○ Alginato de sodio |

| Equipos | Materiales (Varios) |
|-----------------------|-----------------------------|
| ○ Rotavapor | ○ Lapiceros |
| ○ Trampa de clevenger | ○ Remas de papel |
| ○ Ahumador | ○ Cuchillo |
| ○ Balanza analítica | ○ Recipientes |
| ○ Cámara de flujo | ○ Vestimenta de laboratorio |
| | ○ Atomizador |
| | ○ Jeringuilla |
| | ○ Cooler |
| | ○ Mechero de alcohol |

ELABORADO: AUTORA.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis de varianza de resultados de las variables evaluadas en el proyecto de investigación

Tabla 6

Análisis de varianza para la variable pH.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: FA | 0,0940444 | 1 | 0,0940444 | 33856,00 | 0,0000 |
| B: FB | 0,0215056 | 2 | 0,0107528 | 3871,00 | 0,0000 |
| C:FC | 0,00134444 | 1 | 0,00134444 | 484,00 | 0,0000 |
| D: REPLICAS | 0,00000555556 | 2 | 0,00000277778 | 1,00 | 0,3840 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 0,00693889 | 2 | 0,00346944 | 1249,00 | 0,0000 |
| AC | 0,000177778 | 1 | 0,000177778 | 64,00 | 0,0000 |
| BC | 0,00743889 | 2 | 0,00371944 | 1339,00 | 0,0000 |
| ABC | 0,0136056 | 2 | 0,00680278 | 2449,00 | 0,0000 |
| RESIDUOS | 0,0000611111 | 22 | 0,00000277778 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 0,145122 | 35 | | | |

ELABORADO: AUTORA.

En la tabla 6. Se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de bioconservantes), Factor B (concentraciones de los bioconservantes), Factor C (Método de aplicación) e interacciones (AxB, AxC, BxC y AxBxC) mientras que para las réplicas no se encontró diferencia significativa.

Tabla 7*Análisis de varianza para la variable Ceniza.*

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: FA | 2,18547 | 1 | 2,18547 | 432722,95 | 0,0000 |
| B: FB | 0,248239 | 2 | 0,124119 | 24575,65 | 0,0000 |
| C:FC | 0,001225 | 1 | 0,001225 | 242,55 | 0,0000 |
| D: REPLICAS | 0,0000222222 | 2 | 0,0000111111 | 2,20 | 0,1346 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 1,33257 | 2 | 0,666286 | 131924,65 | 0,0000 |
| AC | 1,07123 | 1 | 1,07123 | 212102,55 | 0,0000 |
| BC | 0,319517 | 2 | 0,159758 | 31632,15 | 0,0000 |
| ABC | 0,592517 | 2 | 0,296258 | 58659,15 | 0,0000 |
| RESIDUOS | 0,000111111 | 22 | 0,00000505051 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 5,7509 | 35 | | | |

ELABORADO: AUTORA.

En la tabla 7. Se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de bioconservantes), Factor B (Concentraciones de los bioconservantes), Factor C (Métodos de aplicación) e interacciones (AxB, AxC, BxC y AxBxC) en cuanto a las réplicas no se encontró diferencia significativa.

Tabla 8*Análisis de varianza para la variable humedad.*

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: FA | 9,32284 | 1 | 9,32284 | 3356224,00 | 0,0000 |
| B: FB | 21,9242 | 2 | 10,9621 | 3946357,00 | 0,0000 |
| C:FC | 0,380278 | 1 | 0,380278 | 136900,00 | 0,0000 |
| D: REPLICAS | 0,00000555556 | 2 | 0,00000277778 | 1,00 | 0,3840 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 23,8392 | 2 | 11,9196 | 4291063,00 | 0,0000 |
| AC | 25,7387 | 1 | 25,7387 | 9265936,00 | 0,0000 |
| BC | 5,81541 | 2 | 2,9077 | 1046773,00 | 0,0000 |
| ABC | 10,8534 | 2 | 5,42669 | 1953607,00 | 0,0000 |
| RESIDUOS | 0,0000611111 | 22 | 0,00000277778 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 97,8741 | 35 | | | |

ELABORADO: AUTORA.

En la tabla 8. Se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de bioconservantes), Factor B (Concentraciones de los bioconservantes), Factor C (Métodos de aplicación) e interacciones (AxB, AxC, BxC y AxBxC) mientras que para las réplicas no se encontró diferencia significativa.

Tabla 9*Análisis de varianza para la variable proteína.*

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: FA | 1,2958 | 1 | 1,2958 | 466489,00 | 0,0000 |
| B: FB | 107,03 | 2 | 53,5151 | 19265431,00 | 0,0000 |
| C:FC | 3,60367 | 1 | 3,60367 | 1297321,00 | 0,0000 |
| D: REPLICAS | 0,00000555556 | 2 | 0,00000277778 | 1,00 | 0,3840 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 31,0843 | 2 | 15,5422 | 5595175,00 | 0,0000 |
| AC | 0,0250694 | 1 | 0,0250694 | 9025,00 | 0,0000 |
| BC | 54,8876 | 2 | 27,4438 | 9879775,00 | 0,0000 |
| ABC | 40,9274 | 2 | 20,4637 | 7366939,00 | 0,0000 |
| RESIDUOS | 0,0000611111 | 22 | 0,00000277778 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 238,854 | 35 | | | |

ELABORADO: AUTORA.

En la tabla 9. Se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de bioconservantes), Factor B (Concentraciones de los bioconservantes), Factor C (Métodos de aplicación) e interacciones (AxB, Ax C, BxC y AxBxC) mientras que para las réplicas no se encontró diferencia significativa.

Tabla 10*Análisis de varianza para la variable acidez.*

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: FA | 0,013225 | 1 | 0,013225 | 2618,55 | 0,0000 |
| B: FB | 0,0304389 | 2 | 0,0152194 | 3013,45 | 0,0000 |
| C:FC | 0,021025 | 1 | 0,021025 | 4162,95 | 0,0000 |
| D: REPLICAS | 0,0000222222 | 2 | 0,0000111111 | 2,20 | 0,1346 |
| INTERACCIONES | | | | | |
| AB | 0,00245 | 2 | 0,001225 | 242,55 | 0,0000 |
| AC | 0,00613611 | 1 | 0,00613611 | 1214,95 | 0,0000 |
| BC | 0,03185 | 2 | 0,015925 | 3153,15 | 0,0000 |
| ABC | 0,0533722 | 2 | 0,0266861 | 5283,85 | 0,0000 |
| RESIDUOS | 0,000111111 | 22 | 0,00000505051 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 0,158631 | 35 | | | |

ELABORADO: AUTORA.

En la tabla 10. Se observa diferencia significativa en el factor A (Tipos de bioconservantes), Factor B (Concentraciones de los bioconservantes), Factor C (Métodos de aplicación) e interacciones (AxB, AxC, BxC y AxBxC) mientras que para las réplicas no se encontró diferencia significativa.

4.1.1.1. Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados del factor A (Tipos de bioconservantes).

Tabla 11

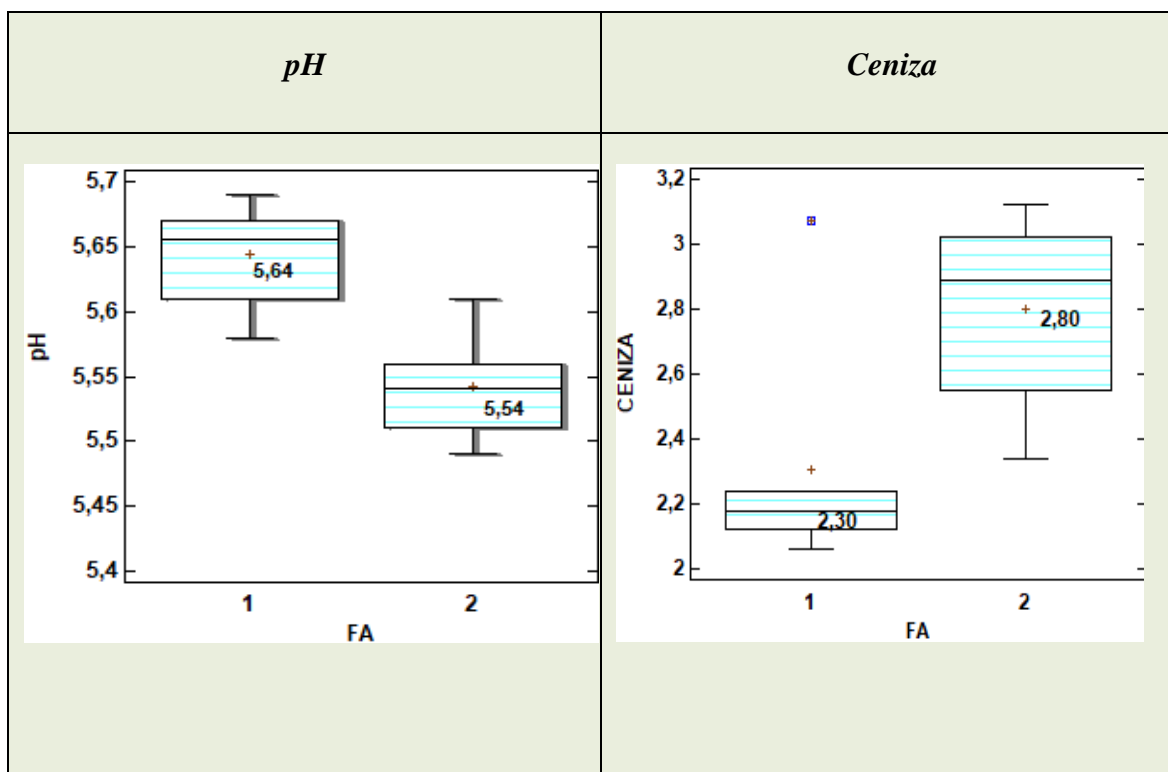
Resultados del estudio de tipos de bioconservantes (factor A) (Tukey $P < 0,05$).

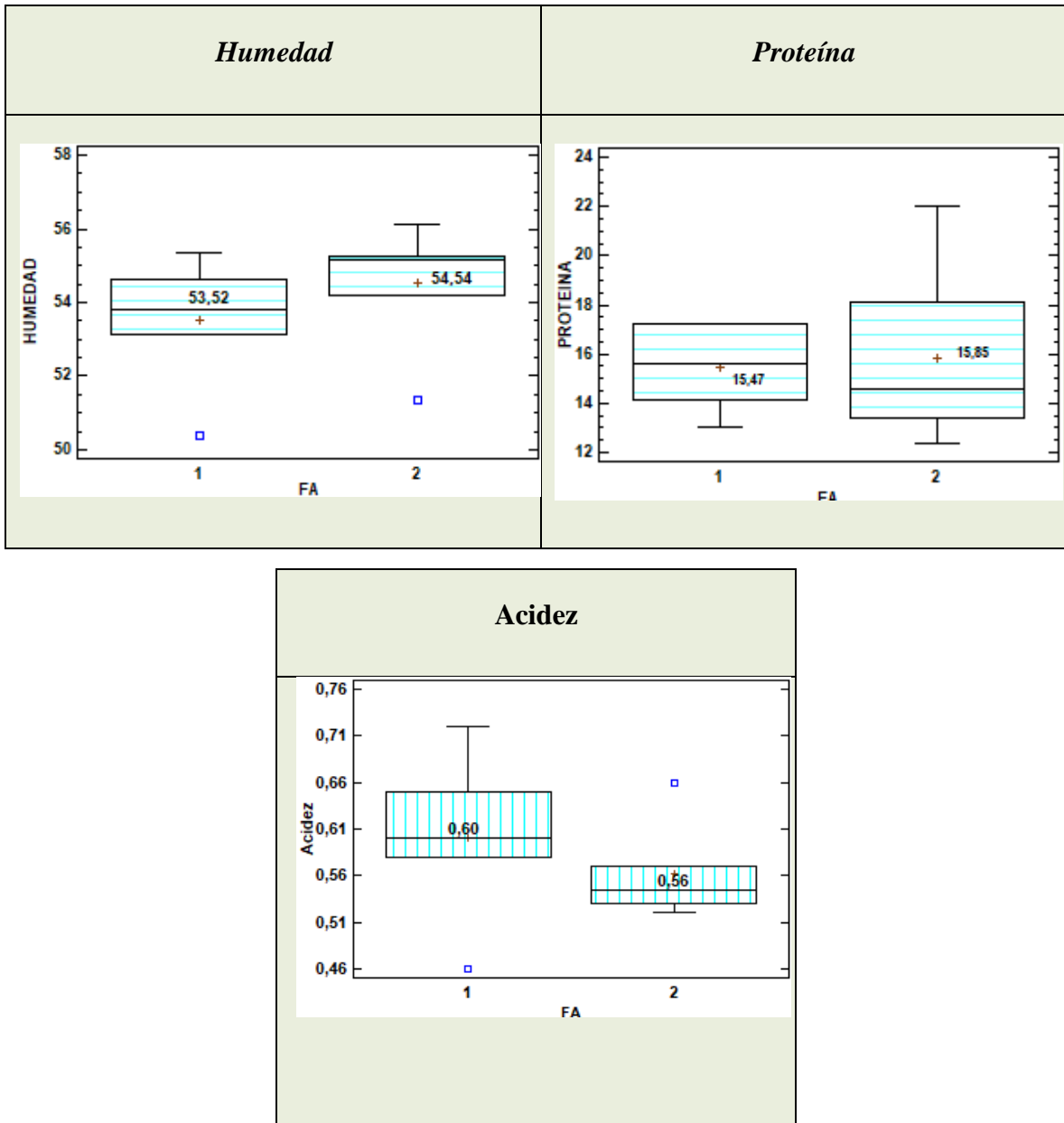
| Tipos de bioconservantes | pH | Ceniza | Humedad | Proteína | Acidez |
|---|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| A0: A.E de (<i>Eryngium foetidum</i>) | 5,64 ^B | 2,30 ^A | 53,52 ^A | 15,47 ^A | 0,60 ^B |
| A1: <i>L. plantarum</i> . | 5,54 ^A | 2,80 ^B | 54,54 ^B | 15,85 ^B | 0,56 ^A |

ELABORADO: AUTORA.

Figura 2

Prueba de significación de Tukey para (Factor A: Tipos de bioconservantes).





ELABORADO: AUTORA.

En la **figura 1**. Se muestra la evaluación de las variables de estudio para los niveles del factor A (Tipos de bioconservantes) mediante la prueba de significación Tukey, donde:

Para el pH, el mayor valor se observa en el grupo A (a_0 : *A.E de Eryngium foetidum* 5,64%), frente al grupo B (a_0 : *Lactobacillus plantarum* (BAL) 5,54%).

En ceniza se obtuvo un valor más alto en el grupo B (a_1 : *Lactobacillus plantarum* (BAL) 2,80%) frente al grupo A (a_0 : *A.E de Eryngium foetidum* 2,30%).

Para la humedad el valor más alto se presentó en el grupo B (a_1 : *Lactobacillus plantarum* (BAL) 54,54%) frente al grupo A (a_0 : *A.E de Eryngium foetidum* 53,52%).

Con respecto a proteína se obtuvo el valor más alto en el grupo B (a₁: *Lactobacillus plantarum* (BAL) 15,85%) con respecto al grupo A (a₀: *A.E de Eryngium foetidum* 15,47%).

Para acidez se presentó el valor más alto en el grupo B (a₁: *Lactobacillus plantarum* (BAL) 0,60%) y el valor más bajo se encontró en el grupo A (a₀: *A.E de Eryngium foetidum* 0,56%).

4.1.1.2. Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados del factor B (Concentraciones de bioconservantes).

Tabla 12

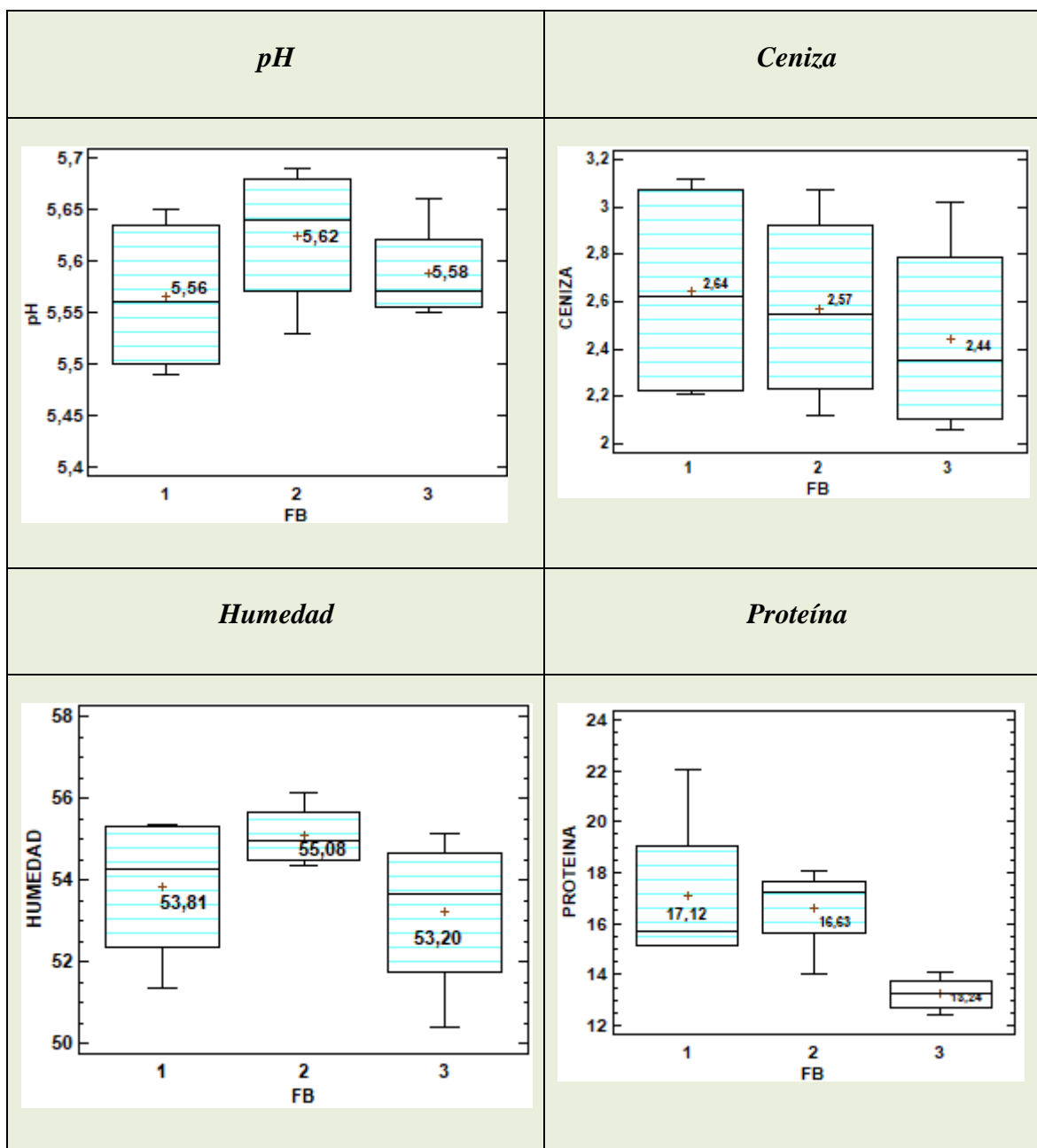
Resultados del estudio concentraciones de los bioconservantes (factor B) (Tukey $P < 0,05$).

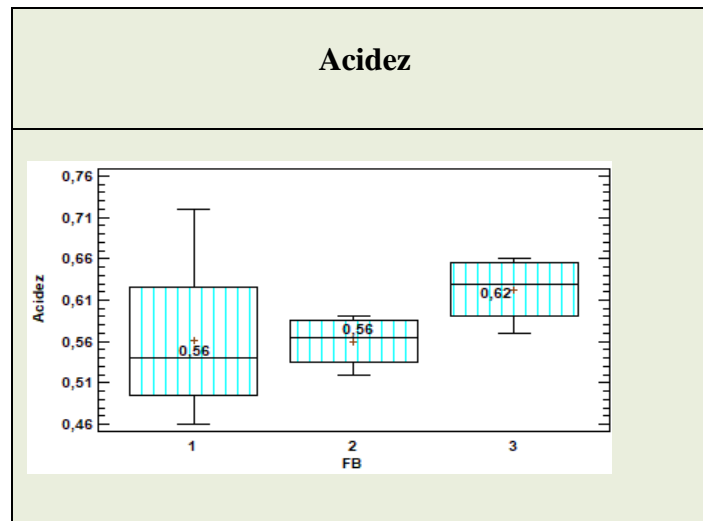
| Concentraciones de bioconservantes | pH | Ceniza | Humedad | Proteína | Acidez |
|------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| B0: 1% | 5,56 ^A | 2,64 ^C | 53,81 ^B | 17,12 ^C | 0,56 ^A |
| B1: 2% | 5,62 ^C | 2,57 ^B | 55,08 ^C | 16,63 ^B | 0,56 ^A |
| B2: 3% | 5,58 ^B | 2,44 ^A | 53,20 ^A | 13,24 ^A | 0,62 ^B |

ELABORADO: AUTORA.

Figura 3

Prueba de significación de Tukey para (Factor B: Concentraciones de los bioconservantes).





ELABORADO: AUTORA.

En la **figura 2.** se muestra la evaluación de las variables de estudio para los niveles del factor B (Concentraciones de bioconservantes) mediante la prueba de significación (Tukey $p < 0,05$).

En la variable pH el mayor valor se presentó en el grupo C ($b_1: 2\%$) con 5,62 %, frente al grupo A ($b_0: 1\%$) con 5,56 %;

En cuanto a ceniza se obtuvo el valor más alto en el grupo C ($b_0: 1\%$) con 2,64 % frente al grupo A ($b_2: 3\%$) con un valor de 2,44 %.

Para humedad el valor más alto se presentó en el grupo C ($b_1: 2\%$) 55,08%, y el valor más bajo se encontraron en el grupo A ($b_2: 3\%$) con 53,20%.

En proteína se obtuvo el valor más alto en el grupo C ($b_0: 1\%$) con 17,12 % a diferencia del grupo A ($b_2: 3\%$) con 13,24 %.

En cuanto a la variable acidez el mayor valor se obtuvo en el grupo B ($b_2: 3\%$) con 0,62 % frente al grupo A ($b_0: 1\%$) y ($b_1: 2\%$) con un valor de 0,56 %.

4.1.1.3. Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados del factor C (métodos de aplicación).

Tabla 13

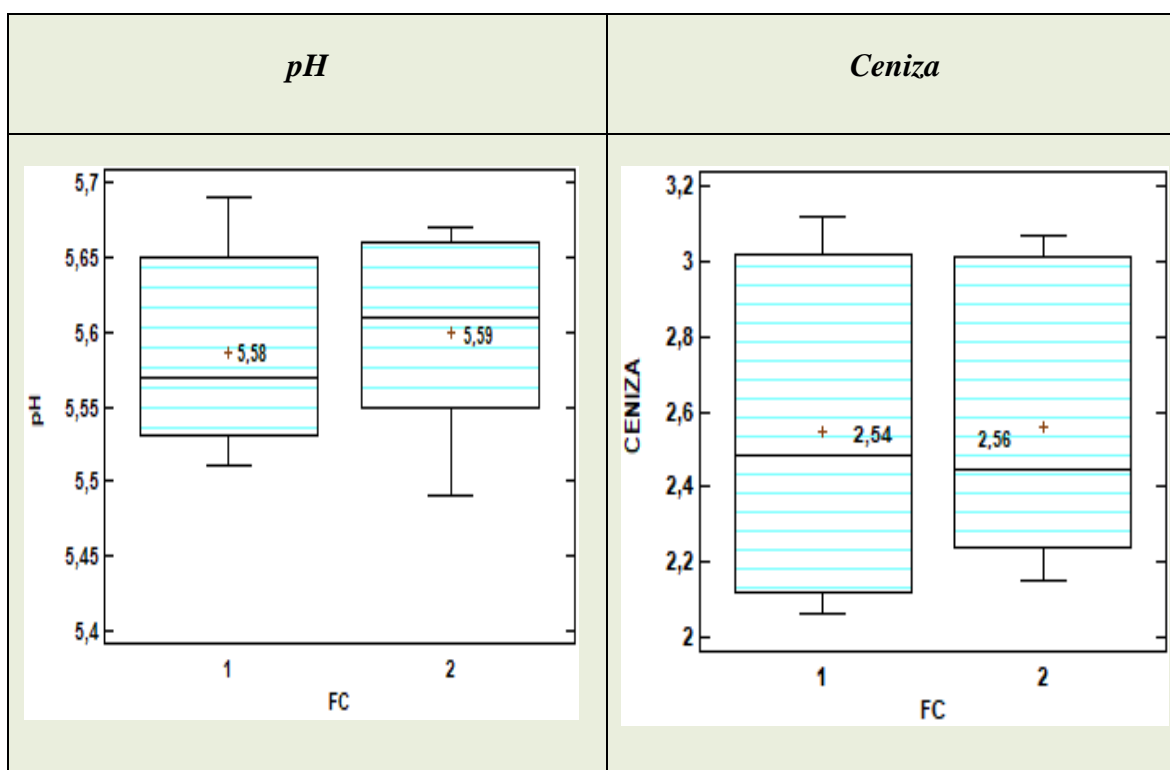
Resultados del estudio métodos de aplicación (factor C) (Tukey $P < 0,05$).

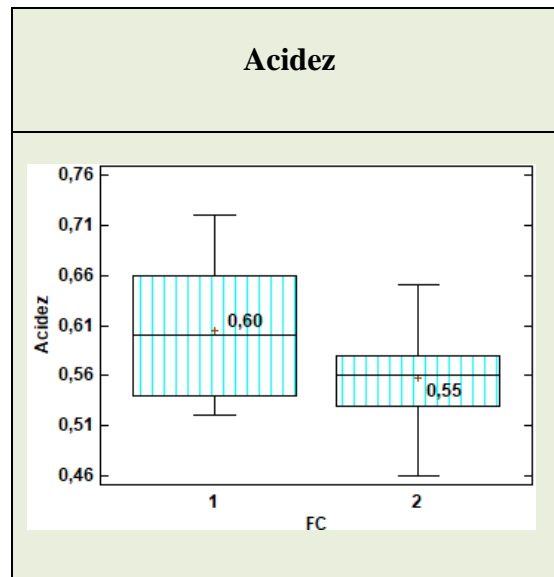
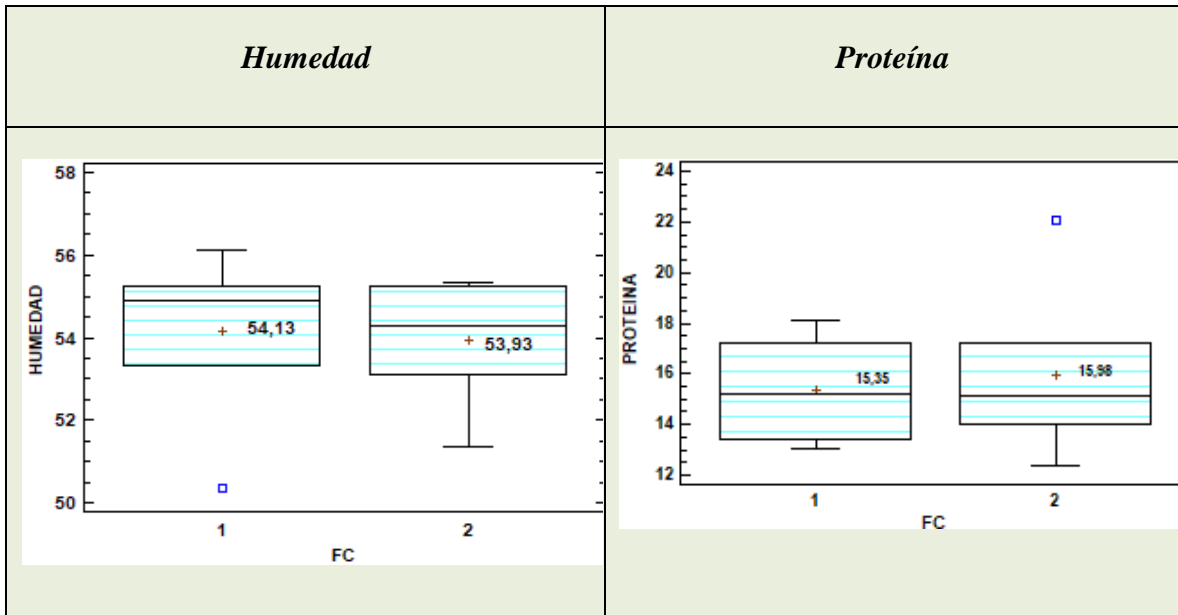
| Métodos de aplicación | pH | Ceniza | Humedad | Proteína | Acidez |
|---------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| C0: método de Encapsulado | 5,58 ^A | 2,54 ^A | 54,13 ^B | 15,35 ^A | 0,60 ^B |
| C1: Método de aspersión | 5,59 ^B | 2,56 ^B | 53,93 ^A | 15,98 ^B | 0,55 ^A |

ELABORADO: AUTORA.

Figura 4

Prueba de significación de Tukey para (Factor C: Método de aplicación).





ELABORADO: AUTORA.

En la **figura 3**. se muestra la evaluación de las variables de estudio para los niveles del factor C (Métodos de aplicación) mediante la prueba de significación (Tukey $p < 0,05$).

En pH se obtuvo el mayor valor en el grupo B (C₁: Aspersión) con 5,59 %, frente al grupo A (C₀: Encapsulado) con 5,58 %.

En cuanto a la variable ceniza el valor más alto se presentó en el grupo B (C₀: Encapsulado) con 2,56 % frente al grupo A (C₁: Aspersión) con un valor de 2,54 %.

Para humedad se obtuvo el valor más alto en el grupo B (C₀: Encapsulado) con 54,13 % frente al grupo A (C₁: Aspersión) con 53,93 %.

En proteína se presentó el mayor valor en el grupo B (C1: Aspersión) 15,98%, frente al grupo A (C0: Encapsulado) con 15,35%.

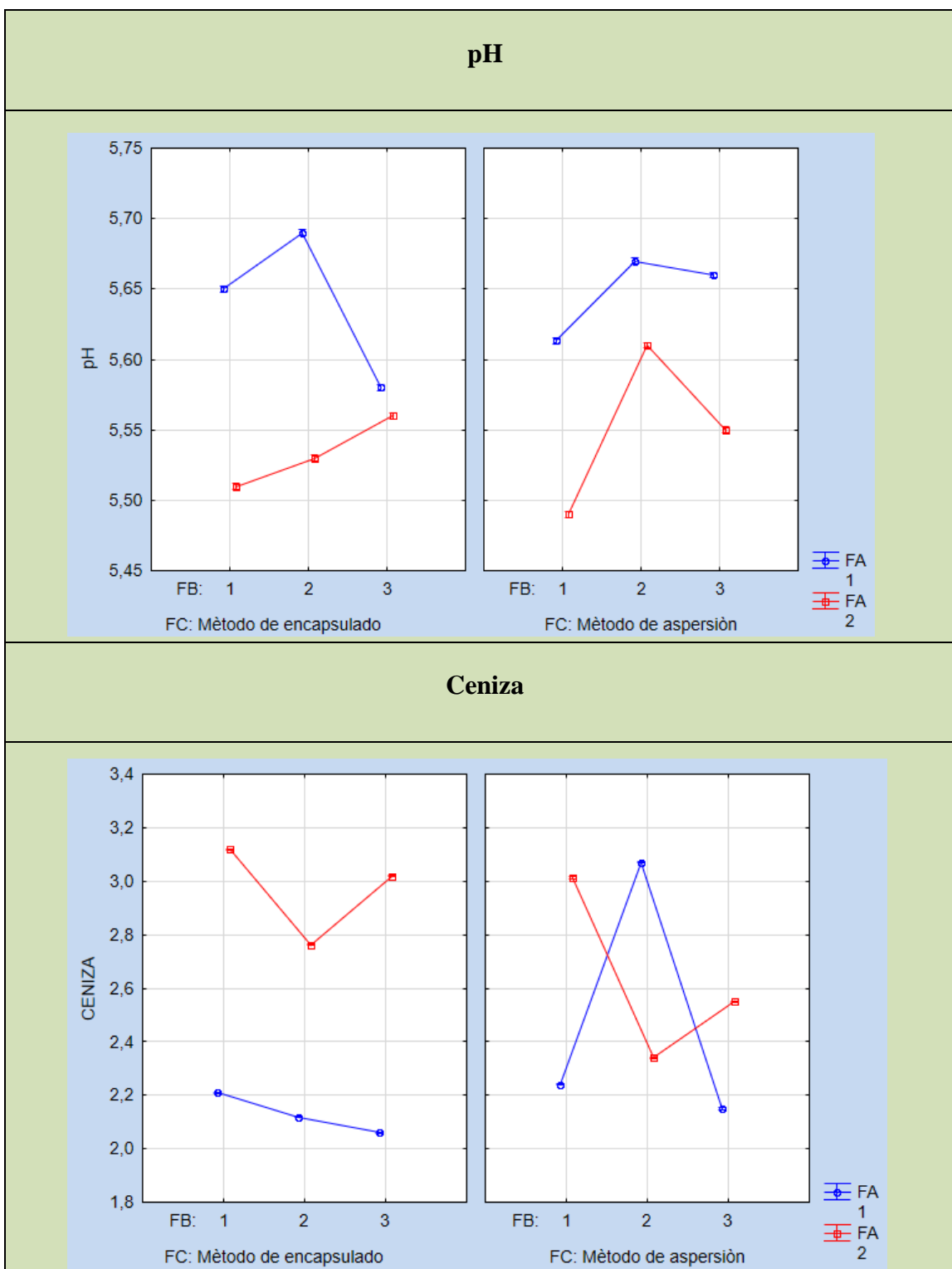
En cuanto a la variable acidez se obtuvo el valor más alto en el grupo B (C0: Encapsulado) con 0,60 % frente al grupo A (C1: Aspersión) con un valor de 0,55 %.

4.1.1.4. Prueba de significación (Tukey $P < 0,05$) para los resultados de la interacción $A \times B \times C$ (Tipos de bioconservantes + Concentraciones de bioconservantes + Métodos de aplicación).

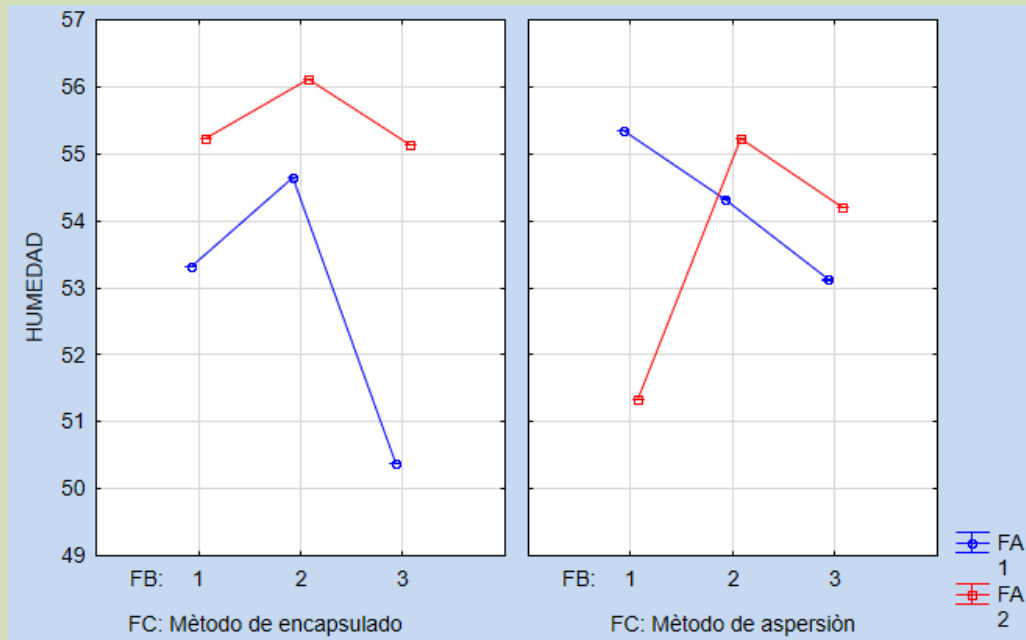
| Interacción | pH | Ceniza | Humeda d | Proteín a | Acide z |
|---|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| (a0b0c0): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 1 % + Encapsulado | 5,65 ^H | 2,21 ^D | 53,32 ^D | 15,12 ^F | 0,71 ^K |
| (a0b0c1): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 1 % + Aspersión | 5,61 ^G | 2,24 ^E | 55,35 ^J | 16,13 ^H | 0,46 ^A |
| (a0b1c0): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 2 % + Encapsulado | 5,69 ^K | 2,12 ^B | 54,65 ^G | 17,22 ^J | 0,59 ^G |
| (a0b1c1): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 2 % + Aspersión | 6,67 ^J | 3,07 ^J | 54,33 ^F | 17,21 ^I | 0,58 ^F |
| (a0b2c0): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado | 5,58 ^F | 2,06 ^A | 50,37 ^A | 13,06 ^B | 0,61 ^H |
| (a0b2c1): Aceite E. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 3 % + Aspersión | 5,66 ^I | 2,15 ^C | 53,12 ^C | 14,12 ^E | 0,65 ^I |
| (a1b0c0): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 1 % + Encapsulado | 5,51 ^B | 3,12 ^K | 55,23 ^I | 15,21 ^G | 0,54 ^C |
| (a1b0c1): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 1 % + Aspersión | 5,49 ^A | 3,01 ^I | 51,34 ^B | 22,03 ^L | 0,53 ^C |
| (a1b1c0): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 2 % + Encapsulado | 5,53 ^C | 2,76 ^H | 56,11 ^K | 18,09 ^K | 0,52 ^B |
| (a1b1c1): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 2 % + Aspersión | 5,61 ^G | 2,34 ^F | 55,23 ^I | 14,01 ^D | 0,55 ^D |
| (a1b2c0): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 3 % + Encapsulado | 5,56 ^E | 3,02 ^I | 55,13 ^H | 13,40 ^C | 0,66 ^J |
| (a1b2c1): <i>lactobacillus plantarum</i> (BAL) + 3 % + Aspersión | 5,55 ^D | 2,55 ^G | 54,21 ^E | 12,40 ^A | 0,57 ^E |

ELABORADO: AUTORA.

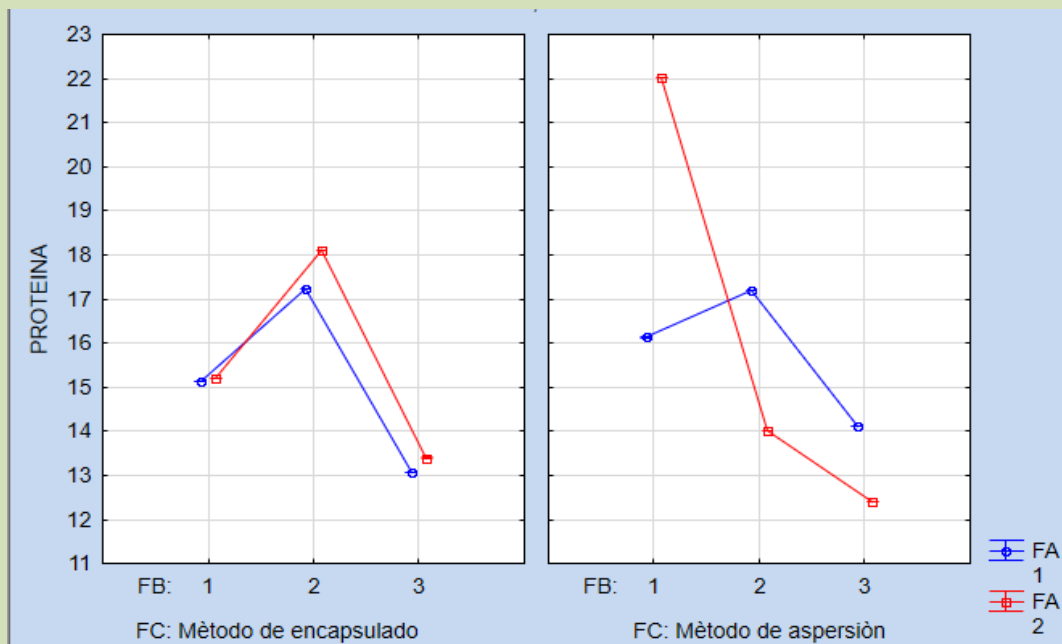
En la **figura 4**. Se muestra los valores de (Tukey $p < 0,05$) condensado en las variables evaluadas que corresponden a los análisis bromatológicos de las chuletas ahumadas de cerdo (Interacción A x B x C: tipos de bioconservantes + concentraciones de bioconservantes + métodos de aplicación).

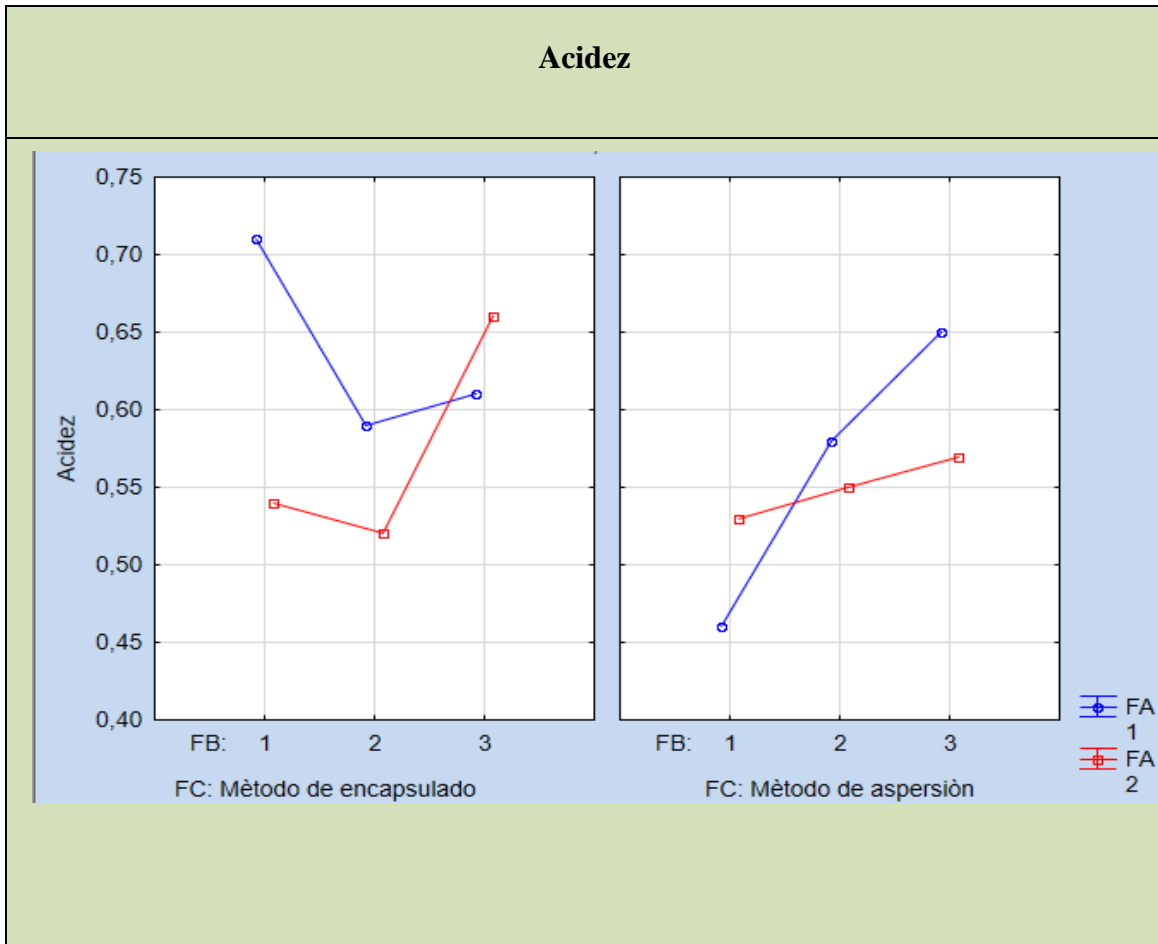


Humedad



Proteína





ELABORADO: AUTORA.

Para lo cual se determinó diferencia significativa en pH donde el valor más alto se obtuvo en el grupo J (a0b1c1: Aceite esencial de culantro silvestre + 2% + aspersión) con 6,67% frente al menor valor que se obtuvo en el grupo A (a1b0c1: *Lactobacillus plantarum* + 1% + aspersión) con 5,49%.

En cuanto a ceniza el valor más alto se obtuvo en el grupo K (a1b0c0: *Lactobacillus plantarum* + 1% + Encapsulado) con 3,12%, frente al grupo A (a0b2c0: Aceite E. de *Eryngium foetidum* + 3% + Encapsulado) con 2,06%.

En el caso de variable humedad se presentó el mayor valor en el grupo K (a1b1c0: *Lactobacillus plantarum* + 2% + Encapsulado) con 56,11%, frente al grupo A (a0b2c0: Aceite E. de *Eryngium foetidum* + 3% + Encapsulado) con 50,37%.

Con respecto a la variable proteína el mayor valor se obtuvo en el grupo L (a1b0c1: *Lactobacillus plantarum* + 1% + Aspersión) con 22,03%, frente al grupo A (a1b2c1: *Lactobacillus plantarum* + 3% + Aspersión) con 12,40%.

Para acidez los valores más altos se presentaron en el grupo K (a0b0c0: Aceite E. de *Eryngium foetidum* + Encapsulado) con 0,71%, frente al grupo A (a0b0c1: Aceite E. de *Eryngium foetidum* + 1% + Aspersión) con 0,46%.

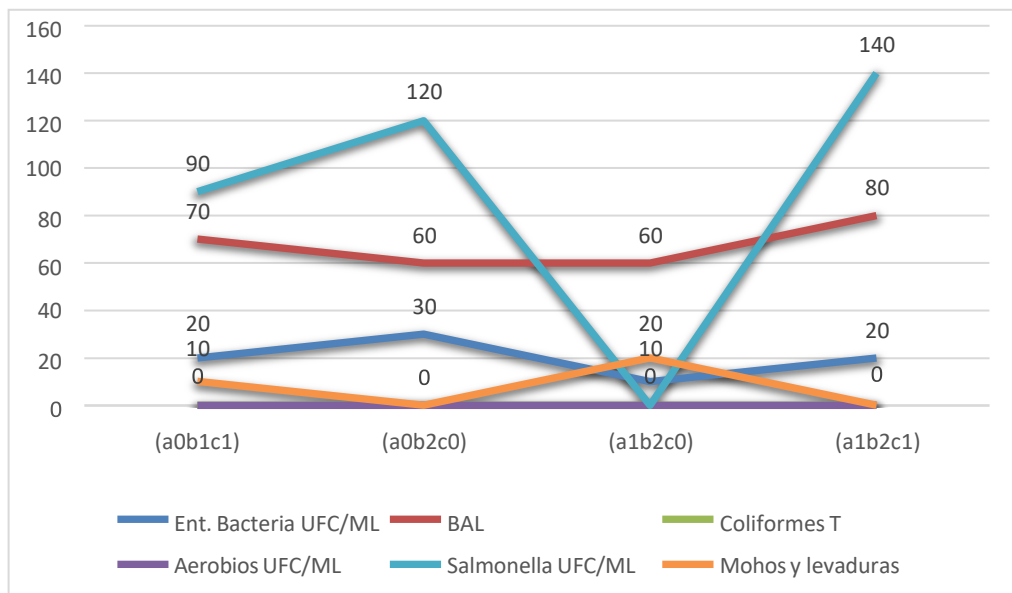
4.1.1.5. Resultados de los análisis microbiológicos.

| Tratamientos | Ent. Bacterias UFC/ml | AC. Láctica | Coliformes T. UFC/ml | Aerobios M. UFC/ml | Salmonella UFC/ml | Mohos y levaduras UFC/ml |
|--|-----------------------|-------------|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|
| (a0b1c1): AE. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 2 % + Aspersión | 20 | 70 | 0 | 0 | 90 | 10 |
| (a0b2c0): AE. de <i>Eryngium foetidum</i> (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado | 30 | 60 | 0 | 0 | 120 | 0 |
| (a1b2c0): <i>L. plantarum</i> (BAL) + 3 % + Encapsulado | 10 | 60 | 0 | 0 | 0 | 20 |
| (a1b2c1): <i>L. plantarum</i> (BAL) + 3 % + Aspersión | 20 | 80 | 0 | 0 | 140 | 0 |

ELABORADO: AUTORA.

Figura 5

Comportamiento de las variables de estudio en los tratamientos.



ELABORADO: AUTORA.

En la siguiente figura 5 se observa el comportamiento de las variables estudiadas en función de los tratamientos (a0b1c1): Aceite E. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 2 % + Aspersión; (a0b2c0): Aceite E. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado; (a1b2c0): *Lactobacillus plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado y (a1b2c1): *Lactobacillus plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión.

El tratamiento con mayor cantidad de entero bacterias fue (a0b2c0): AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado con 30 UFC/ml mientras que el tratamiento con el valor más bajo fue (a1b2c0): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado con 10 UFC/ml.

El tratamiento con mayor cantidad de bacterias ácido lácticas fue (a1b2c1): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión con 80 UFC/ml mientras que el tratamiento con el valor más bajo fue (a0b2c0): AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado y (a1b2c0): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado con un valor de 60 UFC/ml.

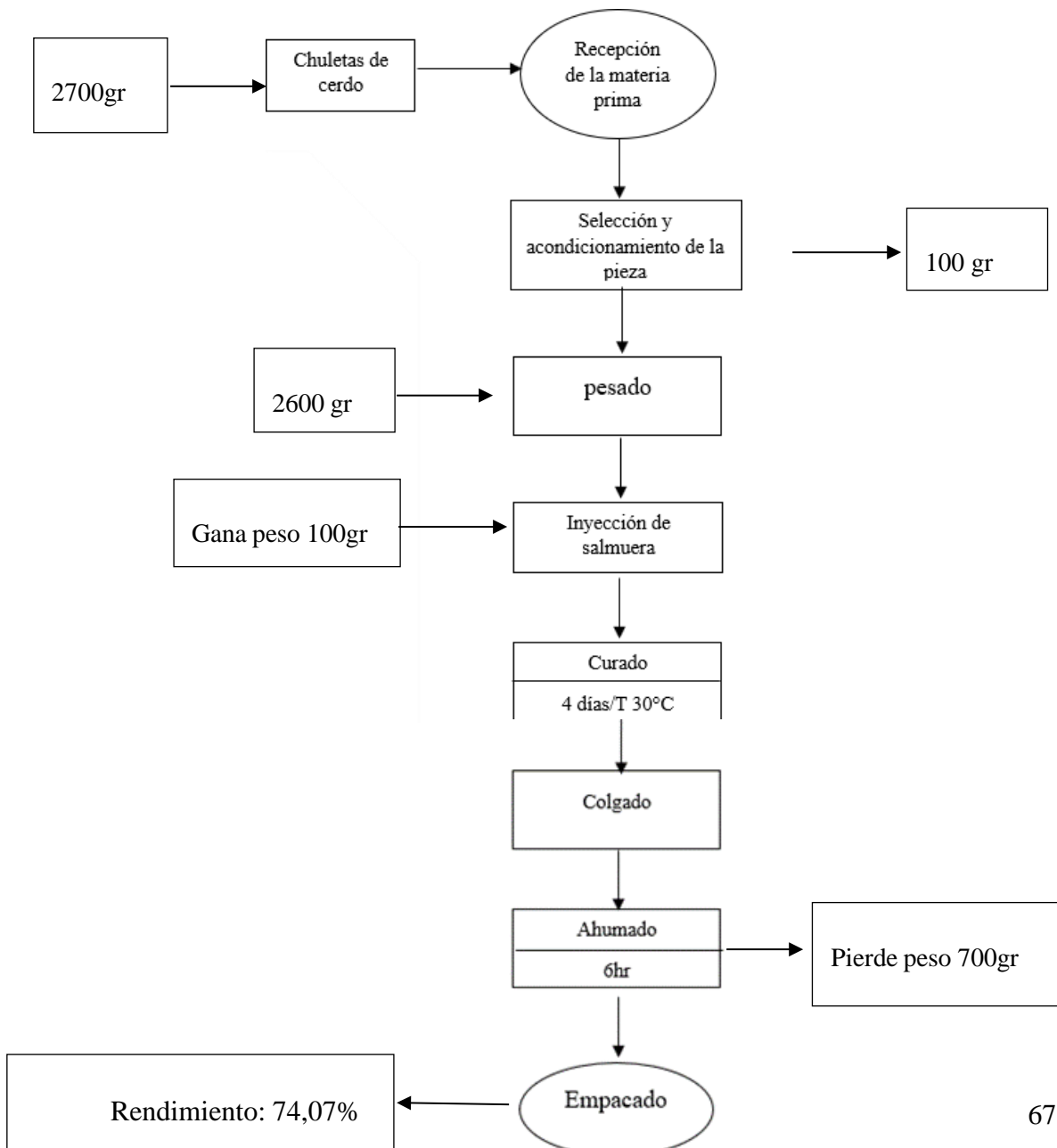
En el caso de los coliformes totales se encontró total ausencia con un valor de 0 UFC/ml. En cuanto a los aerobios mesófilos se encontró total ausencia en los tratamientos con un valor de 0 UFC/ml.

El tratamiento con mayor cantidad de salmonella fue (a1b2c1): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión con un valor de 140 UFC/ml mientras que el tratamiento con el valor más bajo fue (a1b2c0): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado con un valor de 0 UFC/ml.

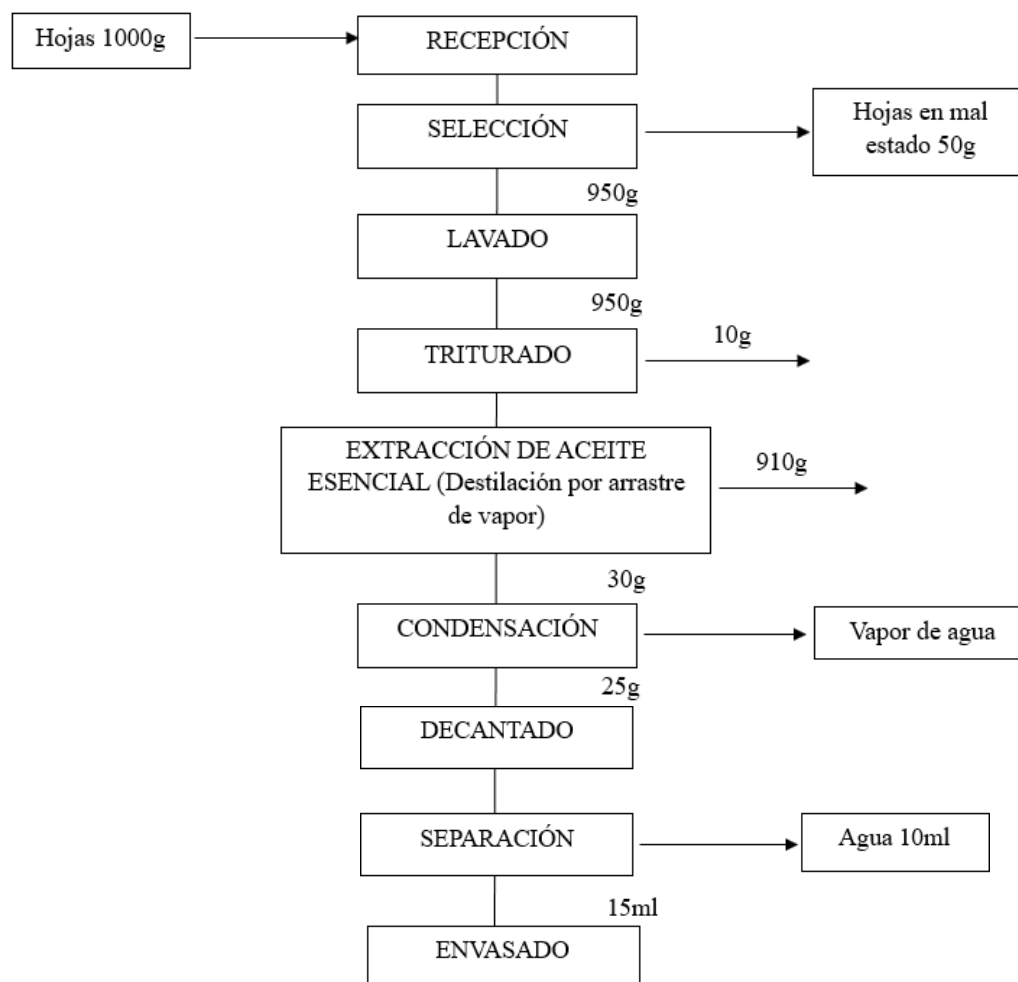
En cuanto a los mohos y levaduras el tratamiento con un valor superior fue (a1b2c0): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado con un valor de 20 UFC/ml mientras que el tratamiento con un valor menor se encontró en el tratamiento (a0b2c0): AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado y (a1b2c1): *L. plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión con valores de 0 UFC/ml.

4.1.2. Balance de masa

4.1.2.1. Balance de masa del proceso de elaboración de chuletas ahumadas de cerdo (*Sus scrofa*)



4.1.2.2. *Balance de masa del aceite de culantro silvestre por el método de arrastre de vapor.*



$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{V_{a.e}}{m_{MV}} \times 100$$

Donde:

$V_{a.e}$ = Volumen del aceite esencial obtenido, ml.

m_{MV} = Masa de material vegetal, g.

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{15 \text{ ml}}{1000 \text{ g}} \times 100$$

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = 1.50\%$$

4.2. Discusión

4.2.1. Tipos de bioconservantes (Factor A).

Considerando los resultados del pH, se observó que el mayor contenido se encuentra en el Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) con un valor de (5,64) frente a la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) con un valor de (5,54), los cuales se encuentran por debajo de la investigación propuesta por (Alvarado., 2022) titulada “Evaluación del efecto conservante del aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo) en la elaboración de productos cárnicos cocidos” donde los resultados obtenidos de dicha investigación se encuentran en un rango de (6,01) hasta (6,51). El descenso del pH se debe a la aplicación de la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) debido a que estas son las responsables de la producción de ácido láctico, provocando así una disminución de pH.

Considerando los resultados de la variable ceniza, se observó el mayor contenido, en (*Lactobacillus plantarum*) con un valor de (2.80 %) frente al Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) con un valor de (2.30 %), los cuales se encuentran por debajo de la investigación propuesta por (Michael, 2023) titulada "Poder bioconservador del ahumado, la nisina y el aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), en salchichas frankfurt" donde los resultados obtenidos en la investigación se observó un contenido de ceniza del (3.09%), los resultados del contenido de ceniza pueden variar debido a la cantidad de materia prima y la calidad así como el tipo de carne utilizada.

Los resultados obtenidos con respecto a la variable humedad del producto se observó un mayor contenido en (*Lactobacillus plantarum*) con un valor de (54.54%) frente al Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) con un valor de (53.52%) se encuentra por encima de lo propuesto por (Buenaño, 2023) en su investigación titulada “Utilización de bacterias (*Lactobacillus acidophilus*) en la elaboración de salchichas fermentadas funcionales” donde se registró el valor más alto con un porcentaje de (23,07%), esto se debe a que los resultados pueden variar según los métodos de ahumado, los ingredientes utilizados y las condiciones de almacenamiento.

En cuanto a lo que respecta los resultados de la proteína el mayor contenido se observó en el (*Lactobacillus plantarum*) con valor de (15.85 %) frente al Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) con (15.47 %), valores que se encuentran por encima de lo propuesto por (Buenaño, 2023) en su investigación titulada “Utilización de bacterias (*Lactobacillus*

acidophilus) en la elaboración de salchichas fermentadas funcionales” donde se registró el valor más alto (15,07%). Existen diversos factores que pueden explicar la diferencia en los resultados entre la bacteria (*Lactobacillus plantarum*) y la bacteria (*Lactobacillus acidophilus*) en la investigación de Buenaño. Estos factores podrían incluir diferencias en las cepas de bacterias utilizadas, las condiciones de cultivo o los métodos de análisis aplicados en ambas investigaciones.

En cuanto a lo que respecta los resultados de la acidez el mayor contenido se observó en el Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) con valor de (0.60 %) frente al (*Lactobacillus plantarum*) con (0.56), valores que se encuentran por debajo (Buenaño, 2023), en su investigación titulada “Utilización de bacterias (*Lactobacillus acidophilus*) en la elaboración de salchichas fermentadas funcionales” con un valor de (1,98%). Estos resultados indican que tanto el Aceite E. de (*Eryngium foetidum*) como el (*Lactobacillus plantarum*) pueden desempeñar un papel en la reducción de la acidez en productos alimenticios. Esto puede ser de interés para la industria alimentaria, ya que una menor acidez puede influir en el sabor y la aceptación del producto por parte de los consumidores, esta diferencia significativa en los niveles de acidez entre los resultados de la presente investigación y los de Buenaño podría deberse a varias variables, como las cepas de bacterias utilizadas, las condiciones de fermentación o los métodos de medición empleados en ambas investigaciones.

4.2.2. Concentraciones (Factor B).

Con respecto a las concentraciones (Factor B) considerando los resultados del pH, se observó que la concentración con un mayor contenido de pH es de 2% dando un valor de (5,62 %) frente a la concentración de 1% con un valor de (5,56%), valores que se encuentran por encima de lo propuesto por (Estrada Alarcón, 2021), en su investigación titulada “Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas” el pH fue mayor con la concentración de 50 ppm con (5,29). Estos resultados indican que las concentraciones del 2% y del 1% en el contexto de la presente investigación han demostrado ser más efectivas para aumentar el pH en las chuletas ahumadas de cerdo.

Los resultados de la variable acidez para la concentración de 3% se encontró el mayor contenido con un valor de (0,62%), frente a las concentraciones 1 y 2% con un valor de (0,56%), valores que se encuentran por encima de lo propuesto por (Estrada Alarcón, 2021),

en su investigación titulada “Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas”, la acidez fue mayor con una concentración de 200 ppm con 0,42% de acidez.

En los resultados de la variable proteína, el valor más elevado se encuentra en la concentración al 1% con (17,12%) frente a la concentración del 3% con un valor de (16,63%), valores que se encuentran por encima de lo propuesto por (Estrada Alarcón, 2021) en su investigación titulada “Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas”, obtuvo un resultado de (1,22%). Las concentraciones de 1% y 3% que se han utilizado en la aplicación de conservantes a las chuletas de cerdo y las concentraciones utilizadas en la investigación de Estrada Alarcón, pueden variar significativamente en términos de tipo y cantidad de conservantes.

Los resultados de la variable ceniza para la concentración de 1% se encontró el mayor contenido con un valor de (2,64%), frente a la concentración de 3% con un valor de (2,44%), (Estrada Alarcón, 2021) en su investigación titulada “Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas” indicó un valor promedio entre 0,060% y 0,295%. Las concentraciones usadas del 1% y 3% en la presente investigación presentan resultados con diferencia significativa frente a los resultados de Estrada debido a que las concentraciones y tipos de ingredientes utilizados pueden influir en el contenido de ceniza. Es importante destacar que el tipo de alimento, su procesamiento y los ingredientes agregados pueden contener cenizas de manera diferente.

Los resultados de la variable humedad para la concentración de 2% se encontró el mayor contenido con un valor de (55,08%), frente a la concentración de 3% con un valor de (53,20%), valores que se encuentran por debajo de lo propuesto por (Paca Agualsaca, 2010) en su investigación titulada “Utilización de Diferentes Niveles de Proteína Vegetal Hidrolizada (0, 8,1-6 y 2,4,%) como Potenciadora del Sabor en el Ahumado de Conejo”, con un valor de (65,54%) con un nivel de proteína vegetal hidrolizada del 0,8. Es importante considerar las concentraciones utilizadas en ambas investigaciones. Si la investigación de Paca Agualsaca involucró el uso de proteína vegetal hidrolizada, esta podría haber afectado la retención de agua de manera diferente en comparación con la presente investigación en chuletas de cerdo.

4.2.3. Métodos de aplicación Factor C.

Considerando los resultados del pH, se observó que el mayor contenido se encuentra en el método de aspersión con un valor de (5,59) frente al método de encapsulado con un valor de (5,58) valores que se encuentran debajo de lo propuesto por (Segovia, 2014) en su investigación titulada “Utilización de aceites esenciales naturales como conservantes en la elaboración de salchichas de pollo” se presentaron valores entre (6,04) y (5,80). El uso de aceites esenciales naturales como conservantes en las chuletas de cerdo ahumadas, puede interactuar de manera diferente con la carne en comparación con las salchichas de pollo estudiadas por Segovia. La interacción de los ingredientes con la matriz de alimentos puede influir en el pH.

Con respecto a la variable ceniza, se presentó un valor mayor en el método de aspersión con (2,56%), frente al método de encapsulado con un resultado de (2,54%), valores que se encuentran por debajo de lo propuesto por (Paca Agualsaca, 2010) en su investigación titulada “Utilización de Diferentes Niveles de Proteína Vegetal Hidrolizada (0, 8,1-6 y 2,4%) como Potenciadora del Sabor en el Ahumado de Conejo”, con un valor de (5,11%) con un nivel de proteína vegetal hidrolizada del 0. Las chuletas de cerdo ahumadas son diferentes en términos de ingredientes y matriz alimentaria en comparación con el conejo ahumado estudiado por Paca Agualsaca. La composición y los ingredientes específicos pueden influir en el contenido de ceniza.

En la variable humedad se identificó el mayor contenido en el método de encapsulado (54,13%), frente al resultado obtenido en el método de aspersión con un valor de (53,93%), valores que se encuentran por debajo de lo propuesto por (Bertullo, J., Fernández, Gómez, & Pollak, 2008) en su investigación titulada “Desarrollo tecnológico de carne ahumada de esturión”, con un porcentaje de humedad del (64,5%). El método de encapsulado y el método de aspersión, pueden influir en la retención de humedad en el producto final. La forma en que se aplican los bioconservantes y los tratamientos de procesamiento pueden influir en la cantidad de humedad presente en las chuletas de cerdo ahumadas.

Considerando los resultados obtenidos de la variable proteína identificas el mayor contenido en el método de aspersión (15,98%), frente al método de encapsulado con un valor de (15,35%), valores que se encuentran por debajo a lo establecido por (Paca Agualsaca, 2010) en su investigación titulada “Utilización de Diferentes Niveles de Proteína Vegetal

Hidrolizada (0,8,1-6 y 2,4, %) como Potenciadora del Sabor en el Ahumado de Conejo”, con un valor de (23,38%). El proceso de ahumado puede afectar la composición nutricional de la carne, pero en general, ambas carnes se ahúman de manera similar. Sin embargo, la carne de cerdo a menudo se utiliza en cortes que incluyen partes más grasas, como la chuleta, lo que puede contribuir a una reducción en la proporción de proteínas. El proceso de aspersión y encapsulado, así como los procesos de producción, pueden influir en la retención de proteínas en el producto final. La interacción de los conservantes con la carne y los tratamientos de procesamiento pueden influir la proporción de proteína.

4.2.4. Tipos de bioconservantes*Concentraciones*Métodos de aplicación (AxBxC).

Considerando los resultados de la variable pH el mayor valor se obtuvo en la interacción a0b1c1: Aceite esencial + 2% + Aspersión (6,67), frente a la interacción a1b0c1: *Lactobacillus plantarum* + 1% + Aspersión (5,49), de acuerdo con la norma INEN 1 347 “Carne y productos cárnicos. Carne ahumada. Requisitos”. El pH máximo permitido es de (6,2), los aceites esenciales, incluido el aceite esencial de *Eryngium foetidum*, a menudo contienen compuestos volátiles y aromáticos. Estos compuestos pueden tener propiedades ácidas o alcalinas que afectan el pH del producto. La concentración del aceite esencial en el producto puede influir en la cantidad de estos compuestos presentes y, por lo tanto, en el pH resultante.

Considerando los resultados de la variable ceniza el mayor valor se obtuvo en la interacción a1b0c0: *Lactobacillus planarum* + 1% + Encapsulado (3,12%), frente al que se obtuvo en la interacción a0b2c0: Aceite esencial + 3% + Encapsulado (2,06%), valores que se encuentran dentro de lo propuesto de acuerdo con la norma INEN 1 347 “Carne y productos cárnicos. Carne ahumada. Requisitos”. El porcentaje de ceniza máximo permitido es de (6%).

En cuanto a los resultados de la variable humedad se mostró que el mayor valor se encontró en la interacción a1b1c0: *Lactobacillus planarum* + 2% + Encapsulado (56,11%), frente al que se obtuvo en la interacción a0b2c0: Aceite esencial + 3% + Encapsulado (50,37%), de acuerdo con la norma INEN 1 347 “Carne y productos cárnicos. Carne ahumada. Requisitos”. El porcentaje de humedad máximo permitido es de (50%), la duración y la temperatura del proceso de ahumado pueden influir en la cantidad de humedad perdida.

Dentro de los resultados de la variable proteína, el mayor contenido se encontró en la interacción a1b0c1: *Lactobacillus planarum* + 1% + Aspersión (22,03%), frente al que se obtuvo en la interacción a1b2c1: *Lactobacillus planarum* + 3% + Aspersión (12,40%), de acuerdo con la norma INEN 1338 “Carne y productos cárnicos. productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados - madurados y productos cárnicos precocidos - cocidos. Requisitos”. El porcentaje total mínimo requerido de proteína es de 14%, la aplicación de bioconservantes en concentraciones inadecuadas podría interferir con el proceso de ahumado y afectar la retención de proteínas.

Tenemos la variable acidez en la cual el mayor contenido se presentó en la interacción a0b0c0: Aceite esencial + 1% + Encapsulado (0,71%), frente al que se obtuvo en la interacción a0b0c1: Aceite esencial + 31% + Aspersión (0,46%), valores que se encuentran por encima de lo propuesto por (Estrada Alarcón, 2021) en su investigación titulada “Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas”, la acidez fue mayor con una concentración de 200 ppm con 0,42% de acidez.

4.2.5. Microbiológicos

De acuerdo con el RTE INEN 056 (2011) la carne comestible puede tener un mínimo de $1,0 \times 10^6$ hasta $1,0 \times 10^7$ UFC/g de aerobios mesófilos; por lo que se considera que los tratamientos (a0b1c1) (AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 2 % + Aspersión); (a0b2c0) (AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado); (a1b2c0) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado); (a1b2c1) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión) son aptos para el consumo humano ya que no se encontró presencia alguna de aerobios mesófilos; conforme al RTE INEN 056 (2011) en los productos cárnicos curados – madurados debe existir ausencia en *Salmonella*, por lo cual el tratamiento: (a1b2c0) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado) cumple con esta norma ya que se encontró ausencia total, en la NTE INEN 1 340:96. Carne y productos cárnicos permite máximo 1×10^1 de enterobacterias, siendo (a1b2c0) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado) el tratamiento que cumple con esta norma ya que se encontró un valor de 10 UFC/ml.

En cuanto a los coliformes totales se encontró ausencia total en los tratamientos de estudio (a0b1c1) (AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 2 % + Aspersión); (a0b2c0) (AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado); (a1b2c0) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado); (a1b2c1) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Aspersión); con respecto a los mohos y

levaduras se encontró ausencia en el tratamiento (a0b2c0) AE. de *Eryngium foetidum* (culantro silvestre) + 3 % + Encapsulado y (a1b2c0) (*L. plantarum* (BAL) + 3 % + Encapsulado) en la investigación de (JÁTIVA, 2017) titulado “Utilización de conservantes mediante atomización en salchichas con tripa de celulosa” se observa que hubo un crecimiento leve con un valor medio de (2,6).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- En cuanto a pH se concluye que la concentración de 2% (5,62) presento valores óptimos, con respecto a acidez las concentraciones 1 y 2% presentan menor acidez, en cuanto a proteína, la concentración al 1% (17,12%) presento valores más altos y los valores altos de ceniza se encontró en la concentración de 1% (2,64%). Además, los resultados de humedad más aceptables se encontraron en la concentración de 3% con un valor de (53,20%).
- Evaluando los métodos de aplicación se concluye que el método de aspersión arrojó los resultados más destacados en múltiples parámetros clave. Esta técnica mantuvo un pH óptimo de 5,59 y una concentración significativa de proteína con 15,98%, con respecto a la variable ceniza, se presentó un valor óptimo en el método de aspersión con (2,56%), en cuanto al contenido de humedad en el método de aspersión se obtuvo el mejor valor de (53,93%), se observa que el método de encapsulado en los análisis fisicoquímicos presenta un contenido menor con respecto al método de aspersión, razón por la cual se considera la opción más adecuada.
- De acuerdo a los datos expuestos en los análisis microbiológicos se concluye que: Los bioconservantes aceite esencial de culantro silvestre y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) demostraron su efectividad presentando la ausencia de aerobios mesófilos y coliformes totales, ausencia de salmonella, mohos y levaduras entre sus interacciones y un nivel aceptable de enterobacterias, estos resultados confirman la seguridad de los tratamientos evaluados y su conformidad con los requisitos normativos, convirtiéndolos en opciones viables para el consumo humano.
- Al evaluar los tipos de bioconservantes se concluye (*Lactobacillus plantarum*) presento mejores resultados tanto en: pH (5,54) ceniza (2,80%) humedad (54,54%) proteína (15,85%) acidez (0,56%) valores óptimos que además se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la normativa INEN.

5.2. Recomendaciones

- Con respecto a las concentraciones de los bioconservantes las concentraciones del 1% y 2% presentan mejores resultados en las variables de pH, acidez, ceniza y proteína, en la concentración del 3% presento resultados óptimos en cuanto al contenido de humedad, se sugiere continuar investigando para identificar una concentración que equilibre las variables de pH, acidez, ceniza, proteína y humedad de acuerdo con los parámetros establecidos en la normativa INEN.
- En base al método de aplicación se sugiere el método de aspersión debido a que muestra resultados factibles en los análisis fisicoquímicos pH, acidez, ceniza, humedad y proteína, los cuales se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la normativa INEN.
- De acuerdo con los análisis microbiológicos se recomienda: Los bioconservantes aceite esencial de culantro silvestre y la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) ya que ambos demostraron su efectividad confirmando la seguridad de los tratamientos evaluados.
- Con relación a los tipos de bioconservantes en base a los análisis fisicoquímicos realizados se recomienda la bacteria ácido láctica (*Lactobacillus plantarum*) debido a que presenta mejores resultados en comparación con el aceite esencial de culantro silvestre.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

- Alvarado., C. G. (2022). Evaluación del efecto conservante del aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo) en la elaboración de productos cárnicos cocidos. Evaluación del efecto conservante del aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo) en la elaboración de productos cárnicos cocidos., (pág. 81). Cuenca. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbnmnibpcjpcglclefindmkaj/http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/37846/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>
- Araújo, C. (2019). Formación de biofilms por bacterias. Obtenido de <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/88065/TFG%20CRISTINA%20ANDREA%20ARA>
- Barbecho, P. (2019). Aplicación del proceso de la técnica de ahumado empírico-artesanal en trucha y tilapia para uso en recetas. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/32444/3/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.pdf>
- Barcenilla, C. (2019). Estrategias innovadoras de bioconservación en la. Obtenido de <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/38223/TFM-L487.pdf?sequence=1>
- Basantez, A. (2022). Efecto de la adición de microencapsulado de aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) y Chía (*Salvia hispánica*) en el tiempo de vida útil de un suplemento alimenticio. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/36528/1/CAL%20009.pdf>
- Becerra, S., Maldonado, E., & Castro, S. (2022). Efecto bioconservante del propóleo y su aplicación en la conservación de matrices cárnicas. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-41082022000100125
- Bertullo, E., J., C., Fernández, S., Gómez, F., & Pollak, A. (2008). Desarrollo tecnológico de carne ahumada de esturión (*Acispenser spp.*). Montevideo, Uruguay. Obtenido de [file:///D:/Downloads/marina_fig,+94-317-1-SM%20\(1\).pdf](file:///D:/Downloads/marina_fig,+94-317-1-SM%20(1).pdf)

- Bohrer, B. (2019). An investigation of the formulation and nutritional composition of modern. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.11.006>
- Brignone, S. (2020). Microencapsulación/ recubrimiento de sistemas particulados . Obtenido de https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/143385/CONICET_Digital_Nro.37fee469-d7f5-4a56-8806-c64a1524d42d_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Buenaño, J. V. (2023). “UTILIZACIÓN DE BACTERIAS *Lactobacillus acidophilus* EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHAS FERMENTADAS FUNCIONALES”. (págs. 37-54). Riobamba. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/18806/1/27T00593.pdf>
- Castellanos, J., Galvis, J., Pérez, R., Grande, J, Lucas, R., . . . A. (2022). Las bacteriocinas y su efecto sinérgico con tecnologías emergentes en alimentos. Obtenido de <https://revistas.utadeo.edu.co/index.php/mutis/article/download/bacteriocinas-efecto-sinergico-tecnologias-emergentes-alimentos/1898/5687>
- Ceballos, V. (2022). Aceites esenciales en la conservación de alimento. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.18041/2022-2343-0320/microciencia.0.2017.3659>
- Ceballos, V., & Londoño, L. (2018). Aceites esenciales en la conservación de alimentos. Obtenido: <https://repository.unilivre.edu.co/bitstream/handle/10901/17599/4.%20ACEITES%20ESENCIALES.%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y> de
- Cofre, D. (2022). Aplicación de aceites esenciales como aditivos naturales en los sistemas. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34988/1/CBT%20002.pdf> de
- Díaz, E., & Loayza, G. (2023). Determinación de bacterias ácido lácticas en jamones e identificación de la fuente de contaminación dentro de la cadena de producción . Obtenido de: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/40721/2/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>

- Díaz, E., Cerón, G., & Vargas, E. (2022). Encapsulación de compuestos bioactivos: una revisión sistemática. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/187085/Estudio-para-el-desarrollo-de-envolturas-de-encapsulamiento-que-permitan-una.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Díaz, E., Cerón, I., & Vargas, E. (2023). Encapsulación de compuestos bioactivos: una revisión sistemática. Obtenido de <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/download/9575/9371/>
- Díaz, Y., & Salgado, J. (2022). Bacterias ácido lácticas como bioconservantes en carnes en la industria alimentaria. Obtenido de <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/5670/bacterias%20%28%29.pdf?sequence=1&isallowed=y>
- Díaz, Y., & Salgado, G. (2022). Bacterias ácido lácticas como bioconservantes en carnes en la industria alimentaria. Obtenido de <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/handle/unicolmayor/5670>
- Estrada Alarcón, R. M. (2021). Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante de suero de leche bovina procedente de distintas zonas., (págs. 73-74). Santo Domingo de los Tsáchilas. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25891/1/T-ESPESD-003136.pdf>
- Fajardo, C., Jurado, H., & Parra, M. (2021). Viabilidad de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición sobre *Escherichia coli* O157:H7. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v24n1/0123-4226-rudca-24-01-e1733.pdf>
- Fernández, S. (2022). Caracterización de bacterias ácido lácticas (bal) para la producción de ácido láctico (al) a escala de planta piloto. Obtenido de <https://www.ingbiosistemas.ucr.ac.cr/wp-content/uploads/2022/11/TFG-SilviaFernandezFernandez.pdf>
- Flores, C. (2022). Evaluación del efecto conservante del aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo) en la elaboración de productos cárnicos cocidos. Obtenido de

<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/37846/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>

- FMO. (2022). Extracción de Aceites y grasas de origen vegetal. Obtenido de <https://asobanca.org.ec/wp-content/uploads/2022/11/3.-Informe-de-Extraccion-de-Aceites-y-grasas-de-origen-vegetal.pdf>
- González, J., Rodríguez, J., Herrera, E., Torre, L., & Pérez, R. (2021). Identificación genética de bacterias ácido lácticas nativas en leche cruda de vaca y queso Poro artesanal. Obtenido de <https://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/view/214>
- Grande, J., Lucas, R., López, C., Pérez, R., & Gálvez, A. (2019). BIOCONSERVACIÓN DE ALIMENTOS CÁRNICOS. Obtenido de <file:///C:/Users/User/Downloads/Dialnet-BioconservacionDeAlimentosCarnicos-4247301.pdf>
- Inocente, F., Eccoña, A., & Silva, R. (2021). Alimentos mínimamente procesados: Generalidades, procesamiento, consumo. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8085142.pdf>
- Jácome, W. (2022). Evaluación del proceso de encapsulación mediante secado por aspersión para la conservación de betacarotenos contenidos en la *Daucus carota* var. chantenay (zanahoria) de rechazo de poscosecha de *Daucus carota* var. chantenay (zanahoria). Obtenido de Agrocomercial Don Luis: <http://dspace.espe.edu.ec/bitstream/123456789/16245/1/20T01530.pdf>
- Jaramillo, B. (2022). Composición química volátil del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. colombiano y determinación de su actividad antioxidante / Volatile chemical composition of the essential oil from colombian *Eryngium foetidum* L. and determination of its antioxidant a. Obtenido de <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-615234567716>
- Jarrín, K. (2021). Obtención de microcápsulas de colágeno hidrolizado enriquecido con pulpa de *Ananas comusus* (piña) mediante el método de secado por atomización para su posterior aplicación en la industria alimentaria. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/29280/1/T-ESPE-052300.pdf>

- JÁTIVA, G. V. (2017). “Utilización de conservantes mediante atomización en., (pág. 57). Riobamba. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8130/1/27T0387.pdf>
- Jiménez, W., Zamora, J., Campoverde, J., & Mariscal, W. (2022). Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de citrus. Obtenido de <https://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/download/921/1335/>
- Landines, E. (2022). Evaluación de la aplicación de aceites esenciales como conservantes en la elaboración de chorizo cuencano. Obtenido de <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/iqd/article/view/2132/3016>
- Llorens, J. (2021). Los aceites esenciales y su actividad biológica. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8109675.pdf>
- López, C. (2020). Salmuera en alimentos. Obtenido de doi:10.13140/RG.2.2.12158.00324
- López, N. (2018). *Eryngium foetidum* L. — Umbelliferae. Obtenido de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=eryngium-foetidum>
- Mallea, S. (2022). Estudio para el desarrollo de envolturas de encapsulamiento que permitan una liberación controlada de esporas de hongos bajo condiciones de microgravedad. Obtenido de : <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/187085/Estudio-para-el-desarrollo-de-envolturas-de-encapsulamiento-que-permitan-una.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Manchay, Y. (2022). Beneficios de las semillas de calabaza. Obtenido de <https://www.trt.net.tr/espanol/programas/2022/12/26/beneficios-de-las-semillas-de-calabaza-1922060>
- Medina, P. (2020). Diseño y dimensionamiento de una planta de extracción de aceite vegetal. Obtenido de https://oa.upm.es/65740/1/TFG_PAULA_MEDINA_LAMO.pdf

- Mendieta, J., & Zambrana, S. (2021). Tiempo y temperatura de tostado sobre el grado de alergia alimentaria en la semilla de zapallo. Obtenido de <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1414/1/TTAI19D.pdf>
- Michael, G. M. (2023). "Poder bioconservador del ahumado, la nisina y el aceite esencial de clavo de olor (*syzygium aromaticum*), en salchichas frankfurt"., (pág. 50). Latacunga. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/9991/1/MUTC-001420.pdf>
- Miranda Morales, B. C. (2016). Determinación de los rendimientos y caracterización de aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación a partir de *Lippia alba* y *Rosmarinus officinalis*. Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca. Obtenido de <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/5569>
- Paca Agualsaca, M. V. (2010). Utilización de Diferentes Niveles de Proteína Vegetal Hidrolizada (0, 8,1-6 y 2,4,%) como Potenciadora del Sabor en el Ahumado de Conejo [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]., (pág. 60). Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/823>
- Parra Huertas, R. A. (2010). Microencapsulación de alimentos. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín., (pág. 63 (2)). Medellín. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472010000200020&lng=en&tlng=es.
- Pérez, F. (2022). Microencapsulación de compuestos fenólicos de la planta de sunfo (*Clionopodium nubigenum* Kunth Kuntze), mediante. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/9076/1/MUTC-001312.pdf>
- Pérez, P. (2022). Bioconservación en productos cárnicos. Obtenido de https://elsevier//articulos/bioconservacion-en-carne-productos-carnicos_92345234276/
- Piedad, K., Soto, J., & Salas, E. (2023). Composición química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Thymus vulgaris* L. sobre *Salmonella* spp. Obtenido de <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/854>
- Rivadeneira, J., & Zambrano, J. (2021). Bioconservación de carnes para el consumo humano

con la adición de mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.). Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/7d63c6dc-4805-4bd6-b69f-72c0e0275a5e/content>

Roca, J. (2022). Aceites esenciales y plantas aromáticas como aditivos nutricionales. Obtenido de <https://nutri2345678/aceites-esenciales-y-plantas-aromaticas-como-aditivos-nutricionales/>

Rodríguez, J. (2018). Estructura química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. "siuca culantro". Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.3456500.12672/3796>

Rodríguez, R. (2021). Revisión bibliográfica sobre las bacteriocinas y su aplicación como bioconservante dentro de la industria alimentaria. Obtenido de <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/8643/1/8.%20Tesis%20final.pdf>

Rosero, C., Lorena, M., García, E., & Viracocha, L. (2020). Nomenclatura y usos del culantro de monte (*Eryngium foetidum* L.) en la comunidad San Antonio de Padua, cantón Quinsaloma, Provincia de Los Ríos – Ecuador. Obtenido de <https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/download/49/42/83>

Ruales, M. (2021). Estudio sobre el uso de aceites esenciales para la conservación de productos lácteos y cárnicos. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/25477>

Sánchez, M., Rojas, R., Wong, J., & Muñiz, D. (2020). Estudio del potencial antioxidante de aceites esenciales de laurel, orégano y damiana pretratados con ultrasonido. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8507633.pdf>

Sánchez, S. (2021). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de papaya (*Carica papaya*) y naranjilla (*Solanum quitoense*). Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25894/1/T-ESPESD-003144.pdf>

Sánchez, S. (2022). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de café (*Mucílago*), *Coffea arábica* y *Coffea canephora*, para la bioconservación de col (*Brassica oleracea*) y lechuga (*Lactuca sativa*). Obtenido de

<http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/32551/T-ESPESD-003235.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sánchez, W. (2021). “Caracterización físico química de las hojas de culantro (*eryngium foetidum*) deshidratadas de forma natural y artificial para su aplicación como condimento”. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/6c62cd96-1928-4988-baaf-47786f4c4ec5/content>

Segovia, S. R. (2014). Utilización de aceites esenciales naturales como conservantes en la elaboración de salchichas de pollo [Tesis de Maestría, Universidad Politécnica Selesiana]., (pág. 75). Cuenca. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7009/1/UPS-CT003676.pdf>

Simba, L. (2022). Materiales de cambio de fase micro encapsulado usados para modificar las propiedades. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25996/1/UCE-FCQ-CQ-SIMBA%20LUIS.pdf>

Tibaduiza, L., Ovalle, J., & Botero, M. (2021). Conservación y manejo de la diversidad microbiana en los bancos de germoplasma para la alimentación y la agricultura en Colombia. Obtenido de https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/36935/Ver_Documento_36935.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Troya, O. (2022). Simulación del secado por atomización de las proteínas presentes en el lactosuero de leche a través de la dinámica de fluidos computacional. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/29496/1/FIQ-SA-OBANDO%20PIAGGET.pdf>

Vallejo, K. (2021). Utilidad de las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas para la bioconservación de productos cárnicos. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15524/1/27T00476.pdf>

Vargas, V. (2023). Aplicación de ácido poliláctico como empaques para ensaladas mínimamente procesadas previamente tratadas con aceites esenciales. Obtenido de <https://www.ingbiosistemas.ucr.ac.cr/wp-content/uploads/2023/03/TFG-ValeriaVargas.pdf>



Zamora, R., & Rodiles, J. (2020). Encapsulamiento de alimentos. Obtenido de <https://tecnoagro.com.mx/no.-145/encapsulacion-en-alimentos>

CAPÍTULO VII





ANEXOS

Anexo 1. Extracción del aceite esencial

| Recepción | Secado |
|---|--|
|  A photograph showing several aluminum trays filled with fresh, vibrant green leaves, likely basil, arranged on a metal grid surface inside a drying rack or oven. |  A photograph showing a large aluminum tray filled with dried, yellowish-brown leaves, indicating the completion of the drying process. |
| Diluciones | Filtrado |
|  A photograph showing three Erlenmeyer flasks of varying sizes containing a dark, viscous liquid, representing the dilution stage of the essential oil extraction. |  A photograph showing a glass beaker with a filter funnel containing a dark liquid, representing the filtration stage of the essential oil extraction. |

| Extracción | Obtención y envasado |
|---|--|
|  |  |

Anexo 2. Elaboración de las chuletas ahumadas de cerdo.

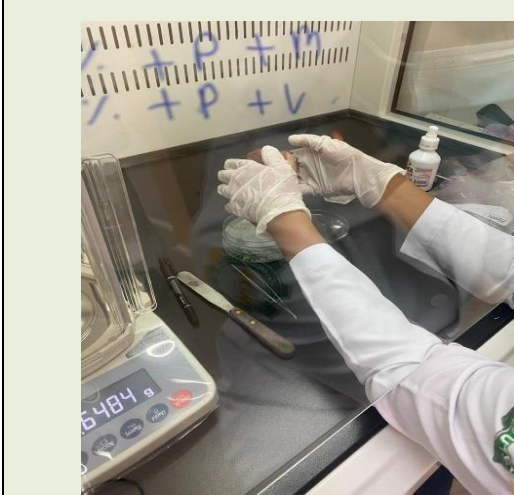
| Recepción | Cortado |
|---|--|
|  |  |
| Inyección de salmuera | Almacenamiento |
|  |  |



Anexo 3. Aplicación de los bioconservantes a las chuletas.



Aplicación del A.E culantro encapsulado



Sellado al vacío y rotulado

