



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

## **FACULTAD CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN**

### **CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

Proyecto de Investigación previo a la  
obtención del título de Ingeniero  
Agroindustrial

#### **Título del Proyecto de Investigación**

BIOCONSERVACIÓN DE CARNES PARA EL CONSUMO HUMANO CON LA  
ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)

#### **Autores:**

Arguello Rivadeneira Jasson Gabriel

Mendoza Zambrano Johnny Leonel

#### **Director de Proyecto:**

Ing. José Vicente Villarroel Bastidas, MSc.

**Quevedo - Ecuador**

**2021**



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Nosotros, **Arguello Rivadeneira Jasson Gabriel** y **Mendoza Zambrano Johnny Leonel**, declaramos que la investigación aquí descrita es de nuestra autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que hemos 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 normatividad institucional vigente.

F)

ARGUELLO RIVADENEIRA  
JASSON GABRIEL

C.I. 2300100316

F)

MENDOZA ZAMBRANO JOHNNY  
LEONEL

C.I. 1310995624



## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

El suscrito, **Ing. José Villarroel Bastidas, MSc**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que los estudiantes Arguello Rivadeneira Jasson Gabriel y Mendoza Zambrano Johnny Leonel, realizaron el Proyecto de Investigación de grado titulado **BIOCONSERVACIÓN DE CARNES PARA CONSUMO HUMANO CON LA ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)**, previo a la obtención título de Ingeniero Agroindustrial, bajo su dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentaria establecidas para el efecto.

JOSE VICENTE  
VILLARROEL  
BASTIDAS

Firmado digitalmente por JOSE  
VICENTE VILLARROEL BASTIDAS  
Fecha: 2021.07.28 16:39:12-05'00'

---

**Ing. José Villarroel Bastidas, MSc.**

**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



## REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito, Ing. José Villarroel Bastidas, MSc., mediante el presente cumpla en presentar a usted, el informe del proyecto de investigación cuyo tema es **BIOCONSERVACIÓN DE CARNES PARA CONSUMO HUMANO CON LA ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)**, presentado por los estudiantes ARGUELLO RIVADENEIRA JASSON GABRIEL Y MENDOZA ZAMBRANO JOHNNY LEONEL egresados de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, que fue realizado bajo dirección según resolución del Consejo Académico de la Facultad de Ciencias de la Industria y Producción, que se ha desarrollado de acuerdo al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial 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 92% y similitud 8%, de trabajo investigativo.

**URKUND**

Dokument	<a href="#">"Bioconservación de carnes para el consumo humano con la adición de mucilago de cacao (Theobroma cacao L.)".docx (D110828296)</a>
Inskickat	2021-07-28 16:00 (-05:00)
Inskickad av	José Villarroel (jvillarroel@uteq.edu.ec)
Mottagare	jvillarroel.uteq@analysis.orkund.com
Meddelande	<a href="#">Visa hela meddelandet</a>

8% av det här c:a 45 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 22 st källor.

JOSE VICENTE  
VILLARROEL  
BASTIDAS

Firmado digitalmente por JOSE  
VICENTE VILLARROEL BASTIDAS  
Fecha: 2021.07.28 16:39:12-05'00'

**Ing. José Villarroel Bastidas, MSc.**

**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



## UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

### FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN

#### CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

#### PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

##### Título:

BIOCONSERVACIÓN DE CARNES PARA EL CONSUMO HUMANO CON LA ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)

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

Aprobado por:

AZUCENA  
ELIZABETH  
BERNAL  
GUTIERREZ

Digitally signed by  
AZUCENA ELIZABETH  
BERNAL GUTIERREZ  
Date: 2021.11.26  
21:52:22 -05'00'

---

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Azucena Bernal Gutiérrez, MSc.

GINA MARIUXI  
GUAPI ALAVA

Firmado digitalmente porGINA MARIUXI GUAPI  
ALAVA  
DN: cn=GINA MARIUXI GUAPI ALAVA, gn=GINA  
MARIUXI, c=EC, fo=QUEVEDO, ou=Certificado de  
Clase 2 de Persona Física EC,  
email=guapi99@gmail.com  
Motivo: Soy el autor de este documento  
Ubicación:  
Fecha: 2021.11.27 14:05:05:00

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Gina Guapi Álava, MSc.

FERNANDA GERMANIA  
TIRIRA CHULDE

Nombre de reconocimiento  
SERIALNUMBER=0000624008 +  
CN=FERNANDA GERMANIA TIRIRA  
CHULDE, L=QUITO, OU=ENTIDAD DE  
CERTIFICACIÓN DE INFORMACION-  
ECUBCE, O=BANCO CENTRAL DEL  
ECUADOR, C=EC  
Razón:  
Localización:  
Fecha: 2021-11-27T13:48:44.846-05:00

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Fernanda Tirira Chulde, MSc.

QUEVEDO – ECUADOR

2021

## AGRADECIMIENTO

Gracias a mis padres: Mercedes Rivadeneira y Ricardo Arguello, porque fueron los principales promotores de mis sueños, porque confiaron en mí y creyeron en mis expectativas, por los principios, consejos y valores que me enseñaron.

A mis hermanos Edison y Javier, gracias por su apoyo incondicional durante este proceso. A mi familia por las palabras de aliento y por estar conmigo en todos mis sueños y metas.

De manera especial a aquellos amigos que se convirtieron en familia, Luis Espín, Ángel Valle, Rubén Jaya, Lisseth Zamora, Mayton Mina y Rafael Guerrero, por aquella frase “Ustedes no son amigos, ustedes son familia <3”. Aquellos con los que forme una gran amistad siendo de otra carrera Wendy Bolaños, Leslie Sinchiguano, Byron Troya, René Valencia, Xavier Muñoz, Steven Hurtado, Fabricio Olaya, Aura Taquez, Josselyn Vergara, Jean Almeida, Steven Gualpa y Emily Reasco quien con su ayuda nos facilitó el mucílago de cacao.

A los más grandes amigos que el destino me pudo ofrecer y me acompañaron desde el inicio de la vida universitaria Leonel Mendoza, Jonny Soliz y Exinhower Macias.

A mis compañeros y amigos Belén Pazmiño, Jennifer Vera, Maritza Cabezas, Tony Torres, Daniel Cedeño, Paola Espinales, Valeria Macias, Ingrid Alcívar, William Alarcón, Diana Benítez, Alejandro Dávila, Zuley Olvera, Victor Robles, Carlos Arce, Anlly Arce, Brigitte Sánchez, Lieska Izurieta, Lady Lopez, José Soriano, Pamela Mendoza, Sandy Aguirre, Rubí Uribe, Andrea Nuñez, Jeacqueline Macias, Andreina Quijije, Genesis Vásquez, Mayra Castillo, Joselyn Alcívar, Jenny Mendoza, Jefferson Párraga, Javier Revilla, Joffre Veintimilla, Brayan Vera, John Barco y en especial a una amiga que su luz se apagó muy pronto, Estefanía Paute.

A mi querida Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por formarnos como Ingenieros Agroindustriales. De igual forma, agradecer a nuestro director de proyecto Ing. José Villaroel que gracias a sus consejos y correcciones logramos desarrollarlo con éxito.

A nuestros tutores de laboratorio, Ing. Ángel Cedeño e Ing. Antonio Mendoza, quien transmitieron todos sus conocimientos, y fueron grandes amigos y ayuda constante en el desarrollo de nuestro proyecto de investigación.

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a mis padres: Johnny Mendoza y María Zambrano, por guiarme a lo largo de la vida, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A mis hermanos Leonela y Deyton, por su apoyo incondicional durante todo este proceso, y por siempre estar cuando los necesito, gracias. A toda mi familia porque con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

A mis compañeros y amigos Belén Pazmiño, Jennifer Vera, Maritza Cabezas, Tony Torres, Daniel Cedeño, Paola Espinales, Valeria Macias, Ingrid Alcívar, William Alarcón, Diana Benítez, Alejandro Dávila, Zuley Olvera, Victor Robles, Carlos Arce, Anlly Arce, Brigitte Sánchez, Lieska Izurieta, Lady Lopez, José Soriano, Pamela Mendoza, Sandy Aguirre, Rubí Uribe, Andrea Nuñez, Jeacqueline Macias, Andreina Quijije, Genesis Vásquez, Mayra Castillo, Joselyn Alcívar, Jenny Mendoza, Jefferson Párraga, Javier Revilla, Joffre Veintimilla, Brayán Vera, John Barco y en especial a una amiga que su luz se apagó muy pronto, Estefanía Paute.

Mi profundo agradecimiento a los más grandes amigos que el destino me pudo ofrecer, Jasson Arguello, Jonny Soliz, Exinhower Macías, Peter Arguello, Angie Zambrano, Frank Paredes, Alejandra Moreira y René Valencia, por apoyarme cuando más los necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por la amistad brindada cada día, de verdad mil gracias, siempre los llevo en mi corazón.

A mi querida Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por formarnos como Ingenieros Agroindustriales. De igual forma, agradecer a nuestro director de proyecto Ing. José Villaroel que gracias a sus consejos y correcciones logramos desarrollarlo con éxito.

A nuestros tutores de laboratorio, Ing. Ángel Cedeño e Ing. Antonio Mendoza, quien transmitieron todos sus conocimientos, y fueron grandes amigos y ayuda constante en el desarrollo de nuestro proyecto de investigación.

## **DEDICATORIA**

Con todo mi corazón dedico esta meta a mi madre, pues sin ella no lo habría logrado, tu bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien. A mi padre, por brindarme su soporte desde el primer día, tanto monetario como moral, sus consejos y educación han sido de los mejores. A mis hermanos, por siempre estar para mí, saben que este logro también es de ellos. A mis amigos, especialmente aquellos que pasaron a ser familia y formamos el grupo “La familia <3, El gato”.

*Jasson Gabriel Arguello Rivadeneira*

## **DEDICATORIA**

Esta meta se la dedico grandemente a mi papá por siempre confiar en mí y en mis capacidades, a mi mamá por su apoyo incondicional y su amor, a mi hermana por siempre estar ahí cuanto la necesité, a mi familia por ser esa motivación de cada día ser mejor. A mis amigos por su apoyo y ayuda constante durante todo este proceso. Y a mi soulmate, por ayudarme a comprender, que cuando menos lo esperas, llega la persona indicada a complementar y alegrar de la mejor manera tu vida.

*Johnny Leonel Mendoza Zambrano*

## RESUMEN

La carne es un alimento importante para el desarrollo mental y corporal, puesto que contribuye con una gran cantidad de nutrientes por su contenido de proteínas, grasas, vitaminas y minerales. La bioconservación ha evolucionado debido al continuo rechazo de los aditivos químicos, explora el uso de bacterias como posibles agentes antimicrobianos naturales para prolongar la vida útil de los alimentos y garantizar su inocuidad. El mucílago de cacao contiene bacterias lácticas (BAL), microorganismos utilizados en la industria alimentaria para conservar los productos mediante diversos metabolitos. El presente estudio es el resultado de un estudio exploratorio, descriptivo y experimental, basado en investigaciones preliminares y trabajos de laboratorios, con el objetivo de evaluar el mucílago de cacao (CCN-51 y Nacional) y observar su efecto en la conservación de la carne para consumo humano. Esta investigación fue ejecutada en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, cantón Quevedo, provincia de Los Ríos. Para la investigación se utilizó un diseño experimental AxBxC empleando doce tratamientos, siendo estos la combinación de mucílago de las variedades de cacao (Nacional y CCN-51), con tiempos de 7 y 14 días de conservación y tres tipos de carne (cerdo, pollo y res) con tres réplicas a cada tratamiento. En la bioconservación de las carnes se obtuvo el mejor resultado en el mucílago de cacao CCN-51 T4 (CCN-51 + 14 días + cerdo). Mediante análisis físicos, químicos y microbiológicos se pudo identificar que el mucílago de cacao CCN-51 produce un mayor efecto de conservación en las carnes para consumo humano en un periodo de 7 a 14 días en refrigeración.

**Palabras clave:** Aditivos alimentarios, bacterias ácido lácticas, tiempo de conservación, capacidad de retención de agua, colorimetría.

## ABSTRACT

Meat is an important food for mental and bodily development, as it contributes a large amount of nutrients due to its protein, fat, vitamin and mineral content. Biopreservation has evolved due to the continued rejection of chemical additives and explores the use of bacteria as potential natural antimicrobial agents to extend the shelf life of foods and ensure their microbiological safety. Cocoa mucilage contains lactic acid bacteria (LAB), microorganisms used in the food industry to preserve products through various metabolites. The present study is the result of an exploratory, descriptive and experimental study, based on preliminary research and laboratory work, with the objective of evaluating cocoa mucilage (CCN-51 and Nacional) and observing its effect on the preservation of meat for human consumption. The present research study was carried out at the State Technical University of Quevedo, Quevedo canton, province of Los Ríos. An AxBxC experimental design was used for the research, employing twelve treatments, these being the combination of mucilage of the cocoa varieties (Nacional and CCN-51), with conservation times of 7 and 14 days and three types of meat (pork, chicken and beef) with three replicates for each treatment. In the biopreservation of meats, the best result was obtained with cocoa mucilage CCN-51 T4 (CCN-51 + 14 days + pork). By means of physical, chemical and microbiological analyses, it was possible to identify that cocoa mucilage CCN-51 produces a greater preservation effect in meats for human consumption in a period of 7 to 14 days under refrigeration.

**Keywords:** Food additives, lactic acid bacteria, shelf life, water holding capacity, colorimetry.

# TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
DEDICATORIA.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xi
CÓDIGO DUBLÍN .....	xx
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	2
1.1. Problema de la investigación. ....	3
1.1.1. Planteamiento del problema. ....	3
Diagnóstico.....	3
Pronóstico.....	3
1.1.2. Formulación del problema.....	4
1.1.3. Sistematización del problema.....	4
1.2. Objetivos.....	5
1.2.2. Objetivo General.....	5
1.1.2. Objetivos específicos.....	5
1.3. Justificación. ....	6
1.4. Hipótesis. ....	7

CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
2.1. Marco conceptual.....	9
2.1.1. <i>Theobroma cacao L.</i> (Cacao).....	9
2.1.2. Cacao en el Ecuador. ....	9
2.1.3. Mucílago de cacao.....	10
2.1.4. Carne de consumo. ....	12
2.1.5. Microorganismos presentes en la carne.....	14
2.1.6. Degradación de los nutrientes de la carne. ....	14
2.1.7. Métodos de conservación de la carne implementando mucílago.....	15
2.1.8. Bioconservación. ....	16
2.1.9. FDA ( <i>U.S. Food and Drug Administration</i> ).....	18
2.1.10. GRAS ( <i>Generally Recognised As Safe</i> ).....	18
2.1.11. Variables físico y químicas que determinan la calidad de la carne. ....	18
2.1.12. Variables microbiológicas que determinan la calidad de la carne.....	20
2.2. Marco referencial.....	21
2.2.1. Empleo de Bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional ( <i>Theobroma cacao L.</i> ) para la conservación de la carne de res. ....	21
2.2.2. Conservación de canales de pollo con aplicación de BAL del mucilago de cacao ( <i>Theobroma cacao L.</i> ).....	22
2.2.3. Evaluación del mucílago y la placenta de dos variedades de cacao ( <i>Theobroma cacao L.</i> ) aplicando dos métodos conservantes en la obtención de mermelada. ....	22
2.2.4. Caracterización del mucílago de cacao ( <i>Theobroma Cacao L.</i> ) nacional y trinitario en el cantón Quevedo. ....	23
2.2.5. Bioconservantes en productos cárnicos: implicaciones frente a los principales referentes regulatorios en <i>Listeria monocytogenes</i> . ....	23
2.2.6. Aplicación de bacteriocinas para la bioprotección de alimentos.....	24

2.3. Marco legal. ....	24
CAPÍTULO III .....	29
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....	29
3.1. Localización.....	27
3.2. Tipo de investigación.....	27
3.2.1. Investigación exploratoria. ....	27
3.2.2. Investigación descriptiva. ....	27
3.2.3. Investigación experimental.....	27
3.3. Métodos de investigación. ....	28
3.3.1. Método inductivo – deductivo.....	28
3.1.1. Métodos estadísticos.....	28
3.4. Fuentes de recopilación de información. ....	28
3.4.1. Fuentes primarias.....	29
3.4.2. Fuentes secundarias. ....	29
3.5. Diseño de la investigación. ....	29
3.5.1. Factores de estudio. ....	29
3.5.2. Esquema del ANOVA. ....	30
3.5.3. Arreglo multifactorial. ....	30
3.6. Instrumentos de investigación. ....	32
3.6.1. Análisis físico – químicos. ....	32
3.6.2. Análisis microbiológicos. ....	35
3.7. Tratamiento de los datos. ....	37
3.8. Recursos materiales y humanos.....	38
3.8.1. Recursos humanos. ....	38
3.8.2. Diagrama de flujo del proceso de obtención del mucílago de cacao.....	40

3.8.3.	Descripción del proceso de obtención del mucílago de cacao. ....	40
3.8.4.	Diagrama de flujo del proceso de la bioconservación. ....	41
3.8.5.	Descripción del proceso de la bioconservación. ....	41
CAPÍTULO IV .....		43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		43
4.1.	Resultados. ....	43
4.1.1.	Resultados del Análisis de Varianza de los análisis físicos y químicos. ....	43
4.1.2.	Resultado del análisis de Varianza de los análisis Microbiológicos. ....	49
4.1.3.	Resultados de las medias mediante la prueba de significación de Tukey de los análisis físicos, químicos y microbiológicos. ....	51
4.1.4.	Resultado con respecto a las muestras de control. ....	66
4.2.	Discusión. ....	67
4.2.1.	Discusión de resultados. ....	67
CAPÍTULO V .....		75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		75
5.1.	Conclusiones. ....	74
5.2.	Recomendaciones. ....	75
CAPÍTULO VI .....		78
BIBLIOGRAFÍA .....		78
	Bibliografía. ....	77
CAPÍTULO VII .....		91
ANEXOS .....		91

## ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1 Composición química del mucílago de cacao. -----	11
Tabla 2 Factores que intervienen en la investigación. -----	29
Tabla 3 Análisis de Varianza para el diseño propuesto en esta fase del estudio. -----	30
Tabla 4 Disposición de los Tratamientos propuestos. -----	31
Tabla 5 Análisis que se realizaran en la investigación. -----	32
Tabla 6 Tratamiento de datos. -----	37
Tabla 7 Resultados de los análisis microbiológicos a los tratamientos de control. -----	66
Tabla 8 Parámetros físico-químicos (pH carnes, pH mucílago, Acidez %, Contenido de Humedad %, Capacidad de Retención de Agua %, Textura, L*, a* y b*) P<0.05. -----	67
Tabla 9 Parámetros microbiológicos (Coliformes, Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido Lácticas) expresados en notación científica (*10 <sup>1</sup> ) P<0.05. -----	70
Tabla 10 Parámetros microbiológicos (Coliformes, Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido Lácticas) de los tratamientos de control expresados en notación científica (*10 <sup>1</sup> ) P<0.05. -----	72

## ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico 1 Resultados de las diferencias de medias entre mucilago de cacao CCN-51 y mucilago de cacao Nacional de la prueba de significación Tukey de los análisis físico-químicos ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS) ----- 51

Gráfico 2 Resultados de las diferencias de medias entre mucilago de cacao CCN-51 y mucilago de cacao Nacional de la prueba de significación Tukey de los análisis microbiológicos ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido láctico. ----- 52

Gráfico 3 Resultados de las diferencias medias entre el almacenamiento de 7 días y 14 días por medio de la prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro A (DS); 5.- Colorimetría espectro B (DS).----- 53

Gráfico 4 Resultados de las diferencias medias entre 7 días de conservación y 14 días de conservación, por medio de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y Levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido lácticas (DS). ----- 55

Gráfico 5 Resultados de las diferencias de medias entre carne de cerdo, carne de pollo y carne de res de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro L (DS); 5.- Colorimetría espectro A (DS); 6.- Colorimetría espectro B (DS); 7.- coliformes (DS); 8.- Mohos y Levaduras (DS); 9.- Bacterias ácidos lácticas (DS).----- 56

Gráfico 6 Coliformes (DS) 2.- Mohos y Levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido lácticas (DS). ----- 57

Gráfico 7 Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tiempo de conservación, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS) 4.- Contenido de humedad (DS); 5.- Colorimetría espectro A (DS); 6.- Colometría espectro B (DS).----- 58

Gráfico 8 Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tiempo de conservación, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS) 2.- Bacterias ácido lácticas (DS). ----- 59

Gráfico 9 Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tipos de carne, mediante la prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS) 4.- Contenido de humedad (DS); 5.- Colorimetría espectro L (DS); 6.- Colorimetría espectro A (DS). ----- 60

Gráfico 10 Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tipos de carne, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS). ----- 61

Gráfico 11 Resultados de las diferencias medias entre tiempo de conservación y tipos de carne mediante la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH del mucílago (DS); 2.- Colorimetría espectro L (DS); 3.- Colorimetría espectro A (DS) 4.- Colorimetría espectro B (DS); 5.- Coliformes (DS); 6.- Mohos y levaduras (DS); 7.- Bacterias Ácido Lácticas (DS). ----- 62

Gráfico 12 Resultados de las diferencias medias de tiempo de conservación y tipos de carne, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias Ácido Lácticas (DS). ----- 63

Gráfico 13 Resultados de las diferencias de medias entre variedades de cacao, tiempo de conservación y tipos de carne de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro A (DS).----- 64

Gráfico 14 Resultados de las diferencias de medias entre variedades de cacao, tiempo de conservación y tipos de carne mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias Ácido Lácticas (DS). ----- 65

## ÍNDICE DE CUADROS.

<i>Cuadro 1 ANOVA del pH de la carne - S.C.</i> -----	43
<i>Cuadro 2 ANOVA de pH del mucílago - S.C.</i> -----	44
<i>Cuadro 3 ANOVA de Acidez titulable – S.C.</i> -----	44
<i>Cuadro 4 ANOVA de Textura – S.C.</i> -----	45
<i>Cuadro 5 ANOVA de Capacidad de Retención de Agua – S.C.</i> -----	45
<i>Cuadro 6 ANOVA de Contenido de Humedad – S.C.</i> -----	46
<i>Cuadro 7 ANOVA de Colorimetría espectro L – S.C.</i> -----	47
<i>Cuadro 8 ANOVA de Colorimetría espectro A – S.C.</i> -----	47
<i>Cuadro 9 ANOVA de Colorimetría espectro B – S.C.</i> -----	48
<i>Cuadro 10 ANOVA de Coliformes – S.C.</i> -----	49
<i>Cuadro 11 ANOVA de Mohos y Levaduras – S.C.</i> -----	49
<i>Cuadro 12 ANOVA de Bacterias Ácido Lácticas – S.C.</i> -----	50

## CÓDIGO DUBLÍN

Título:	BIOCONSERVACIÓN DE CARNES PARA CONSUMO HUMANO CON LA ADICIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO ( <i>Theobroma cacao L.</i> )				
Autores:	Arguello Rivadeneira Jasson Gabriel Mendoza Zambrano Johnny Leonel				
Palabras clave:	Aditivos alimentarios	Bacterias ácido lácticas	Tiempo de conservación	CRA	Colorimetría
Fecha de publicación:					
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2021.				
Resumen: (hasta 300 palabras)	<p><b>RESUMEN</b></p> <p>La carne es un alimento importante para el desarrollo mental y corporal, puesto que contribuye con una gran cantidad de nutrientes por su contenido de proteínas, grasas vitaminas y minerales. La bioconservación ha evolucionado debido al continuo rechazo de los aditivos químicos, explora el uso de bacterias como posibles agentes antimicrobianos naturales para prolongar la vida útil de los alimentos y garantizar su seguridad microbiológica. El mucílago de cacao contiene bacterias lácticas (BAL), microorganismos utilizados en la industria alimentaria para conservar los productos mediante diversos metabolitos. El presente estudio es el resultado de un estudio exploratorio, descriptivo y experimental, basado en investigaciones preliminares y trabajos de laboratorios, con el objetivo de evaluar el mucílago de cacao (CCN-51 y Nacional) y observar su efecto en la conservación de la carne para consumo humano. El presente estudio investigativo fue ejecutado en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, cantón Quevedo, provincia de Los Ríos. Para la investigación se utilizó un diseño experimental AxBxC empleando doce tratamientos, siendo esta la combinación de mucílago de las variedades de cacao (Nacional y CCN-51), con tiempos de 7 y 14 días de conservación y tres tipos de carne (cerdo, pollo y res) con tres replicas a cada tratamiento. En la bioconservación de las carnes se obtuvo el mejor resultado en el mucílago de cacao CCN-51 T4 (CCN-51 + 14 días + cerdo). Mediante análisis físicos, químicos y microbiológicos se pudo identificar que el mucílago de cacao CCN-51 produce un mayor efecto de conservación en las carnes para consumo humano en un periodo de 7 a 14 días en refrigeración.</p> <p><b>ABSTRACT</b></p> <p>Meat is an important food for mental and bodily development, as it contributes a large amount of nutrients due to its protein, fat, vitamin and mineral content. Biopreservation has evolved due to the continued rejection of chemical additives and explores the use of bacteria as potential natural antimicrobial agents to extend the shelf life of foods and ensure their microbiological safety. Cocoa mucilage contains lactic acid bacteria (LAB), microorganisms used in the food industry to preserve products through various metabolites. The present study is the result of an exploratory, descriptive and experimental study, based on preliminary research and laboratory work, with the objective of evaluating cocoa mucilage (CCN-51 and Nacional) and observing its effect on the preservation of meat for human consumption. The present research study was carried out at the State Technical University of Quevedo, Quevedo canton, province of Los Ríos. An AxBxC experimental design was used for the research, employing twelve treatments, these being the combination of mucilage of the cocoa varieties (Nacional and CCN-51), with conservation times of 7 and 14 days and three types of meat (pork, chicken and beef) with three replicates for each treatment. In the biopreservation of meats, the best result was obtained with cocoa mucilage CCN-51 T4 (CCN-51 + 14 days + pork). By means of physical, chemical and microbiological analyses, it was possible to identify that cocoa mucilage CCN-51 produces a greater preservation effect in meats for human consumption in a period of 7 to 14 days under refrigeration.</p>				
Descripción:	133 hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162				
URI:					

# INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao L.*) proviene de la cuenca alta de la amazonia (Brasil, Colombia y Ecuador), el cual ha sido domesticado por las civilizaciones precolombinas, y se ha convertido en unos de los primeros productos que se exportó a Europa [1]. Los granos de cacao están recubiertos con una pulpa llamada mucílago que contiene del 10-15% de azúcar, 1% de pectina y 1,5% de ácido cítrico [2].

Por el contenido de ciertos microorganismos que ayudan a la fermentación en la misma que se origina el ácido acético el cual sirve como un conservante dentro de la investigación [3]. Para prolongar la vida útil de los alimentos se recurre a la bioconservación, que no es más que un método de conservación con sustancias orgánicas que actúan como cultivos biológicos protectores y neutralizan el crecimiento de bacterias no deseadas [4].

La carne se convierte en un excelente medio de cultivo para microorganismos cuando no se encuentra en las condiciones adecuadas de conservación, en los cuales intervienen para su degradación agentes extrínsecos como cambios de temperatura y agentes intrínsecos como variación en el pH [5].

Esto ha llevado al progreso de nuevos sistemas de conservación, para alargar la vida útil y garantizar la calidad de la carne, entre ellos se encuentra la bioconservación, un método que extiende la vida útil y la seguridad de un alimento por medio del uso microbiota natural o controlada y/o sus compuestos antimicrobianos; la bioconservación de alimentos abarca todo, desde técnicas para mejorar la seguridad alimentaria hasta la elaboración de alimentos mínimamente procesados [6].

El uso de conservantes en la carne es fundamental, no obstante, estos pueden ser perjudiciales para la salud, los consumidores se han vuelto cada vez más exigentes para encontrar productos que no contengan conservantes y aditivos químicos para reducir los efectos indeseables [5]. Esta investigación tuvo como objetivo investigar una alternativa en la que el mucílago de cacao de las variedades Nacional y CCN-51 podrían usarse como conservante para las carnes de consumo humano.

## **CAPÍTULO I**

### **CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de la investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

La carnes pollo, cerdo y vacuno son una de las materias primas más importantes en la transformación de productos mínimamente procesados o procesados, ya que por su alto contenido de nutrientes (proteínas, grasas, vitaminas y minerales) además de su alta actividad de agua y pH ideal permite el crecimiento de microorganismos, y por lo tanto acortan la vida útil de estos productos, para lo cual en la industria cárnica es de vital importancia la utilización de conservantes que permitan asegurar la calidad de la carne sin perjudicar la salud del consumidor.

### **Diagnóstico.**

Los conservantes generalmente de origen químico son agregados a la carne para alargar su tiempo de vida útil, ya que esta contiene gran cantidad de nutrientes que lo vuelve un alimento perecedero, susceptible al ataque de microorganismos que aceleran la descomposición; los conservantes de origen químico presentes en productos cárnicos pueden ocasionar efectos adversos a la salud del consumidor a largo plazo. La presente investigación propone utilizar el mucílago de cacao de las variedades Nacional y CCN-51 como un método de conservación en las carnes para consumo humano como complemento a los procedimientos tradicionales de conservación.

### **Pronóstico.**

El cacao es uno de los principales productos que genera ingresos al país de 800 millones de dólares anuales según la Asociación Nacional de Exportadores de Cacao, del cual en la mayoría de los procesos de transformación es utilizado solo el grano seco, desperdiciando grandes cantidades de mucílago (70 litros por cada tonelada de cacao). Las bacterias ácido lácticas presentes en el mucílago de cacao producen bacteriocinas, permitiendo ser utilizado como conservante alargando la vida útil de las carnes y originando ingresos adicionales por la venta del mucílago.

### **1.1.2. Formulación del problema.**

¿Qué efecto tiene la aplicación de mucilago de cacao de las variedades Nacional y CCN-51 en carnes para el consumo humano manteniendo los parámetros microbiológicos (Ácido lácticas, mohos, levaduras y coliformes)?

### **1.1.3. Sistematización del problema.**

¿Qué procedimientos físicos debería recibir el mucilago de cacao de las variedades Nacional y CCN-51 en las carnes para consumo humano?

¿Cuánto tiempo permanecen conservadas las carnes con el mucilago antes de que empiecen las alteraciones?

¿Qué efectos tendría la aplicación de mucílago de cacao en las carnes de cerdo, pollo y res?

## **1.2. Objetivos.**

### **1.2.2. Objetivo General.**

Evaluar el mucílago de dos variedades de cacao (*Theobroma cacao L.*) y su efecto en la conservación de carnes para el consumo humano.

#### **1.1.2. Objetivos específicos.**

- Determinar el efecto de conservación en la carne proporcionados por las dos variedades de mucílago (Nacional y CCN51) a ser estudiadas.
- Analizar en que tiempo se producen alteraciones en las diferentes carnes de consumo humano.
- Establecer el efecto del mucílago de cacao en diferentes tipos de carnes (cerdo, pollo y res).

### **1.3. Justificación.**

Con este proyecto de investigación se pretende aprovechar el mucílago de cacao para mejorar al medio ambiente y la productividad de la cadena agroalimentaria del cacao y ayudar a el decrecimiento de desperdicios, ofrendando posibilidades de reutilización.

Como sostiene Albán [5] las bacteriocinas producidas por las BAL (Bacterias Ácido Lácticas) presentes en el mucílago de cacao que funcionan como bioprotectores, evitan el crecimiento de bacterias no deseadas que inducen al deterioro de los alimentos.

Las carnes de consumo humano conservadas con mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*) de las variedades Nacional y CCN-51 se manifestó como una iniciativa a los procedimientos clásicos, ampliando la vida útil e inocuidad alimentaria, debido a que es un conservante natural. Asimismo, existe probabilidad de reemplazar la utilización de elementos químicos que a largo plazo pueden situar en peligro la salud del consumidor.

El actual proyecto ofrecerá valiosa información para la generación de nuevas tecnologías en la cadena agroalimentaria.

## **1.4. Hipótesis.**

### **Hipótesis nulas.**

**H0:** Las variedades del mucílago de cacao no influyen en el proceso de conservación en las carnes para consumo humano.

**H0:** La variedad de mucílago de cacao aplicado no influye en el tiempo de conservación de las carnes.

**H0:** El mucílago de cacao no tiene efectos en los diferentes tipos de carnes para consumo humano.

### **Hipótesis alternativas.**

**H1:** Las variedades del mucílago de cacao si influye en el proceso de conservación en las carnes para consumo humano.

**H1:** La variedad de mucílago de cacao aplicado si influye en el tiempo de conservación de las carnes.

**H1:** El mucílago de cacao si tiene efectos en los diferentes tipos de carnes para consumo humano.

## **CAPÍTULO II**

# **FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Marco conceptual.**

### **2.1.1. *Theobroma cacao* L. (Cacao).**

*Theobroma cacao* L. es originaria de las selvas tropicales de América del Sur y se cultiva comercialmente a partir del nivel del mar hasta una altitud de 1200 metros, dependiendo de su distribución geográfica, la región cacaotera está más concentrada entre los 10 grados de latitud norte y los 10 grados de latitud sur a lo largo del Ecuador, y se distribuye en África occidental, América Latina y el sudeste asiático [7].

Los árboles de cacao crecen hasta 5-8 metros de altura. Sus hojas son lanceoladas, pero las flores son pequeñas, los tejidos maduros, el hígado y la ramificación [8]. La baya es una baya grande conocida como avellana y es conocida por los nativos americanos como "la comida de los Dioses". Dentro de la fruta hay más de 20 semillas púrpuras y blancas empaquetadas en dulces terrones [8].

### **2.1.2. Cacao en el Ecuador.**

La producción de cacao se origina en la parte húmeda de la costa ecuatoriana, en las provincias de Los Ríos, El Oro y Guayas, especialmente en la cuenca del río Guayas, región conocida como la zona "Arriba", de donde surgía el mejor cacao [9].

La producción de cacao en Ecuador se reparte principalmente en dos grandes grupos, el Cacao Arriba (Nacional) y el CCN-51 se plantan y cultivan en las siguientes provincias: Esmeraldas, Manabí, Los Ríos, Guayas, El Oro, Pichincha, Cotopaxi, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y parte de Oriente, que es conocido mundialmente por su aroma y es el tercer producto agrícola de exportación [10].

La superficie cultivada de cacao en la región costera representa el 84% de la superficie total a nivel nacional, el 8% en la región de la Sierra y el 8% en el resto, incluyendo la región oriental y las zonas de conflicto [11].

#### **2.1.2.1. Cacao "CCN-51".**

El clon CCN51 es originario de Ecuador, fue seleccionado y estudiado por el científico y productor Homero Castro Zurita en la década de 1960 [12]. Estudió la población de cacao de la alta Amazonía del Ecuador, recolectó material genético para su uso en programas

de cruzamiento con variedades trinitarias y otros cultivos, buscando un clon de alta calidad, resistente a enfermedades de alta productividad. Este clon es el resultado del cruce de los clones ICS 95 e IMC 67 en 1965 en la región de Naranjal en la finca Sofí, se realizaron diferentes análisis en el cacao en grano de CCN51 y se comparó con cacao de huertas tradicionales, con excelentes resultados [13].

#### **2.1.2.2. Cacao “Nacional”**

La variedad tradicional de Ecuador es el tipo "Nacional", que se caracteriza por dar un chocolate fuerte con buen sabor y aroma, tiene un tiempo de fermentación muy corto, de pocas horas [14].

El cacao Nacional, con su sabor y aroma únicos, también conocido como cacao de arriba, es un elemento fundamental para la producción de chocolate fino y aromático en los mercados internacionales, preferido por los principales fabricantes de chocolate europeos [15].

Ecuador, por sus condiciones geográficas y su riqueza en recursos biológicos, es el productor por excelencia del fino y aromático cacao Arriba (63% de la producción mundial), variedad Nacional, cuyo sabor prestigioso es aceptado desde hace siglos internacionalmente. Esta variedad de grano se utiliza en todos los chocolates finos. Sin embargo, lo que muchos no saben es que el chocolate fino se caracteriza por su pureza, más precisamente por el sabor y el aroma del cacao [16].

#### **2.1.3. Mucílago de cacao.**

El mucílago es una sustancia blanquecina y viscosa que envuelve el grano de cacao y tiene una textura gomosa, se encuentra en varias partes de algunos vegetales. Este producto suele eliminarse como residuo [17].

Los granos de cacao están rodeados de un mucílago que contiene entre un 10 y un 15% de azúcar, un 1% de pectina y un 1,5% de ácido cítrico, una parte de este mucílago o pulpa es necesaria para la producción de alcohol y ácido acético durante la fermentación de las almendras, pero entre el 5 y el 7% se escapa en forma de exudado [2].

Normalmente, se desperdician más de 70 litros por tonelada de mucílago, este exceso de pulpa, que tiene un delicioso sabor tropical, se ha utilizado para producir alimentos en varios países como Ecuador, Brasil, Costa Rica y Colombia [18].

### 2.1.3.1. Composición química del mucílago de cacao.

El mucílago que recubre los granos de cacao contiene entre un 82 y un 87% de agua, es rico en azúcares, que representan entre el 10 y el 15% de su peso, y está compuesto de la siguiente manera 60% de sacarosa y 39% de una mezcla de glucosa y fructosa, vitaminas, de las cuales las más importantes son la vitamina C, aminoácidos y proteínas, que son un medio favorable para el desarrollo microbiano [19].

Los componentes que se encuentran en el mucílago de cacao, se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Composición química del mucílago de cacao.

<b>COMPONENTES</b>	<b>%p/p (base húmeda)</b>
<b>Ácido cítrico</b>	0.77-1.52
<b>Agua</b>	79.2-84.2
<b>Azúcares</b>	12.50-15.9
<b>Cenizas</b>	0.40-0.50
<b>Glucosa</b>	11.6-15.32
<b>Pectinas</b>	0.9-1.19
<b>Proteína</b>	0.09-0.11

**Fuente:** Macías, I. 2019 [20]

### **2.1.3.2. Usos del mucílago de cacao.**

El mucílago de cacao puede utilizarse en diversos productos gracias a sus beneficios nutricionales y sensoriales, hay varias investigaciones, proyectos, disertaciones que hablan del uso de este residuo del cacao, generalmente utilizado como materia prima para la producción de mermeladas, licores, vinos, zumos y licores, vinos, zumos e incluso cremas con fines cosméticos, etc. [21].

El mucílago puede utilizarse como alternativa para obtener bacterias lácticas, ya que el proceso de obtención es sencillo, lo que permitiría la producción de un conservante natural [22].

La utilización del mucílago de cacao como conservante se evidencia en la investigación “Evaluación de mucílago de cacao y placenta aplicando métodos conservantes para obtener mermelada” realizada por Tapia García K., concluyó que se garantizó la inocuidad del producto, esto dado por los resultados microbiológicos en los cuales se evidencia la ausencia de microorganismos patógenos en la mermelada [23].

### **2.1.4. Carne de consumo.**

La carne se compone principalmente de la parte muscular de los animales sacrificados. Tras el sacrificio, la parte muscular (donde se encuentran las fibras, el colágeno y la grasa) sufre una serie de cambios que hacen que el músculo se convierta en carne [24].

La carne es el producto animal más provechoso, contiene proteínas, minerales, grasas, vitaminas, hidratos de carbono y otros componentes biológicamente activos [25]. En materia de nutrición, el interés de la carne se halla en sus proteínas de muy buena calidad, que comprenden todos los aminoácidos esenciales, y en sus minerales y vitaminas altamente biodisponibles [26].

#### **2.1.4.1. Producción de carne de consumo en Ecuador.**

Como señala el INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos) en Ecuador en 2018 predominó el ganado bovino con un total de 4,1 millones de cabezas, consecutivo del porcino con 1,3 millones, el ovino, 356 mil, el equino, 193 mil, el mular, 74 millones, el asnal, 47 mil y finalmente el caprino con 22 mil [27].

A lo largo de los años, la producción de carne vacuna en Ecuador ha alcanzado el 14,63% del PIB agrícola del país a precios estándar, que ha tendido a disminuir en los últimos años, habiendo alcanzado el 18,23% y el 11,57% entre 2007 y 2014, respectivamente [28].

#### **2.1.4.2. Carne de cerdo.**

La carne de cerdo se considera una fuente de alto valor nutricional, principalmente por su alto contenido en proteínas de fácil absorción y digestión, así como en diversos nutrientes como el hierro, que la convierten en uno de los alimentos más completos para satisfacer las necesidades biológicas del ser humano [29].

En Ecuador, la producción de carne de cerdo y sus derivados es una fuente de empleo, ya que se utilizan todas las partes del cerdo. Según el estudio sanitario de las explotaciones porcinas realizado en diciembre de 2010 por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (Agrocalidad) y la Asociación de Porcicultores del Ecuador (ASPE), se identificaron 1.734 explotaciones porcinas en el país, entre pequeños, medianos y grandes productores [30].

#### **2.1.4.3. Carne de pollo.**

Es una carne blanca que tiene menos grasa entre las fibras musculares y es fácilmente digerible en comparación con otras carnes. Además, la carne de pollo tiene un alto valor nutricional, ya que contiene proteínas, vitamina B, hierro, zinc, fósforo, potasio y minerales importantes para el organismo [31].

El pollo es una de las carnes de mayor consumo en el mundo, este tipo de carne, tiene varias características de valor nutricional, que además de ser una carne apta para casi cualquier bolsillo, tiene varias ventajas[32]. El pollo está compuesto por un 70% de agua, un 9,7% de lípidos o grasas y un 20,3% de proteínas, que son los principales macronutrientes [32].

#### **2.1.4.4. Carne de res.**

De acuerdo con las Normas INEN, la carne de vacuno es una fuente importante de nutrientes en la dieta, especialmente proteínas, minerales y vitaminas del grupo B; para

ser apta para el consumo humano, la carne debe cumplir ciertos requisitos organolépticos como el color, la consistencia, el olor y las características del producto, el valor del pH debe estar en un rango de  $>5,5$  y  $<7$ , además de cumplir ciertos requisitos microbiológicos [33].

Debido a la importancia del consumo de carne de vacuno para la salud y la actividad comercial asociada a su venta, es importante comprender las condiciones en las que los consumidores adquieren y seleccionan la carne de vacuno e identificar las áreas de oportunidad para quienes participan en su comercialización [34].

### **2.1.5. Microorganismos presentes en la carne.**

La carne contiene pocos o ningún microorganismo, aunque se han encontrado en los ganglios linfáticos, la médula ósea e incluso en la propia masa muscular, además, la microbiota original de la carne es variable; la mayoría de los microorganismos que estropean la carne fresca y refrigerada son bacterias aeróbicas, psicrótrofas, anaerobios facultativos y microorganismos grampositivos [35].

Sin embargo, algunas de las bacterias patógenas mesófilas presentes en la carne, como *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringes*, *Cam-pylobacter spp*, *Escherichia coli* enterohemorrágica, afectan a las propiedades organolépticas de la carne [35].

### **2.1.6. Degradación de los nutrientes de la carne.**

El deterioro de los alimentos es cualquier cambio en los mismos que los hace inaceptables para el consumidor desde el punto de vista sensorial, puede deberse a daños físicos, a cambios químicos (oxidación, cambios de color) o a la aparición de sabores y olores extraños debido al crecimiento y metabolismo microbiano en el alimento [36].

#### **2.1.6.1. Degradación de la carne por microorganismos aerobios.**

Las alteraciones en la carne fresca suelen identificarse por un olor anormal y la aparición de baba, pigmentación, decoloración o fluorescencia en la superficie producida por bacterias de los géneros correspondientes: *Pseudomonas*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Leuconostoc*, *Serratia*, *Bacillus*, *Micrococcus*,

*Photobacterium*, levaduras y mohos; la carne fresca puede tener una contaminación inicial de  $10^4$  a  $10^5$  microorganismos por  $\text{cm}^2$ , se considera estropeada cuando el número de microorganismos está entre  $10^6$  y  $10^8$  por  $\text{cm}^2$  [37].

#### **2.1.6.2. Degradación de la carne por microorganismos anaerobios.**

En el interior de la carne se encuentran microorganismos capaces de multiplicarse en un entorno pobre o con poco oxígeno y que provocan cambios en la carne, como:

- Acidez: causada por procesos de fermentación microbiana que conducen a la formación de ácidos lácticos y grasos (bacterias del ácido láctico), y por procesos de proteólisis de bacterias de los géneros *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Clostridium*.
- Putrefacción: descomposición anaeróbica de las proteínas en la carne almacenada sin refrigeración, causada por bacterias de los géneros *Proteus*, *Enterobacteriaceae* y *Clostridium*.
- Huesos apestosos: causados por una refrigeración inadecuada de la carne de alto pH, causado por bacterias del género *Clostridium* [38].

#### **2.1.7. Métodos de conservación de la carne implementando mucílago.**

##### **2.1.7.1. Métodos físicos.**

###### ***a. Cocción.***

La cocción consiste en someter el alimento a un tratamiento térmico que provoca diversas transformaciones que lo hacen más apto para el consumo, sea agradable a la vista, mejoran su textura, digestibilidad, etc., y también destruyen los microorganismos presentes a la temperatura adecuada ( $60\text{-}65^\circ\text{C}$ ) [39].

###### ***b. Pasteurización.***

La pasteurización fue el tratamiento térmico más utilizado para la conservación de los alimentos en el siglo XX, realizado entre  $60$  y  $90^\circ\text{C}$ , el calor es responsable de la inactivación microbiana y la reducción de la actividad enzimática, pero puede provocar cambios nutricionales, sensoriales y de calidad final que dependen de la temperatura y la

duración del tratamiento [40]. Este método se utiliza en el procesamiento de carne cocida congelada y para el mucílago [40].

### ***c. Refrigeración.***

Este método mantiene la temperatura del producto ligeramente por encima de 0°C, actúa como bacteriostático, aunque el periodo de idoneidad de la carne refrigerada no es muy largo; la conservación dura de unos días a unas semanas, dependiendo del producto, la temperatura y el envase (tipo y naturaleza del envase) [41].

### ***d. Congelación.***

Se emplean temperaturas inferiores a 0°C, lo que convierte parte del agua de los alimentos en hielo, es importante congelar en el menor tiempo posible y a una temperatura muy baja para que el producto no se vea afectada, la temperatura óptima es de -18°C o menos [41].

## **2.1.7.2. Métodos químicos.**

### ***a. Acidificación.***

Este método se basa en inhibir el crecimiento bacteriano mediante la adición de ácidos (acético, cítrico, láctico) o por fermentación hasta lograr un pH inferior a 4,3. Los ácidos orgánicos en solución son capaces de disociarse perdiendo un protón H<sup>+</sup> de su molécula [42].

Este H<sup>+</sup> induce una disminución del pH del medio, lo que por un lado favorece los procesos digestivos y por otro crea un ambiente favorable para el desarrollo y crecimiento de bacterias resistentes a los ácidos (lactobacilos) y crea un ambiente desfavorable para el desarrollo y crecimiento de bacterias patógenas (su óptimo desarrollo tiende a la neutralidad del pH) [43].

## **2.1.8. Bioconservación.**

El rechazo a los aditivos químicos ha llevado al desarrollo de la llamada "bioconservación", que explora el uso de bacterias, sus metabolitos y bacteriófagos como posibles agentes antimicrobianos naturales para prolongar la vida útil de los alimentos y garantizar su seguridad microbiológica [44].

Algunas bacterias pueden tener efectos deseables y beneficiosos sobre los alimentos, como las bacterias ácido lácticas, que forman parte de la microbiota natural presente en los alimentos que comemos y también forman parte de nuestra microbiota intestinal; tradicionalmente, se utilizan mucho en la producción de alimentos fermentados, convirtiendo la lactosa en ácido láctico y produciendo también otros compuestos como ácidos orgánicos, diacetilo, acetoína, peróxido de hidrógeno, péptidos antimicrobianos y bacteriocinas [44].

La gran mayoría de ellas están catalogadas como GRAS (“Generally Recognised As Safe”) generalmente reconocidas como seguras por la FDA (U.S. Food and Drug Administration), y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) también califica a muchos géneros de bacterias lácticas como: *Lactococcus spp*, *Lactobacillus spp*, *Leuconostoc spp*, *Pediococcus spp* y algunas *Streptococcus spp* [44].

#### **2.1.8.1. Bacterias ácido lácticas.**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos que se utilizan en la industria alimentaria desde hace décadas, tienen la capacidad de conservar los productos gracias a diversos metabolitos, entre ellos las bacteriocinas que son activas contra varios patógenos y estables a diferentes valores de pH y temperaturas, estas propiedades hacen que las bacteriocinas sean compuestos con potencial de aplicación para la industria alimentaria, por lo que se ha considerado el uso de las bacteriocinas en su forma libre [45].

Pueden crecer a temperaturas de refrigeración, sobrevivir a los procesos de pasteurización térmica y pueden proliferar cuando los productos cárnicos se almacenan en condiciones de refrigeración porque la alta actividad del agua, la baja concentración de oxígeno y el entorno ácido crean condiciones más favorables para su crecimiento [46].

Las bacteriocinas actúan uniéndose a receptores específicos en la pared celular de las bacterias objetivo, tras lo cual varios mecanismos aislados o adyuvantes actúan para matar a las bacterias; la muerte de las células microbianas por acción de las bacteriocinas podría producirse a través de un desequilibrio en la función de la membrana citoplasmática (que afecta a la utilización de la energía y la permeabilidad), la inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos, la interrupción de la síntesis de proteínas y la alteración del mecanismo traductor celular [47].

### **2.1.9. FDA (*U.S. Food and Drug Administration*).**

La Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA) es una Agencia Federal responsable de la protección de la salud pública mediante la regulación de los medicamentos, las vacunas, los alimentos, los suplementos dietéticos y los productos que emiten radiaciones, y de proporcionar al público la información precisa y con base científica necesaria para utilizar los medicamentos y los alimentos para mejorar su salud [48].

### **2.1.10. GRAS (*Generally Recognised As Safe*).**

Tal como afirma la FDA, la GRAS es una agencia que forma parte de la FDA y se encarga de garantizar que los ingredientes químicos que se agregue intencionalmente a los alimentos, medicamentos y cosméticos sean reconocidos internacionalmente y seguros [49].

### **2.1.11. Variables físico y químicas que determinan la calidad de la carne.**

#### **2.1.11.1. pH.**

El pH es el logaritmo negativo de la concentración de protones de una solución y su valor se da en una escala de 0 (ácido) a 14 (básico); el pH es el principal factor de calidad de la carne y tiene una gran influencia en la textura, la capacidad de retención de agua, la resistencia al crecimiento microbiano y el color [50].

#### **2.1.11.2. Acidez.**

En los alimentos, la acidez indica el contenido de ácidos libres, que se utiliza como parámetro de calidad en los alimentos; la determinación de la acidez o del índice de acidez presente en los alimentos suele hacerse por valoración volumétrica con un reactivo básico, el resultado (acidez) se expresa en % del ácido predominante en el material [51].

#### **2.1.11.3. Capacidad de retención de agua (CRA).**

La Capacidad de Retención de Agua puede definirse como la capacidad de la carne de mantener su propia retención de agua incluso bajo la influencia de fuerzas externas

(presión, calor, etc.) o como la capacidad de fijar el agua añadida, muchas propiedades sensoriales de la carne, como el color, la textura y la firmeza, están relacionadas con la cantidad de agua que contiene o retiene la carne [52].

La Capacidad de Retención de Agua está influenciado por el pH del músculo, por ejemplo, a valores de pH superiores a 5,8 aumenta la capacidad de las proteínas para unirse a las moléculas de agua, además del pH, otros factores que afectan al CRA son la especie animal de la que procede la carne, el tipo de fibra, la estabilidad oxidativa de las membranas, el proceso de maduración y el sistema utilizado para congelar y descongelar la carne [52].

#### **2.1.11.4. Color.**

Esta es una de las cualidades más importantes de la carne, porque es el primer atributo que los consumidores valoran, el color de la carne depende de la estructura, el tipo de músculo cantidad de mioglobina y edad del animal sacrificado, en el caso de las carnes rojas [50].

#### **2.1.11.5. Contenido de humedad.**

La determinación del contenido de agua es una de las técnicas más importantes y más utilizadas en la elaboración, el control y la conservación de los alimentos, ya que la mayoría de los alimentos tienen un contenido de agua predominante y el contenido de agua de un alimento suele ser un indicador de la estabilidad del producto [53].

El agua es el ingrediente que está presente en la carne y en la mayoría de los productos cárnicos en mayor proporción, además de que existe una estrecha relación entre el contenido de agua del producto y propiedades como la jugosidad y la textura [54].

#### **2.1.11.6. Textura.**

La textura de los alimentos es un conjunto de sensaciones diferentes, un parámetro multidimensional, y la dureza (fuerza máxima generada durante la primera compresión) es uno de los atributos de textura más utilizados, uno de los más importantes para determinar la calidad sensorial de la carne y los productos cárnicos [55].

En ella influyen tres componentes de la carne: las fibras musculares (los distintos tipos de fibras tienen diferentes capacidades de contracción y retención de agua); la longitud de los sarcómeros y las miofibrillas (cuanto mayor sea el estado de contracción, mayor será la dureza); y la cantidad y el tipo de tejido conjuntivo [56].

## **2.1.12. Variables microbiológicas que determinan la calidad de la carne.**

### **2.1.12.1. *Coliformes totales.***

Son grupos de bacterias Gram negativas, aerobias y anaerobias facultativas, no formadoras de esporas, oxidasa negativa, que fermentan la lactosa a 37 °C en 48 horas y poseen la enzima  $\beta$ -galactosidasa son bacterias relacionadas con el tracto intestinal de los seres humanos y animales, el suelo y el agua, evalúan la calidad higiénica de los alimentos, este grupo está formado por: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* y *Klebsiella*; estas bacterias son responsables de la gastroenteritis por el consumo de alimentos contaminados [57].

Estos organismos se eliminan fácilmente con el tratamiento térmico, por lo que su presencia en los alimentos tratados térmicamente indica una contaminación tras el tratamiento térmico o un tratamiento térmico deficiente [58].

### **2.1.12.2. *Escherichia coli.***

La Organización Mundial de la Salud (OMS) [59] indica que estos microorganismos están presente en los intestinos de los animales de sangre caliente y de los seres humanos como flora normal, pero también puede encontrarse en los alimentos y en el medio ambiente.

La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inofensivas e inocuas, pero hay cepas que son patógenas y causan enfermedades como diarrea, infecciones del tracto urinario, infecciones respiratorias, neumonía y otras enfermedades [60].

Una de las cepas patógenas es la *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), que produce toxinas Shiga y provoca enfermedades graves en el ser humano, como la colitis hemorrágica (CH) y el síndrome urémico hemolítico (SUH), *Escherichia coli* O157:H7 es un serotipo de la cepa *Escherichia coli* [60]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo considera uno de los microorganismos más importantes porque tiene un gran impacto en la salud y ha causado epidemias infecciosas en todo el mundo [59].

### **2.1.12.3. Mohos.**

Son ciertos hongos multicelulares y filamentosos que crecen sobre los alimentos y que se contemplan fácilmente por su apariencia cerosa [61]. Están formados por filamentos llamados hifas, que juntos forman lo que se denomina "micelio", que puede o no estar coloreado; los mohos pueden formar toxinas llamadas micotoxinas en ciertos alimentos. Provocan el deterioro de los alimentos, especialmente de los productos ácidos [61].

### **2.1.12.4. Levaduras.**

Son hongos cuya forma de crecimiento habitual y predominante es unicelular, tienen una morfología muy variable: esférica, ovoide, en forma de pera, cilíndrica, triangular o incluso alargada en forma de micelio; su tamaño supera al de las bacterias, la mayoría de las levaduras soportan un pH entre valores de 3 y 10, pero un ambiente levemente ácido con un valor de pH entre 4,5 y 6,5 es favorable para ellas [62].

## **2.2. Marco referencial.**

### **2.2.1. Empleo de Bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*) para la conservación de la carne de res.**

De acuerdo a la investigación de Diego José Albán Rodríguez; Empleo de BAL provenientes del mucílago de cacao, para conservar la carne de res, el objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento de microorganismos mesófilos en la carne de res exponiéndolas a bacterias lácticas para prolongar su vida útil en condiciones ambientales; los resultados obtenidos se analizaron en un diseño completamente aleatorizado con seis tratamientos y tres observaciones, utilizando la prueba de normalidad para determinar la distribución normal; o la distribución no normal de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk con una probabilidad del 5%, cuando se comprobó que los resultados obtenidos no se distribuían normalmente, se aplicaron las pruebas no paramétricas de Friedman y Holm, que condujeron al siguiente resultado existen diferencias microbiológicas entre los tratamientos; tratamiento T3 (100 g de carne + 10 ml de limo, enfriado a 5 °C) [5].

### **2.1.2. Conservación de canales de pollo con aplicación de BAL del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*).**

Alexa del Carmen Castro Crespo en su investigación; Conservación de canales de pollo con aplicación de BAL del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L.*), en el año 2019, exponen que el objetivo fue evaluar el efecto de las bacterias lácticas como conservante en la preservación de las canales de pollo. El estudio se realizó con un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 3 con 3 repeticiones, como primer factor A: bacterias lácticas del mucílago de cacao y factor B: tiempo. Se analizaron los resultados en el software estadístico Infostat, para comparar las medias se utilizó una prueba de Tukey. la cual mostró que existen diferencias significativas, de lo cual resulta que: El mucílago de cacao al 10% la menor presencia de *E. coli* y coliformes totales, valores más bajos en el pH y la temperatura; a las 6 horas se reporta la menor presencia de *E. coli* y a las 0 horas coliformes totales, los valores más bajos de pH son a las 12 horas y la temperatura a las 0 horas. La mayor concentración de bacterias lácticas se encontró a las 0 horas en el 5, 10 y 15% de mucílago de cacao con  $1,1 \times 10^7$  UFC y la menor concentración a las 12 horas en el 15% de mucílago de cacao con  $1,6 \times 10^5$  UFC, por lo que se acepta la hipótesis "El uso de bacterias lácticas aumenta la vida útil y reduce el nivel de contaminación de la carne de pollo" [6].

### **2.1.3. Evaluación del mucílago y la placenta de dos variedades de cacao (*Theobroma cacao L.*) aplicando dos métodos conservantes en la obtención de mermelada.**

En la investigación realizada por Karla Stefania Tapia Garcia para la Evaluación del mucílago y la placenta de dos variedades de cacao (*Theobroma cacao L.*) aplicando dos métodos conservantes en la obtención de mermelada, mencionan que las propiedades fisicoquímicas evaluadas fueron: pH, acidez titulable, grado Brix, humedad, materia seca, cenizas, proteína y grasa. No existen diferencias significativas. En las pruebas microbiológicas, las mermeladas estaban garantizadas, es decir, no había presencia de microorganismos patógenos como mesófilos, coliformes, hongos y levaduras. En la evaluación sensorial, el mejor tratamiento fue el T9 (ácido benzoico, Nacional, 70%, mucílago + 30% placenta) con buen aroma y aceptabilidad, mientras que el mayor rendimiento lo obtuvieron los tratamientos T1 (benzoato de sodio, Nacional, 30%

mucílago + 70% placenta) y T4 (benzoato de sodio, Trinitario, 30% mucílago + 70% placenta) con 70,78% cada uno [23].

#### **2.1.4. Caracterización del mucílago de cacao (*Theobroma Cacao L.*) nacional y trinitario en el cantón Quevedo.**

Como lo hace notar Stefany Tamara Moreira Morán en su investigación; Caracterización del mucílago de cacao (*Theobroma Cacao L.*) nacional y trinitario en el cantón Quevedo, se centra en el uso del mucílago o baba de cacao que contiene varias propiedades sensoriales como el aroma y sabor, pretende caracterizar dos variedades de baba de cacao utilizadas en el medio como son el Nacional y el Trinitario, con el objetivo de dar valor añadido a este residuo agrícola para que se conozcan las propiedades beneficiosas que aporta. El objetivo de este estudio fue caracterizar un residuo agrícola como es el mucílago de cacao de dos variedades muy utilizadas en el medio, cacao Trinitario y Nacional, dando valor añadido y dando a conocer las cualidades de este producto [17].

#### **2.1.5. Bioconservantes en productos cárnicos: implicaciones frente a los principales referentes regulatorios en *Listeria monocytogenes*.**

Desde el punto de vista de Denis Alejandra Velasco Briceño, este trabajo pretende resumir los diferentes marcos regulatorios, no sólo a nivel nacional sino también a nivel internacional, que actualmente regulan la adición de conservantes de origen biológico, proporcionando así una visión general de las posibles discrepancias en este aspecto entre lo permitido en Colombia y lo permitido por los organismos con reconocimiento internacional, teniendo en cuenta la importancia de la seguridad alimentaria y su bioconservación. Específicamente, este trabajo pretende revisar el estado del arte de los bioconservantes, con énfasis en la nisina, para su uso contra *Listeria monocytogenes* definidos o aprobados por las agencias reguladoras en Colombia y en el mundo para productos cárnicos crudos, cocidos y curados, a través de una revisión sistemática de la información de fuentes reconocidas internacionalmente que permita generar herramientas para la toma de decisiones informadas respecto a la dosificación y uso de bioconservantes en productos cárnicos a nivel industrial [63].

### **2.1.6. Aplicación de bacteriocinas para la bioprotección de alimentos.**

Tal como argumenta María del Carmen López Aguayo en su investigación; Aplicación de bacteriocinas para la bioprotección de alimentos, el objetivo del estudio fue determinar la eficacia de diferentes estrategias basadas en la aplicación de *Enterocin AS-48* para la bioprotección de alimentos. En primer lugar, experimentó la aplicación de la bacteriocina inmovilizada en diferentes recubrimientos comestibles para el control de *Listeria monocytogenes* en rodajas de manzana. En segundo lugar, experimentó el efecto de los recubrimientos a base de pectina con bacteriocina añadida y EDTA en perejil picado en comparación con un tratamiento de alta presión, y se comprobó que los dos tratamientos provocaban cambios diferentes en la biodiversidad bacteriana de las muestras. En tercer lugar, se descubrió que ciertos compuestos fenólicos aumentaban la eficacia del AS-48 contra el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en bebidas de soja y avena. Por último, se descubrió que las combinaciones de AS-48 y polimixina B aumentaban la eficacia de varios biocidas contra los biofilms de *Salmonella enterica*, mejorando [64].

### **2.3. Marco legal.**

**A.O.A.C. INTERNATIONAL 16.247.-** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist [65].

**NTE INEN 767.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Carne y productos cárnicos. Determinación de mohos y levaduras [66].

**NTE INEN 1346.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Carne y productos cárnicos. Carne molida. Requisitos [67].

**NTE INEN-ISO 1442.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Carne y productos cárnicos. Determinación de contenido de humedad [68].

**NTE INEN 1529-1.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Control microbiológico de los alimentos. Preparación de medios de cultivos y reactivos [69].

**NTE INEN 1529-8.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Control microbiológico de los alimentos. Determinación de Coliformes fecales y E. coli [70].

**NTE INEN 1529-11.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Detección [71].

**NTE INEN 1842: 2013.-** Productos vegetales y de frutas – Determinación de pH (IDT) [72].

**NTE INEN 2074: 2012.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos [73].

**NTE INEN-ISO 2917.-** Norma Técnica Ecuatoriana; Instituto Ecuatoriano de Normalización; Carnes y productos cárnicos. Determinación de pH [74].

**CODEX STAN 192: 1995.-** Codex alimentarius. Norma general para los aditivos alimentarios [75].

**ISO 15214: 1998.-** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees C [76].

**Grau y Hamm.** - Functional properties of the myofibrillar system and their measurements [77].

## **CAPÍTULO III**

# **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.1. Localización.**

La presente investigación, se realizó en el laboratorio de Bromatología, ubicado en la sede de la Universidad Técnica del Estado de Quevedo, la finca experimental "La María", en el km 7 1/2 de la vía Quevedo - El Empalme, recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos.

Las coordenadas geográficas de este lugar son 01°06´ de latitud Sur y 79°29´ de longitud Oeste a una altura de 120 metros sobre el nivel del mar con una temperatura media de 25.8 °C.

### **3.2. Tipo de investigación.**

#### **3.2.1. Investigación exploratoria.**

Dado que se disponía de pocos antecedentes para la recopilación de información anterior, en el siguiente trabajo se realizó una investigación exploratoria para obtener los datos necesarios.

#### **3.2.2. Investigación descriptiva.**

Este tipo de investigación utilizó el método analítico para caracterizar un determinado objeto de estudio o situación, destacar sus rasgos y características, y ordenar, agrupar o sintetizar los objetos incluidos en el trabajo. La investigación descriptiva responde a preguntas como: ¿Quién?, ¿Qué?, ¿Dónde?, ¿Cuándo? y ¿Cómo?

#### **3.2.3. Investigación experimental.**

La investigación experimental se aplicó para probar los efectos de la intervención sobre los factores de estudio. Una vez que se acondicionaron los resultados, se los trató aplicando métodos estadísticos para sistematizar el Análisis de la Varianza (ANOVA) y, si es necesario, la prueba de significación TUKEY. Este análisis estadístico se realizó con los programas INFOSTAT y STATGRAPHICS.

### **3.3. Métodos de investigación.**

#### **3.3.1. Método inductivo – deductivo.**

Este tipo de investigación se utilizó porque pasa de un problema a una posible solución, que permite obtener una tecnología adecuada para obtener los datos necesarios.

#### **3.1.1. Métodos estadísticos.**

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA), una técnica que analiza la variación total de los datos y la divide en porciones significativas e independientes, atribuibles a cada una de las fuentes de variabilidad presentes y a la variación causal (aleatoria).

Utilizando el software estadístico INFOSTAT versión 2020 y STATGRAPHICS versión 16.1.03, los datos resultantes se tabularon y organizaron tras el análisis, lo que permitió interpretar los resultados.

El método experimental es el que se aplicó en la presente investigación. Empleo la observación de fenómenos. Con el pensamiento abstracto se elaboraron las hipótesis y se diseñó el experimento, con el fin de reproducir el objeto de estudio, controlando el fenómeno para probar la validez de las hipótesis, en los ensayos de los efectos de conservación de dos variedades de mucílago en diferentes tipos de carne para el consumo humano, manipulando las variables independientes y registrando los cambios observados en la variable dependiente, físicos, químicos y microbiológicos, ayudó a decidir entre dos hipótesis contrarias y refutar la hipótesis.

### **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

Se recurrió a este tipo de investigación, basados en las fuentes bibliográficas que soporten con los resultados y refutar los obtenidos en la investigación que se plantearon, debido a la parte de un problema buscado una posible solución, el cual permitió obtener un nuevo método de conservación de carnes mediante la utilización de mucílago de dos variedades de cacao. El presente trabajo de investigación utilizó las siguientes fuentes:

### 3.4.1. Fuentes primarias.

- Investigación en el laboratorio.

### 3.4.2. Fuentes secundarias.

- Artículos científicos.
- Bibliotecas virtuales.
- Revisión bibliográfica.
- Tesis.

## 3.5. Diseño de la investigación.

En el presente proyecto se aplicó una disposición factorial A\*B\*C, con dos niveles en el factor A (variedades de cacao), dos niveles en el factor B (tiempo de conservación) y tres niveles en el factor C (tipos de carnes). Se utilizó la prueba de Tukey para determinar los efectos entre niveles y tratamientos. Se empleó un diseño A\*B\*C, con factores **Tabla 2**.

### 3.5.1. Factores de estudio.

**Tabla 2.** Factores que intervienen en la investigación.

Factores	Simbología	Descripción
A: Variedades de cacao	a0	CCN51
	a1	Nacional
B: Tiempo de conservación	b0	7 días
	b1	14 días
C: Tipos de carnes	c0	Cerdo
	c1	Pollo
	c2	Res

Elaborado por: Autores.

### 3.5.2. Esquema del ANOVA.

El análisis estadístico de los datos obtenidos se llevó a cabo mediante el análisis de la varianza (ANOVA), técnica que analiza la variación total de los datos y la divide en porciones significativas e independientes, atribuibles a cada una de las fuentes de variabilidad presentes y a la variación causal (aleatoria).

**Tabla 3.** Análisis de Varianza para el diseño propuesto en esta fase del estudio.

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>		<b>Cuadrados medios</b>	<b>Razón de varianza</b>
<b>Factor A</b>	SCA	(a-1)	1	CMA	CMA/CME
<b>Factor B</b>	SCB	(b-1)	1	CMB	CMB/CME
<b>Factor C</b>	SCC	(c-1)	2	CMC	CMC/CME
<b>Efecto AB</b>	SC(AB)	(a-1)(b-1)	1	CM(AB)	CM(AB)/CME
<b>Efecto AC</b>	SC(AC)	(a-1)(c-1)	2	CM(AC)	CM(AC)/CME
<b>Efecto BC</b>	SC(BC)	(b-1)(c-1)	2	CM(BC)	CM(BC)/CME
<b>Efecto (ABC)</b>	SC(ABC)	(a-1)(b-1)(c-1)	2	CM(ABC)	CM(ABC)/CME
<b>Réplicas</b>	SCR	(r-1)	2	CMR	CMR/CME
<b>Residuo o Error</b>	SCE	(abc-1)(r-1)	22	CME	
<b>Total</b>	SCT	(abcr-1)	35		

Elaborado por: Autores.

### 3.5.3. Arreglo multifactorial.

#### Tratamientos para la conservación de los diferentes tipos de carne.

Se utilizó la disposición factorial A\*B\*C, con niveles A=2, B=2 y C=3, dando un total de 12 tratamientos.

**Tabla 4.** Disposición de los Tratamientos propuestos.

<b>Nº</b>	<b>SIMBOLOGÍA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>
1	a0b0c0	CCN51 + Tiempo de conservación 7 días + Cerdo
2	a0b0c1	CCN51 + Tiempo de conservación 7 días + Pollo
3	a0b0c2	CCN51 + Tiempo de conservación 7 días + Res
4	a0b1c0	CCN51 + Tiempo de conservación 14 días + Cerdo
5	a0b1c1	CCN51 + Tiempo de conservación 14 días + Pollo
6	a0b1c2	CCN51 + Tiempo de conservación 14 días + Res
7	a1b0c0	Nacional + Tiempo de conservación 7 días + Cerdo
8	a1b0c1	Nacional + Tiempo de conservación 7 días + Pollo
9	a1b0c2	Nacional + Tiempo de conservación 7 días + Res
10	a0b0c0	Nacional + Tiempo de conservación 14 días + Cerdo
11	a0b0c1	Nacional + Tiempo de conservación 14 días + Pollo
12	a0b0c1	Nacional + Tiempo de conservación 14 días + Pollo

Elaborado por: Autores.

#### **Características del experimento de conservación de los diferentes tipos de carne.**

- Número de tratamientos: 12
- Número de repeticiones: 3
- Unidades experimentales: 36

### 3.6. Instrumentos de investigación.

Tabla 5. Análisis que se realizaron en la investigación.

Análisis físicos químicos	Análisis microbiológicos
<ul style="list-style-type: none"><li>• Acidez.</li><li>• Capacidad de retención de agua.</li><li>• Contenido de humedad.</li><li>• Colorimetría.</li><li>• pH de las carnes.</li><li>• pH del mucílago.</li><li>• Textura.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bacterias ácido lácticas.</li><li>• Coliformes.</li><li>• Levaduras.</li><li>• Mohos.</li></ul>

Elaborado por: Autores.

#### 3.6.1. Análisis físico – químicos.

##### 3.6.1.1. Determinación de acidez.

La determinación de acidez se realizó por el método 16.247 de la A.O.A.C. [65] se pesó 10 g de carne triturada en una balanza marca ACCULAB, modelo VIC-612; colocando en un vaso de precipitación junto con 100 mL de agua destilada homogeneizando por 1 minuto. Se filtró en manta de cielo, y se coloca el líquido filtrado en un matraz de 250 mL, para luego ser aforado con agua destilada. Se colocan 25 mL de la solución aforada y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 150 mL, añadiendo 75 mL de agua destilada y 2 gotas de fenoltaleína, se agitó suavemente. Seguidamente se procedió a titular con NaOH 0.01 N. Se reportó en porcentaje de ácido láctico con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{0,1 * V_{NaOH} * 0,09}{P_m} * 100 \quad (1)$$

Donde:

$V_{NaOH}$  = volumen gastado de hidróxido de sodio 0,1 N

$P_m$  = peso de muestra

Factor 0,09 = peso equivalente del ácido láctico.

### 3.6.1.2. Capacidad de retención de agua.

La capacidad de retención de agua se determinó mediante el método desarrollado por Grau y Hamm; citado por Rengifo y Ordóñez [77] se pesan 0,3 g de muestra en una balanza marca ACCULAB, modelo VIC-612 y se coloca entre dos papeles de filtro. A continuación, la muestra con el papel se coloca entre las dos placas, sobre estas se aplica una presión de 10 kg durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se retira el peso y se separa la muestra del papel, procurando eliminar cualquier resto de tejido que pudiera quedar adherido. El papel filtro se pesa y es llevado a una estufa marca Thermo SCIENTIFIC, en la cual se seca durante 24 horas a 60°C, tras el secado el papel filtro se pesa nuevamente. A partir estos datos y del valor de humedad del alimento se calcula la CRA con la siguiente ecuación:

$$CRA \left( \frac{gH_2O \text{ retenida}}{100 g H_2O} \right) = \frac{(m_1 * H) - (m_2 - m_3)}{m_1 * H} * 100 \quad (2)$$

Donde:

m1 = masa de la muestra (g).

m2 = masa del papel de filtro húmedo (g).

m3 = masa del papel de filtro seco (g).

H = contenido en humedad de la muestra (g de H<sub>2</sub>O /g de muestra).

### 3.6.1.3. Contenido de humedad.

El contenido de humedad se determinó mediante la norma INEN-ISO 1442 [68] por medio de secado en una estufa de convección a 105°C durante 24 horas o hasta alcanzar un peso constante. Para ello, se pesaron 5 gramos de la muestra en una placa de Petri previamente tarada en una balanza (marca ACCULAB, modelo VIC-612) y secada, que se introdujo en una estufa marca Thermo SCIENTIFIC a 105°C hasta lograr un peso constante. Con la siguiente formula se calculó el porcentaje de humedad:

$$\%Humedad = \frac{(P1+P2)-P3}{P2} * 100 \quad (3)$$

Donde:

P1 = Peso de la placa (g)

P2 = Peso de la muestra (g)

P3 = Peso de la placa + Peso de la muestra

#### **3.6.1.4. Colorimetría.**

La medición de color se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones dadas por la American Meat Science Association [78] y por el método CIELab [79] se utilizó un colorímetro marca CHROMA METER CR 400 y se colocó el sensor captador de luz sobre la superficie de las muestras y se registraron los valores resultantes.

Donde:

L\* define la luminosidad

a\* componente de color rojo-verde

b\* componente de color amarillo-azul

#### **3.6.1.5. Determinación de pH de las carnes.**

De acuerdo con las Norma INEN-ISO 2917: 2013 [74] la determinación del pH de las carnes se realizó pesando 10 g de la muestra en una balanza marca ACCULAB modelo VIC-612, previamente triturada en un macerador y puesta en un vaso de precipitación de 50 mL. Se añadieron 10 mL de agua destilada y se agitó durante 1 minuto. Transcurrido ese periodo de tiempo el pH se registró en un potenciómetro de la marca OHAUS modelo STARTER 5000.

#### **3.6.1.6. Determinación de pH del mucílago.**

El pH del mucílago de cacao se midió mediante titulación potenciométrica método INEN-ISO 1842: 2013 [72] este método se basa en el hecho de que se establece una diferencia

de potencial entre dos soluciones diferentes. Esta diferencia de potencial determina el flujo de H<sup>+</sup> (ion de hidrogeno), o corriente, que se produce cuando dos soluciones entran en contacto entre sí. Se utilizó un potenciómetro o pH-metro marca HANNA modelo HI 98130. Para realizar este análisis se colocaron 100 mL de muestra en un vaso de precipitación, se agitó durante 30 segundos y se colocó el potenciómetro en la muestra para tomar el valor del pH.

#### **3.6.1.7. Determinación de textura.**

Se utilizó el procedimiento de la American Meat Science Association, método de Compresión y Punción [80] para medir propiedades de textura en alimentos, estos pueden ser sólidos o semisólido. En ensayos de compresión, pueden ser de 10, 25, 80 y hasta 150 mm. En las pruebas de punción, el diámetro de la cabeza (émbolo) es a menudo más pequeña 11,2 o incluso 1 mm como una aguja. Se coloca la muestra en el texturómetro SHIMADZU que es operado por el software TRAPEZIUM versión 1.4.0; los valores se registran después de que la sonda penetra la muestra.

#### **3.6.2. Análisis microbiológicos.**

Los análisis microbiológicos se efectuaron determinando el número de Unidades Formadoras de Colonias en cada muestra.

##### **3.6.2.1. Mohos y levaduras.**

La detección de *Mohos y levaduras* en las muestras se realizó con el método INEN 767 [66] que inicia con la esterilización de la muestra, se pesó 1 gramo de muestra (previamente triturada en un macerador) en una balanza ACCULAB, modelo VIC-612, se colocó la muestra en un vaso de precipitación añadiéndole 10 mL de agua destilada y se agitó durante 1 minuto, posteriormente se filtró la mezcla en papel filtro. Después en una BIOBASE modelo BBS-DDC esterilizada se introdujeron las placas Petrifilm, la mezcla filtrada, la pipeta de 1 mL y las puntas intercambiables. Se procede a colocar una punta en la pipeta, verificar que este bien colocada y se toma 1 mL de la muestra filtrada, seguidamente se procedió a abrir una placa Petrifilm y con la pipeta colocar en el centro la muestra filtrada para después cerrar la placa, con el esparcidor regar la muestra por

todo el gel y se quitó la punta de la pipeta. Se cierra la placa Petrifilm y con el esparcidor se trata de darle una forma circular a la muestra esparcida en la placa.

Cuando estén listas todas las placas Petrifilm con las muestras esparcidas en ellas, se continua con la incubación a 30°C durante 72 horas en una incubadora MEMMERT modelo BE-600. Después de las 72 horas de incubación se retiran las muestras y se procede a contar las colonias en un contador de colonias BOECO modelo CC-1.

### **3.6.2.2. Coliformes totales.**

Para la determinación de *Coliformes totales* se siguió el método de las normas INEN 1529-8 [70] que empieza con la esterilización de la muestra, se pesó 1 gramo de muestra (previamente triturada en un macerador) en una balanza ACCULAB, modelo VIC-612, se colocó la muestra en un vaso de precipitación añadiéndole 10 mL de agua destilada y se agitó durante 1 minuto, posteriormente se filtró la mezcla en papel filtro. Después en una BIOBASE modelo BBS-DDC esterilizada se introducen las placas Petrifilm, la mezcla filtrada, la pipeta de 1 mL y las puntas intercambiables. Se procede a colocar una punta en la pipeta, verificar que este bien colocada y se toma 1 mL de la muestra filtrada, seguidamente se procedió a abrir una placa Petrifilm y con la pipeta en vertical colocar en el centro la muestra filtrada y se quita la punta. Se cierra la placa Petrifilm y con el esparcidor se trata de darle una forma circular aplicando presión a la muestra esparcida en la placa.

Cuando estén listas todas las placas Petrifilm con las muestras esparcidas en ellas, se continua con la incubación a 30°C durante 72 horas en una incubadora MEMMERT modelo BE-600. Después de las 72 horas de incubación se retiran las muestras de la incubadora y se procede a contar las colonias en un contador de colonias BOECO modelo CC-1.

### **3.6.2.3. Bacterias Ácido Lácticas.**

La determinación de bacterias ácido lácticas se llevó a cabo por el método de las normas ISO 15214: 1998 [76] que inicia con la esterilización de la muestra, se pesó 1 gramo de muestra (previamente triturada en un macerador) en una balanza ACCULAB, modelo VIC-612, se colocó la muestra en un vaso de precipitación añadiéndole 10 mL de agua destilada y se agitó durante 1 minuto, posteriormente se filtró la mezcla en papel filtro.

Después en una BIOBASE modelo BBS-DDC esterilizada se introducen las placas Petrifilm, la mezcla filtrada, la pipeta de 1 mL y las puntas intercambiables. Se procede a colocar una punta en la pipeta, verificar que este bien colocada y se toma 1 mL de la muestra filtrada, seguidamente se procedió a abrir una placa Petrifilm y con la pipeta en vertical colocar en el centro la muestra filtrada y se quita la punta. Se cierra la placa Petrifilm y con el esparcidor se trata de darle una forma circular aplicando presión a la muestra esparcida en la placa.

Cuando estén listas todas las placas Petrifilm con las muestras esparcidas en ellas, se continua con la incubación a 30°C durante 72 horas en una incubadora MEMMERT modelo BE-600. Después de las 72 horas de incubación se retiran las muestras de la incubadora y se procede a contar las colonias en un contador de colonias BOECO modelo CC-1.

### 3.7. Tratamiento de los datos.

**Tabla 6.** Tratamiento de datos.

Tratamientos	Detalle
T <sub>1</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de cerdo durante 7 días
T <sub>2</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de pollo durante 7 días
T <sub>3</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de res durante 7 días
T <sub>4</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de cerdo durante 7 días
T <sub>5</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de pollo durante 7 días
T <sub>6</sub>	100 mL de mucílago CCN-51 + 250 g de carne de res durante 7 días
T <sub>7</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250g de carne de cerdo durante 14 días
T <sub>8</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250 g de carne de pollo durante 14 días
T <sub>9</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250 g de carne de res durante 14 días
T <sub>10</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250g de carne de cerdo durante 14 días
T <sub>11</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250 g de carne de pollo durante 14 días
T <sub>12</sub>	100 mL de mucílago Nacional + 250 g de carne de res durante 14 días

**Elaborado por:** Autores.

### **3.8. Recursos materiales y humanos.**

#### **3.8.1. Recursos humanos.**

- Ing. Marlon Castro García, MSc.
- Ing. Cesar López Zambrano, MSc.

##### **3.8.1.1. Materia prima.**

- Mucílago de cacao (CCN-51 y Nacional).
- Carne (cerdo, pollo y res).

##### **3.8.1.2. Insumos.**

- Agua destilada.

##### **3.8.1.3. Equipos.**

- Destilador para agua.
- Estufa.
- Incubadora.
- Biobase.
- Potenciómetro.
- Colorímetro.
- Texturómetro.
- Balanza analítica.
- Contador de colonias.

##### **3.8.1.4. Reactivos.**

- Solución amortiguadora de pH 5,45 a 20°C.
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 0,1 Normalidad.
- Fenolftaleína.

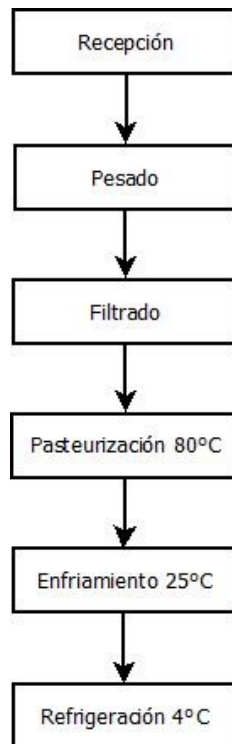
### **3.8.1.5. Materiales de laboratorio.**

- Placas Petrifilm.
- Pipetas serológicas de boca ancha de 1; 5 y 10 cm<sup>3</sup> graduadas en 1/10 de unidad.
- Papel absorbente.
- Tubos Durham.
- Tubos de ensayo de capacidad adecuada.
- Erlenmeyers.
- Pipetas graduadas, de uso bacteriológico, de 1 cm<sup>3</sup> de capacidad nominal, 5 cm<sup>3</sup> y 10 cm<sup>3</sup>, con divisiones de 0,1 cm<sup>3</sup> y una salida de 2mm a 3 mm.
- Papel filtro.
- Probetas graduadas.
- Pinzas.
- Espátulas.
- Esparcidores de laboratorio.
- Soporte universal.
- Tubos de 150mm x 16mm.
- Macerador.
- Vasos de precipitación de 250 cm<sup>3</sup> a 10 cm<sup>3</sup>.

### **3.8.1.6. Materiales de oficina.**

- Hojas A4.
- Libretas de apuntes.
- Lapiceros.
- Lápices.
- Marcadores.
- Borrador.
- Regla.
- Carpetas.
- Tijeras.
- Cinta adhesiva.

### 3.8.2. Diagrama de flujo del proceso de obtención del mucílago de cacao.



Elaborado por: Autores. (2021)

### 3.8.3. Descripción del proceso de obtención del mucílago de cacao.

**Recepción:** El mucílago de cacao fue obtenido en la finca “Cinco hermanos” ubicada en el km 29 de la vía Buena Fe - Santo Domingo.

**Pesado:** Con la ayuda de una balanza se pesó la cantidad de mucílago y se calculó el volumen resultando 3,7 litros.

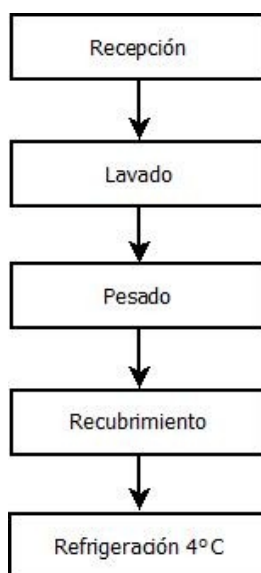
**Filtrado:** Utilizando un colador se ejecutó el filtrado del mucílago, para eliminar impurezas sólidas.

**Pasteurización:** Después de filtrar el mucílago de cacao, se procedió con la pasteurización, llevando el mucilago a una temperatura de 80°C y manteniendo durante cinco minutos.

**Enfriamiento:** A continuación, el mucílago se retiró de la flama, se cubrió el envase que lo contiene y se lo dejó enfriar a temperatura ambiente hasta 24°C.

**Refrigeración:** Una vez enfriado el mucílago de cacao, se procedió a refrigerar a una temperatura de 4°C hasta que las muestras de carnes de los tratamientos estén listas para añadirles el mucílago de cacao.

### 3.8.4. Diagrama de flujo del proceso de la bioconservación.



Elaborado por: Autores. (2021)

### 3.8.5. Descripción del proceso de la bioconservación.

**Recepción:** Se adquirieron las carnes de los tres tipos (cerdo, pollo y res), para proceder con el pesado de las mismas.

**Lavado:** Inmediatamente después las carnes fueron lavadas con abundante agua, con el fin de eliminar cualquier tipo de impureza.

**Pesado:** Justo a continuación de lavar las carnes, inició el proceso de pesado de las muestras para separar los tratamientos de estudio, cada muestra tuvo que pesar 250 gramos.

**Recubrimiento:** A las muestras de carnes pesadas anteriormente, se añadieron 100mL de mucílago de cacao.

**Refrigeración:** Después que estuvieron listos los tratamientos, fueron llevados a refrigeración (4°C) durante el tiempo de 7 y 14 días respectivamente.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Resultados.

### 4.1.1. Resultados del Análisis de Varianza de los análisis físicos y químicos.

**Cuadro 1.** ANOVA del pH de la carne - S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	0.172363	1	0.172363	44.69	0.0000*
B: Tiempo de conservación	0.0208803	1	0.0208803	5.41	0.0287*
C: Tipo de carne	0.0989477	2	0.0494739	12.83	0.0002*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.0328214	1	0.0328214	8.51	0.0076*
AC	0.0536174	2	0.0268087	6.95	0.0042*
BC	0.0021705	2	0.00108525	0.28	0.7572
ABC	0.25351	2	0.126755	32.86	0.0000*
RESIDUOS	0.0925713	24	0.00385714		
TOTAL (CORREGIDO)	0.726882	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 1,30; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

El cuadro N°1 muestra los resultados del pH de la carne e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), por lo que es importante ejecutar una prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) y establecer diferencia entre las medias de los niveles de los tratamientos; con respecto a la interacción BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes) no se observó diferencia significativa.

**Cuadro 2.** ANOVA de pH del mucílago - S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	0.293403	1	0.293403	127.88	0.0000*
B: Tiempo de conservación	1.62563	1	1.62563	708.50	0.0000*
C: Tipo de carne	0.0540056	2	0.0270028	11.77	0.0003*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.378225	1	0.378225	164.84	0.0000*
AC	0.0197722	2	0.00988611	4.31	0.0252*
BC	0.0792167	2	0.0396083	17.26	0.0000*
ABC	0.0179167	2	0.00895833	3.90	0.0340*
RESIDUOS	0.0550667	24	0.00229444		
TOTAL (CORREGIDO)	2.52323	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 1,17; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

Como se muestra en el cuadro N°2, existe diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), por lo cual es necesario realizar una prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) y definir diferencia en las medias.

**Cuadro 3.** ANOVA de Acidez titulable – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	0.00308025	1	0.00308025	15.04	0.0007*
B: Tiempo de conservación	0.00018225	1	0.00018225	0.89	0.3548
C: Tipo de carne	0.000288	2	0.000144	0.70	0.5049
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.00099225	1	0.00099225	4.85	0.0376*
AC	0.002502	2	0.001251	6.11	0.0072*
BC	0.000378	2	0.000189	0.92	0.4109
ABC	0.000162	2	0.000081	0.40	0.6776
RESIDUOS	0.004914	24	0.00020475		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0124988	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 9,72; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

El cuadro N°3 presenta los resultados de Acidez y presenta diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), por lo cual se requiere una prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) para detectar diferencia

entre las medias; mientras que en el factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res) asociaciones: BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne) no existió diferencia significativa.

**Cuadro 4.** ANOVA de Textura – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	0.435879	1	0.435879	0.96	0.3357
B: Tiempo de conservación	0.0832313	1	0.0832313	0.18	0.6716
C: Tipo de carne	0.677715	2	0.338858	0.75	0.4830
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.515747	1	0.515747	1.14	0.2959
AC	0.316318	2	0.158159	0.35	0.7081
BC	1.10055	2	0.550273	1.22	0.3134
ABC	0.791171	2	0.395586	0.88	0.4294
RESIDUOS	10.8412	24	0.451715		
TOTAL (CORREGIDO)	14.7618	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 52,76; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

El cuadro N°4, muestra los valores del análisis de Textura, no se contempló diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne).

**Cuadro 5.** ANOVA de Capacidad de Retención de Agua – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	6.49315	1	6.49315	0.28	0.6030
B: Tiempo de conservación	6.10008	1	6.10008	0.26	0.6141
C: Tipo de carne	90.8179	2	45.409	1.94	0.1652
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	20.7374	1	20.7374	0.89	0.3556
AC	60.069	2	30.0345	1.29	0.2950
BC	63.5898	2	31.7949	1.36	0.2756
ABC	29.27	2	14.635	0.63	0.5431
RESIDUOS	560.926	24	23.3719		
TOTAL (CORREGIDO)	838.004	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 30; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

Los resultados obtenidos en el cuadro N°5, denota que no hay diferencias significativas en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne).

**Cuadro 6.** ANOVA de Contenido de Humedad – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	5.5225	1	5.5225	0.83	0.3723
B: Tiempo de conservación	43.3403	1	43.3403	6.49	0.0177*
C: Tipo de carne	80.6506	2	40.3253	6.04	0.0075*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	90.5669	1	90.5669	13.56	0.0012*
AC	49.875	2	24.9375	3.73	0.0388*
BC	14.9606	2	7.48028	1.12	0.3428
ABC	46.5072	2	23.2536	3.48	0.0470*
RESIDUOS	160.313	24	6.67972		
TOTAL (CORREGIDO)	491.736	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 3,54; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

En el cuadro N°6, muestran los resultados del Contenido de Humedad, existe diferencia significativa en: factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), para la que hay que realizar una prueba de significación (Tukey  $p < 0,05$ ) y concretar diferencia entre las medias, con respecto al factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), y nexos BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes) no existió diferencia significativa.

**Cuadro 7.** ANOVA de Colorimetría espectro L – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	7.20028	1	7.20028	1.79	0.1931
B: Tiempo de conservación	0.8649	1	0.8649	0.22	0.6468
C: Tipo de carne	1861.97	2	930.987	231.84	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	2.42321	1	2.42321	0.60	0.4449
AC	544.327	2	272.163	67.77	0.0000*
BC	374.052	2	187.026	46.57	0.0000*
ABC	1.23389	2	0.616944	0.15	0.8584
RESIDUOS	96.3774	24	4.01572		
TOTAL (CORREGIDO)	2888.45	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 3,83; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

Cuadro N°7, indica los valores del color en el espectro L, se halla diferencia significativa en el factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxC (variedades de cacao y tipo de carne) y BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), es indispensable realizar una prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) y determinar diferencia entre las medias, con respecto al factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne) no existió diferencia significativa.

**Cuadro 8.** ANOVA de Colorimetría espectro A – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	12.948	1	12.948	35.44	0.0000*
B: Tiempo de conservación	10.9671	1	10.9671	30.02	0.0000*
C: Tipo de carne	81.2989	2	40.6494	111.25	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	13.4811	1	13.4811	36.90	0.0000*
AC	27.6689	2	13.8345	37.86	0.0000*
BC	25.4119	2	12.706	34.77	0.0000*
ABC	6.00707	2	3.00354	8.22	0.0019*
RESIDUOS	8.7692	24	0.365383		
TOTAL (CORREGIDO)	186.552	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 13,32; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

Como se muestra en el cuadro N°8, hay diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14

días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), por lo cual es necesario realizar una prueba de significación (Tukey  $p < 0,05$ ) y determinar desigualdad entre las medias de los niveles de los tratamientos.

**Cuadro 9.** ANOVA de Colorimetría espectro B – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFEKTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	2.35111	1	2.35111	2.60	0.1199
B: Tiempo de conservación	28.9444	1	28.9444	32.02	0.0000*
C: Tipo de carne	734.696	2	367.348	406.33	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	11.7878	1	11.7878	13.04	0.0014*
AC	4.48754	2	2.24377	2.48	0.1048
BC	112.964	2	56.482	62.48	0.0000*
ABC	2.09454	2	1.04727	1.16	0.3309
RESIDUOS	21.6974	24	0.904058		
TOTAL (CORREGIDO)	919.023	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 7,02; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N=n Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

En el cuadro N°9, muestran los resultados de Colorimetría en el espectro B, presenta diferencia significativa en: factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación) y BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), por lo cual es importante efectuar la prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) y determinar diferencia entre las medias, con respecto al factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), la interconexión BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), AxC (variedades de cacao y tipo de carne) y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne) no existió diferencia significativa.

#### 4.1.2. Resultado del análisis de Varianza de los análisis Microbiológicos.

**Cuadro 10.** ANOVA de Coliformes – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	560.111	1	560.111	77.85	0.0000*
B: Tiempo de conservación	981.778	1	981.778	136.46	0.0000*
C: Tipo de carne	584.056	2	292.028	40.59	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	711.111	1	711.111	98.84	0.0000*
AC	470.056	2	235.028	32.67	0.0000*
BC	502.056	2	251.028	34.89	0.0000*
ABC	625.389	2	312.694	43.46	0.0000*
RESIDUOS	172.667	24	7.19444		
TOTAL (CORREGIDO)	4607.22	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 32,40; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

Como se observa en el cuadro N°10, aparece diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao  $a_0$  CCN-51 y  $a_1$  Nacional), factor B (tiempo de conservación  $b_0$  7 días y  $b_1$  14 días), factor C (tipos de carne  $c_0$  cerdo,  $c_1$  pollo y  $c_2$  res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), por lo tanto, es importante efectuar una prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ) y determinar la diferencia entre las medias de los tratamientos.

**Cuadro 11.** ANOVA de Mohos y Levaduras – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	9702.25	1	9702.25	195.90	0.0000*
B: Tiempo de conservación	240.25	1	240.25	4.85	0.0375*
C: Tipo de carne	4877.06	2	2438.53	49.24	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	42.25	1	42.25	0.85	0.3649
AC	2078.17	2	1039.08	20.98	0.0000*
BC	7046.17	2	3523.08	71.13	0.0000*
ABC	16400.2	2	8200.08	165.57	0.0000*
RESIDUOS	1188.67	24	49.5278		
TOTAL (CORREGIDO)	41575.0	35			

**Nivel de confianza:**  $p < 0,05$ ; CV: 24,72; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

**Elaborado por:** Autores.

En el cuadro N°11, muestra diferencia significativa en: factor A (variedades de cacao a<sub>0</sub> CCN-51 y a<sub>1</sub> Nacional), factor B (tiempo de conservación b<sub>0</sub> 7 días y b<sub>1</sub> 14 días), factor C (tipos de carne c<sub>0</sub> cerdo, c<sub>1</sub> pollo y c<sub>2</sub> res), interacciones: AxC (variedades de cacao y tipo de carne), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), así que es importante realizar una prueba de significación de Tukey (p<0,05) y determinar la diferencia entre las medias de los tratamientos, mientras que en la interrelación AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación) no existió diferencia significativa.

**Cuadro 12.** ANOVA de Bacterias Ácido Lácticas – S.C.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Variedades de Cacao	173.361	1	173.361	8.72	0.0069*
B: Tiempo de conservación	1332.25	1	1332.25	66.98	0.0000*
C: Tipo de carne	33730.2	2	16865.1	847.97	0.0000*
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	3990.03	1	3990.03	200.62	0.0000*
AC	27.0556	2	13.5278	0.68	0.5160
BC	354.5	2	177.25	8.91	0.0013*
ABC	3652.06	2	1826.03	91.81	0.0000*
RESIDUOS	477.333	24	19.8889		
TOTAL (CORREGIDO)	43736.8	35			

**Nivel de confianza:** p<0,05; CV: 7,22; N:36

**Simbología:** CV= Coeficiente de Varianza; Gl= Grados de libertad; N= Número de Unidades experimentales.

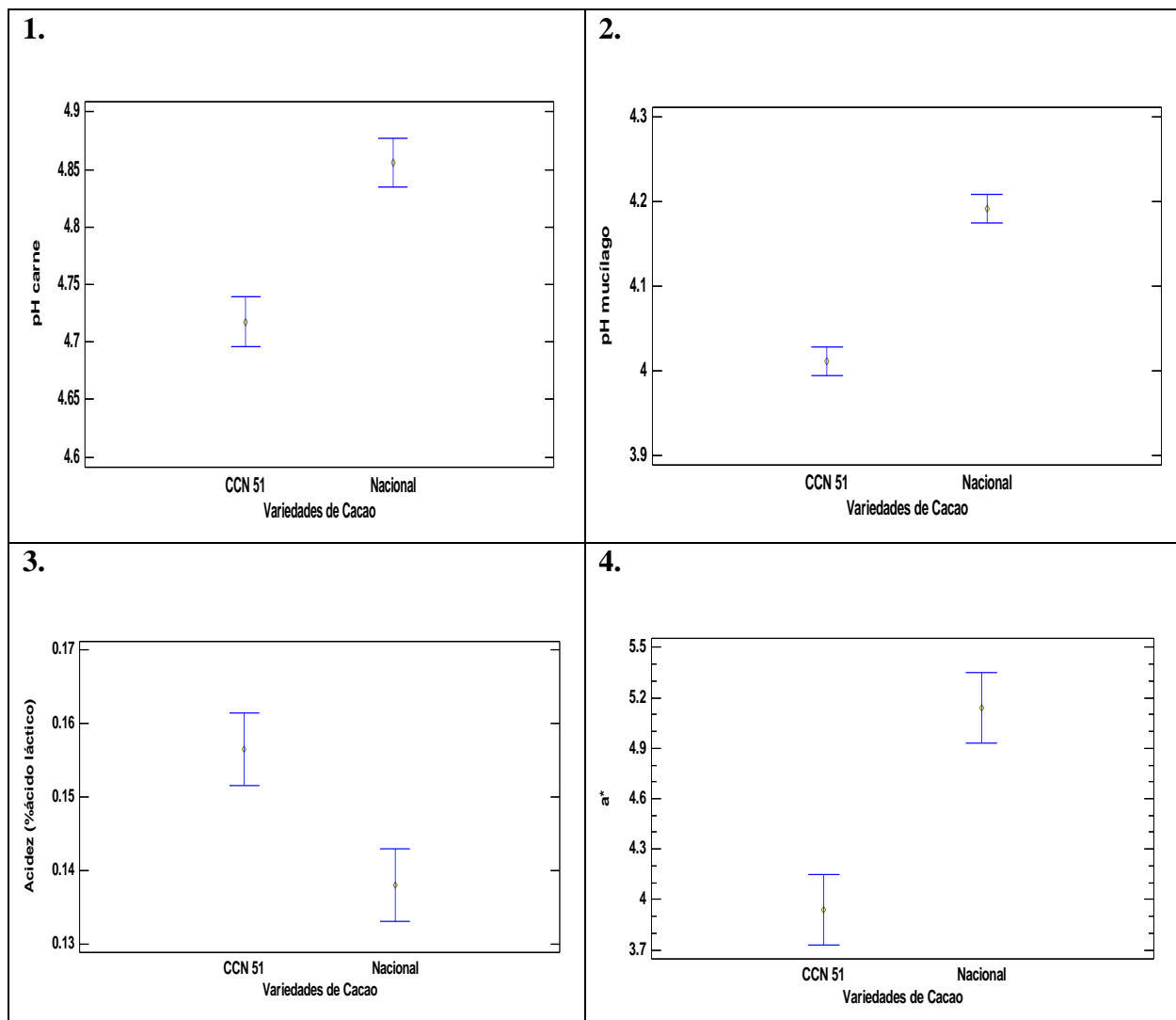
**Elaborado por:** Autores.

En el cuadro N°12, se halla diferencia significativa entre: factor A (variedades de cacao a<sub>0</sub> CCN-51 y a<sub>1</sub> Nacional), factor B (tiempo de conservación b<sub>0</sub> 7 días y b<sub>1</sub> 14 días), factor C (tipos de carne c<sub>0</sub> cerdo, c<sub>1</sub> pollo y c<sub>2</sub> res), interacciones: AxB (variedades de cacao y tiempo de conservación), BxC (tiempo de conservación y tipos de carnes), y AxBxC (variedades de cacao, tiempo de conservación y tipo de carne), en consecuencia, es importante ejecutar una prueba de significación de Tukey (p<0,05) para determinar la diferencia entre las medias de los tratamientos, la conexión AxC (variedades de cacao y tipo de carne), no mostró diferencia significativa.

### 4.1.3. Resultados de las medias mediante la prueba de significación de Tukey de los análisis físicos, químicos y microbiológicos.

#### 4.1.3.1. Resultados obtenidos en el factor A (Variedades de cacao) de los análisis físicos y químicos.

**Gráfico 1.** Resultados de las diferencias de medias entre mucilago de cacao CCN-51 y mucilago de cacao Nacional de la prueba de significación Tukey de los análisis físico-químicos ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS).



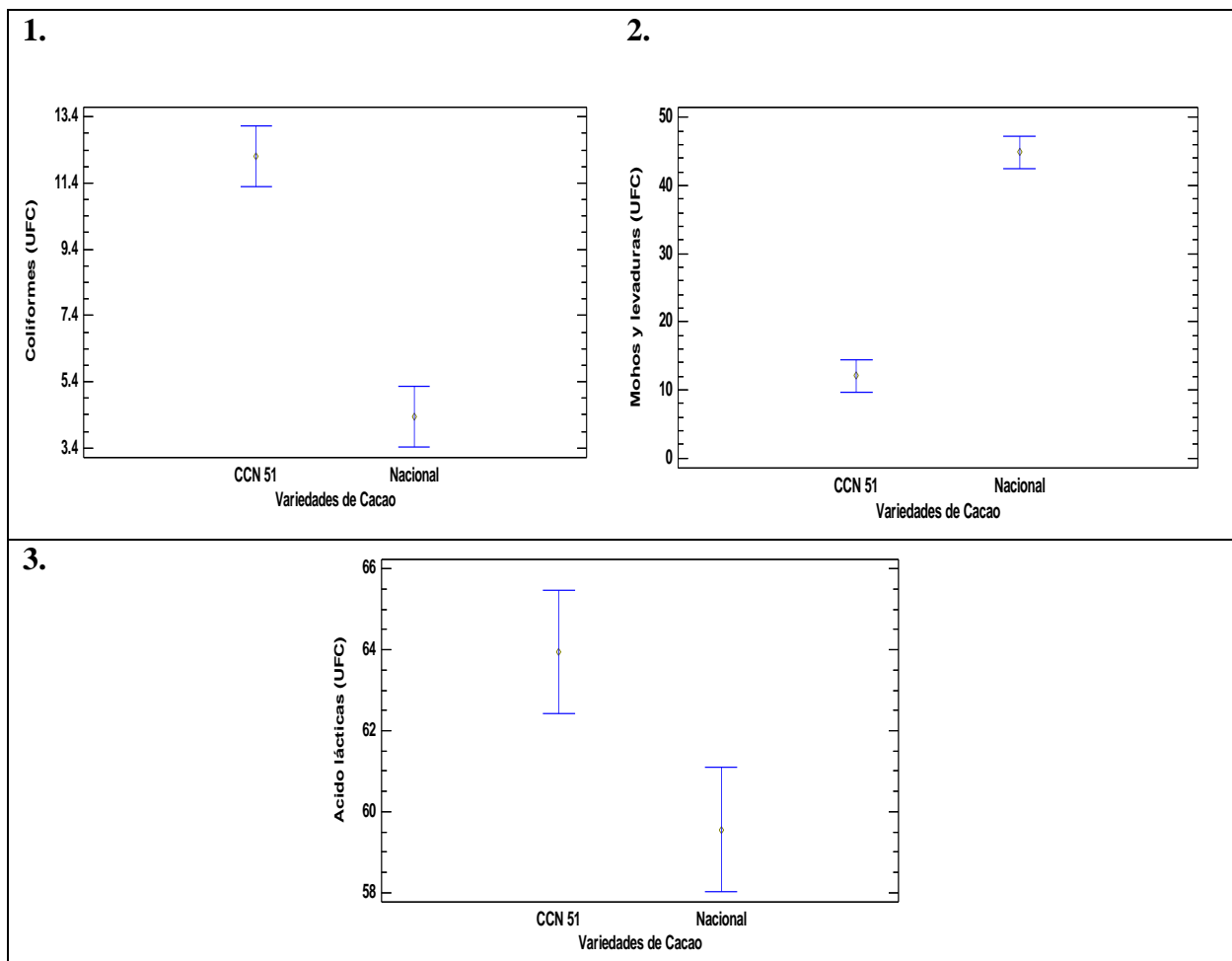
**Elaborado por:** Autores.

El Gráfico 1, presenta diferencia significativa para el pH de la carne con una cantidad superior de 4,86 en  $a_1 =$  Nacional, mientras  $a_0 =$  CCN-51 obtuvo un valor de 4,72. Respecto al pH del mucílago el que contiene mayor nivel de pH es  $a_1 =$  Nacional con 4,19; en  $a_0 =$  CCN-51 obtuvo un valor de 4,01. En la Acidez titulable, se observó el valor

más alto en  $a_0 = \text{CCN-51}$  0,16% y en  $a_1 = \text{Nacional}$  el valor fue 0,14%. En Colorimetría espectro A se observó que  $a_1 = \text{Nacional}$  presento un mayor espacio de color con 5,14 y  $a_0 = \text{CCN-51}$  obtuvo un valor de 3,94.

**4.1.3.2. Resultados con respecto al factor A (Variedades de cacao) de los análisis microbiológicos.**

**Gráfico 2.** Resultados de las diferencias de medias entre mucilago de cacao CCN-51 y mucilago de cacao Nacional de la prueba de significación Tukey de los análisis microbiológicos ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido láctico.



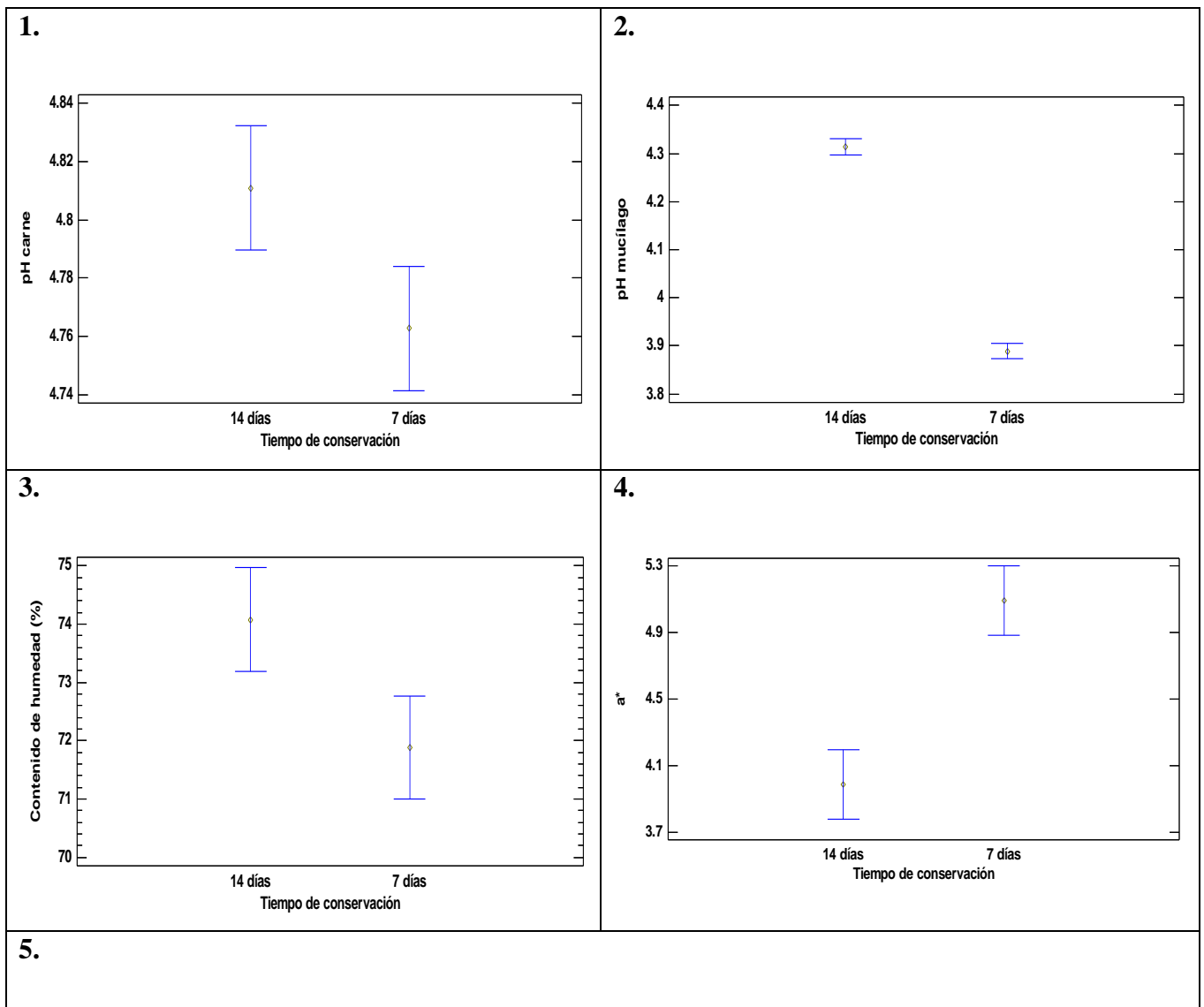
**Elaborado por:** Autores. (2021)

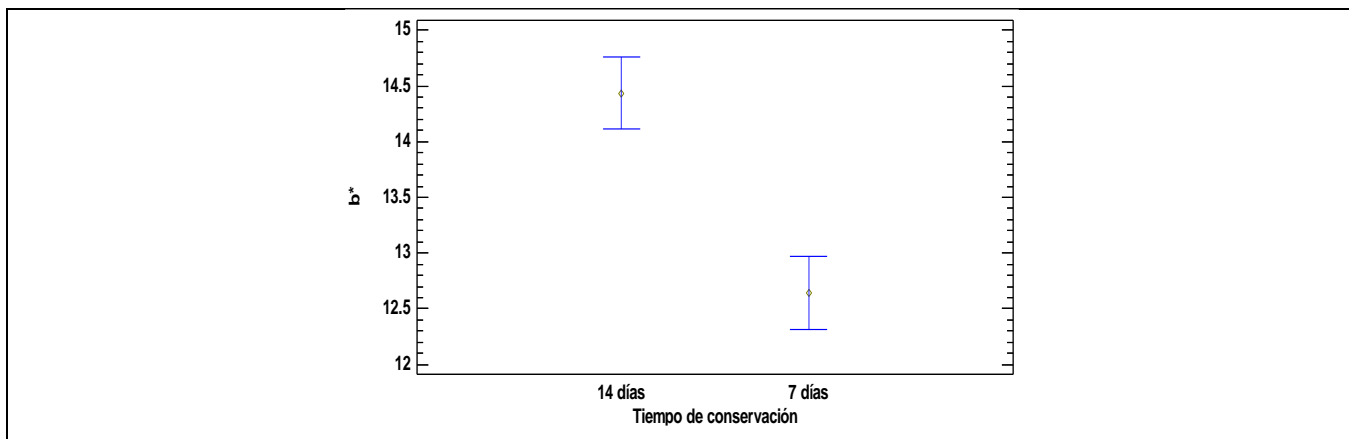
En el conteo de Coliformes se observa que  $a_0 = \text{CCN-51}$  con un valor de 12,22 presento el nivel más alto, para  $a_1 = \text{Nacional}$  el valor fue de 4,33. En Mohos y levaduras se obtuvo una cantidad superior de 44,89 en  $a_1 = \text{Nacional}$ , mientras que  $a_0 = \text{CCN-51}$  obtuvo un

valor de 12,06. Respecto a las Bacterias Ácido Lácticas el que contiene mayor cantidad es  $a_0 = \text{CCN-51}$  cuyo valor fue 63,94 y en  $a_1 = \text{Nacional}$  se obtuvo un valor de 59,56.

**4.1.3.3. Resultados con respecto al factor B (Tiempo de conservación) de los análisis físicos y químicos.**

**Gráfico 3.** Resultados de las diferencias medias entre el almacenamiento de 7 días y 14 días por medio de la prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro A (DS); 5.- Colorimetría espectro B (DS).



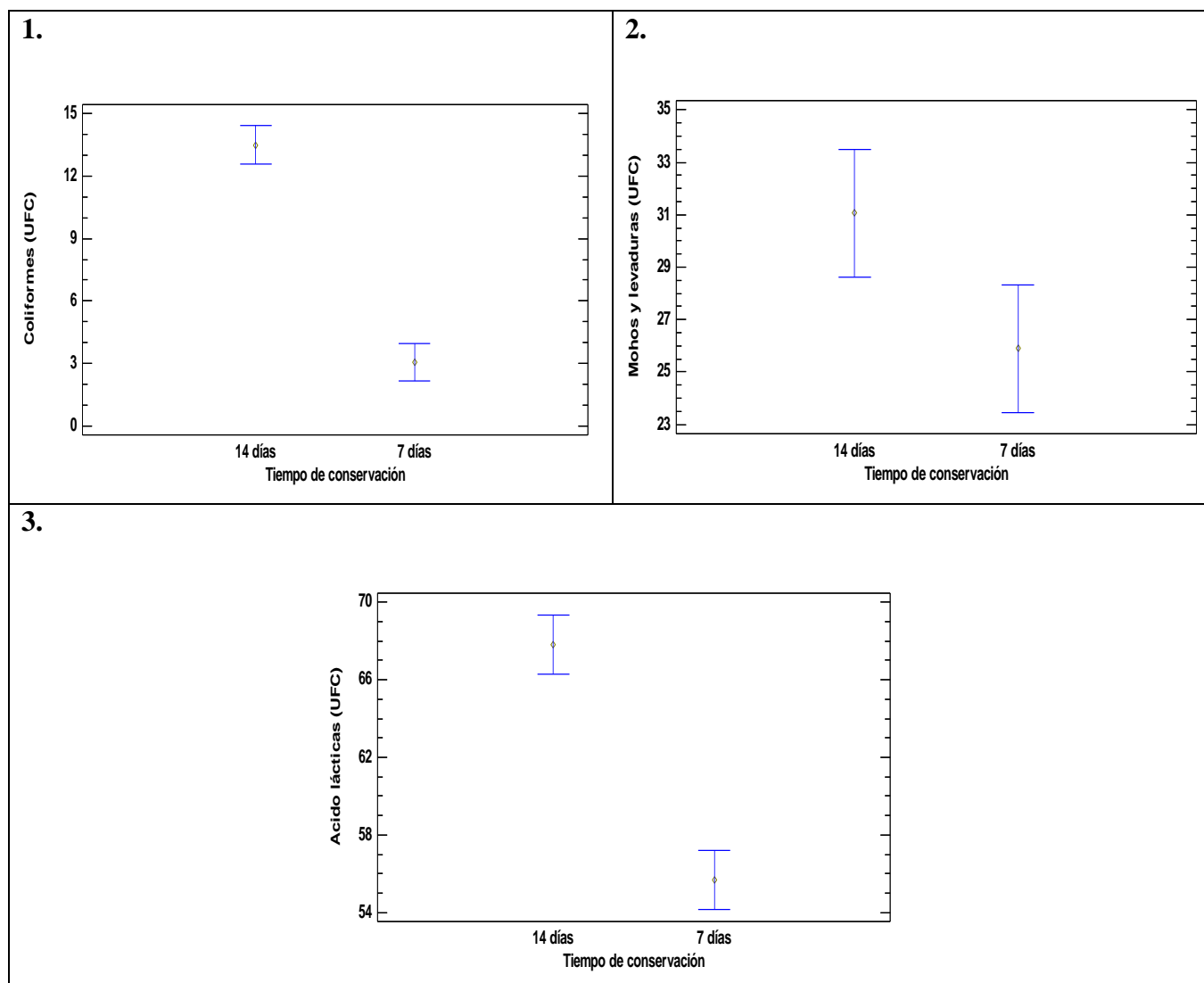


**Elaborado por:** Autores.

El Gráfico 3 reportó diferencia significativa para el pH de la carne con un valor superior de 4,81 en  $b_1 = 14$  días, mientras  $b_0 = 7$  días obtuvo un valor de 4,76. Respecto al pH del mucílago el que contiene mayor valor es  $b_1 = 14$  días con 4,31; en  $b_0 = 7$  días obtuvo un valor de 3,89. En el Contenido de Humedad se observó el valor más alto en  $b_1 = 14$  días con 74,08% y en  $b_0 = 7$  días el valor fue 71,88%. En Colorimetría espectro A se notó que  $b_0 = 7$  días presentó un mayor espacio de color con 5,09 y  $b_1 = 14$  días obtuvo un valor de 3,99. Colorimetría espectro B se observó que  $b_1 = 14$  días presentó un mayor valor con 14,44 y  $b_0 = 7$  días obtuvo un valor de 12,64.

#### 4.1.3.4. Resultados con respecto al factor B (Tiempo de conservación) de los análisis microbiológicos.

**Gráfico 4.** Resultados de las diferencias medias entre 7 días de conservación y 14 días de conservación, por medio de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y Levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido lácticas (DS).

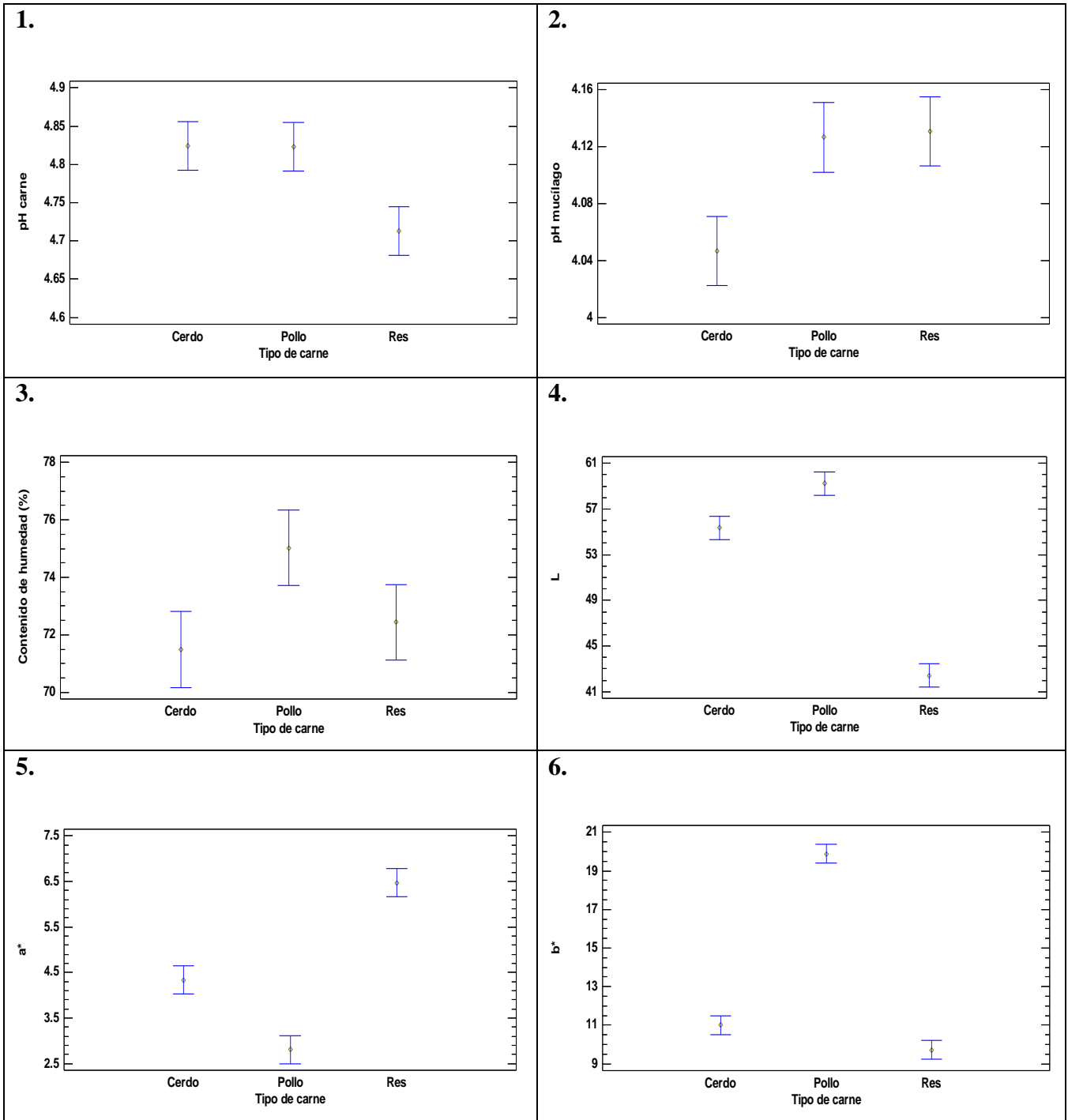


**Elaborado por:** Autores.

El Gráfico 4 muestra diferencia significativa para el conteo de Coliformes, se observó que b1 = 14 días con un valor de 13,50 presento el nivel más alto, b0 = 7 días el valor fue de 3,06. En Mohos y levaduras se obtuvo una cantidad superior de 31,06 en b1 = 14 días, mientras que b0 = 7 días obtuvo un valor de 25,89. Respecto a las Bacterias Ácido Lácticas el que contiene mayor cantidad es b1 = 14 días cuyo valor fue 67,83 y en b0 = 7 días se obtuvo un valor de 55,67.

**4.1.3.5. Resultados obtenidos en el factor C (Tipos de carne) de los análisis físicos y químicos.**

**Gráfico 5.** Resultados de las diferencias de medias entre carne de cerdo, carne de pollo y carne de res de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro L (DS); 5.- Colorimetría espectro A (DS); 6.- Colorimetría espectro B (DS); 7.- coliformes (DS); 8.- Mohos y Levaduras (DS); 9.- Bacterias ácidos lácticas (DS).

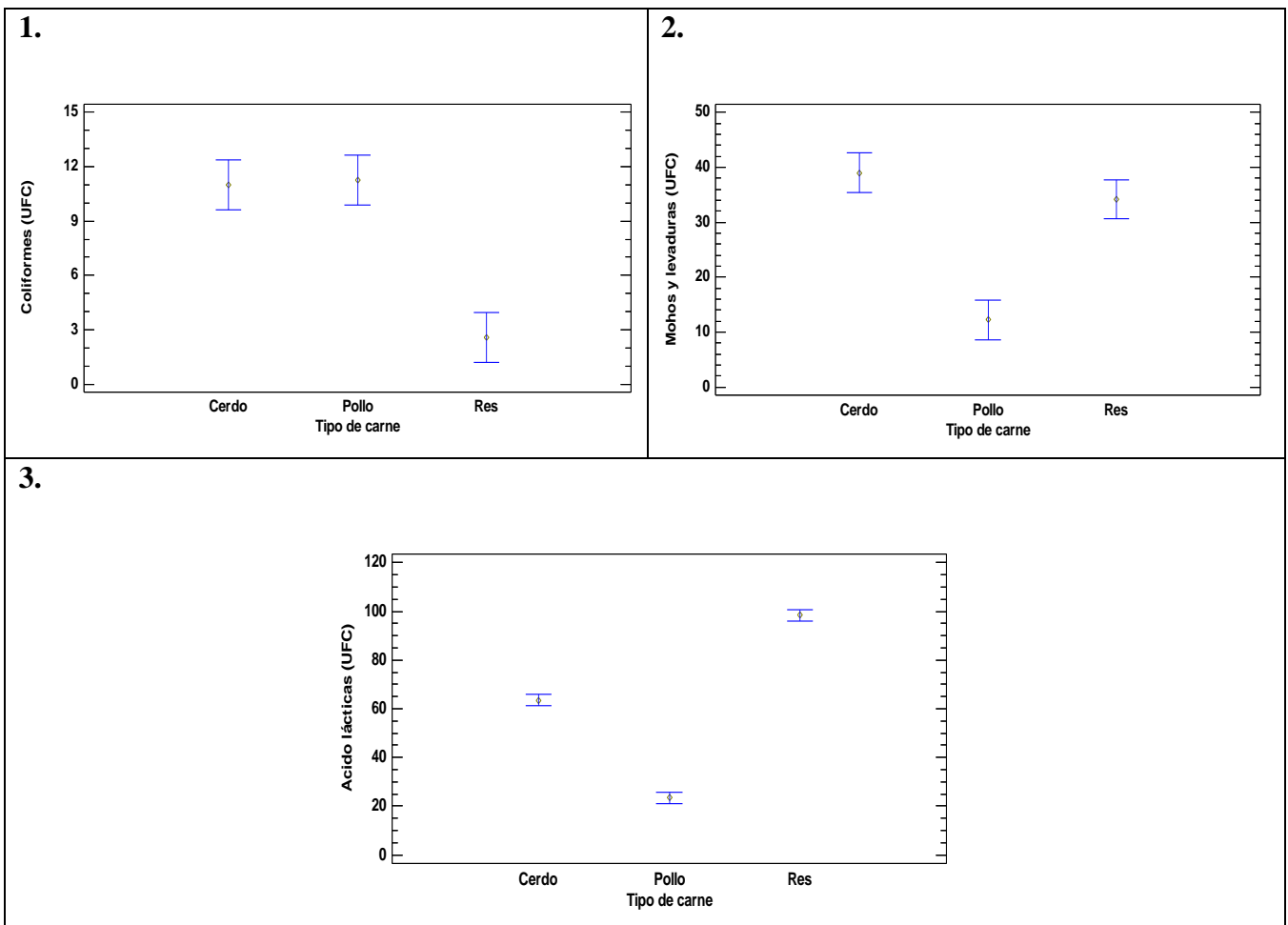


Elaborado por: Autores.

El Gráfico 5 ilustró diferencia significativa en el pH de la carne, con una cantidad superior de 4,82 en  $c_0$  = cerdo, mientras  $c_2$  = res obtuvo un valor de 4,71. Respecto al pH del mucílago el que constató mayor valor fue  $c_1$  = pollo 4,13 y  $c_0$  = cerdo obtuvo 4,05. En el Contenido de Humedad se observó el valor más alto en  $c_1$  = pollo con 75,03% y  $c_0$  = cerdo presentó el valor menor con 71,48%. En Colorimetría espectro L se observó que  $c_1$  = pollo presentó un mayor valor con 59,25 y  $c_2$  = res con 42,42 el valor menor. En Colorimetría espectro A  $c_2$  = res presentó un mayor espacio de color con 6,47;  $c_1$  = pollo con 2,81 fue el valor menor. Colorimetría espectro B se observó que  $c_1$  = pollo presento el valor elevado con 19,89, mientras que  $c_2$  = res presento el valor menor con 9,73.

**4.1.3.6. Resultados con respecto al factor C (Tipos de carne) de los microbiológicos.**

**Gráfico 6.** Coliformes (DS) 2.- Mohos y Levaduras (DS); 3.- Bacterias ácido lácticas (DS).



Elaborado por: Autores.

El Gráfico 6 presentó diferencia significativa en el conteo de Coliformes, se determinó que  $c_1$  = pollo con un valor de 11,25 presentó el nivel más alto,  $c_0$  = cerdo obtuvo el valor de 11 y el valor menor fue  $c_2$  = res con 2,58. En Mohos y levaduras se obtuvo una cantidad superior de 39 en  $c_0$  = cerdo, mientras que  $c_2$  = res obtuvo un valor de 34,17 y  $c_1$  = pollo con 12,25. Respecto a las Bacterias Ácido Lácticas el que contiene mayor cantidad es  $c_2$  = res cuyo valor fue 98,33; en  $c_0$  = cerdo se obtuvo un valor de 63,50 y  $c_1$  = pollo presentó el valor menor con 23,42.

#### 4.1.3.7. Resultados con respecto a la interacción AxB (Variedades de cacao + Tiempo de conservación) de los análisis físicos y químicos.

**Gráfico 7.** Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tiempo de conservación, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS) 4.- Contenido de humedad (DS); 5.- Colorimetría espectro A (DS); 6.- Colorimetría espectro B (DS).

Factor AxB	pH carne	pH mucílago	Acidez (%)	Humedad (%)	Color *a	Color *b
CCN-51 + 7 días	4,66 A	3,90 A	0,16 B	73,08 AB	3,88 A	11,82 A
CCN-51 + 14 días	4,77 B	4,12 B	0,15 AB	72,10 A	4,00 A	14,75 C
Nacional + 7 días	4,86 C	3,88 A	0,14 A	70,69 A	6,30 B	13,47 B
Nacional + 14 días	4,85 BC	4,51 C	0,14 A	76,06 B	3,98 A	14,12 BC

**Elaborado por:** Autores.

El Gráfico 7 muestra diferencia significativa para el pH de la carne con una cantidad superior de 4,86 en  $a_1b_0$  (Nacional + 7 días). Respecto al pH del mucílago el que contiene mayor nivel de pH es  $a_1b_1$  (Nacional + 14 días) con 4,51. En la Acidez se registró el valor más alto en  $a_0b_0$  (CCN-51 + 7 días) con 0,16%. Con respecto a la Humedad  $a_1b_1$  (Nacional + 14 días) con 76,06% registró el valor mayor. En Colorimetría espectro A se observó que  $a_1b_0$  (Nacional + 7 días) exhibió un mayor espacio de color con 6,30. Colorimetría espectro B se contempló que  $a_0b_1$  (CCN-51 + 14 días) presentó un mayor valor con 14,75.

**4.1.3.8. Resultados con respecto a la interacción AxB (Variedades de cacao + Tiempo de conservación) de los análisis microbiológicos.**

**Gráfico 8.** Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tiempo de conservación, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS) 2.- Bacterias ácido lácticas (DS).

Factor AxB	Coliformes (UFC)	BAL (UFC)
CCN-51 + 7 días	2,56 <sup>A</sup>	47,33 <sup>A</sup>
CCN-51 + 14 días	21,89 <sup>B</sup>	80,56 <sup>D</sup>
Nacional + 7 días	3,56 <sup>A</sup>	64 <sup>C</sup>
Nacional + 14 días	5,11 <sup>A</sup>	55,11 <sup>B</sup>

**Elaborado por:** Autores.

El Gráfico 8 muestra diferencia significativa para el conteo de Coliformes, se diagnosticó que  $a_0b_1$  (CCN-51 + 14 días) con un valor de 21,89 presentó el nivel más alto,  $a_1b_1$  (Nacional + 14 días) obtuvo el valor de 5,11; para  $a_1b_0$  (Nacional + 7 días) el valor fue 3,56 y el valor menor fue  $a_0b_0$  (CCN-51 + 7 días) con 2,56. Respecto a las Bacterias Ácido Lácticas el que contiene mayor cantidad es  $a_0b_1$  (CCN-51 + 14 días) cuyo valor fue 80,56, en  $a_1b_0$  (Nacional + 7 días) se obtuvo un valor de 64; el siguiente valor fue 55,11 en el tratamiento  $a_1b_1$  (Nacional + 14 días) y  $a_0b_0$  (CCN-51 + 7 días) presentó el valor menor con 47,33.

**4.1.3.9. Resultado respecto a la interacción AxC (Variedades de cacao + Tipos de carne) de los análisis físicos y químicos.**

**Gráfico 9.** Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tipos de carne, mediante la prueba de significación de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Acidez titulable (DS) 4.- Contenido de humedad (DS); 5.- Colorimetría espectro L (DS); 6.- Colorimetría espectro A (DS).

Factor AxC	pH carne	pH mucílago	Acidez (%)	Humedad (%)	Color *L	Color *a
CCN-51 + cerdo	4,73 A	3,92 A	0,16 AB	72,22 AB	50,35 C	4,98 CD
CCN-51 + pollo	4,72 A	4,06 B	0,15 AB	75,13 B	61,74 E	1,60 A
CCN-51 + res	4,70 A	4,06 B	0,17 B	70,42 A	46,28 B	5,24 D
Nacional + cerdo	4,92 B	4,17 C	0,13 A	70,75 AB	60,34 DE	3,70 B
Nacional + pollo	4,92 B	4,20 C	0,15 AB	74,92 AB	56,77 D	4,02 BC
Nacional + res	4,73 A	4,21 C	0,13 A	74,45 AB	38,57 A	7,71 E

**Elaborado por:** Autores.

En el Gráfico 9 muestra diferencia significativa para el pH de la carne con una cantidad superior de 4,92 en a<sub>1c0</sub> (Nacional + cerdo) y a<sub>1c1</sub> (Nacional + pollo). Respecto al pH del mucílago el que exteriorizó mayor valor es a<sub>1c2</sub> (Nacional + res) con 4,21. En Acidez se observó el valor más alto en a<sub>0c2</sub> (CCN-51 + res) con 0,17%. Con respecto al Contenido de Humedad a<sub>0c1</sub> (CCN-51 + pollo) con 75,13% obtuvo el valor mayor. En Colorimetría espectro L se observó que a<sub>0c1</sub> (CCN-51 + pollo) presentó un mayor espacio de color con 61,74. Colorimetría espectro A ilustró que a<sub>1c2</sub> (Nacional + res) presentó un mayor valor con 7,71.

**4.1.3.10. Resultados respecto a la interacción AxC (Variedades de cacao + Tipos de carne) de los análisis microbiológicos.**

**Gráfico 10.** Resultados de las diferencias medias entre variedades de cacao y tipos de carne, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS).

Factor AxC	Coliformes (UFC)	Mohos y levaduras (UFC)
CCN-51 + cerdo	16,67 <sup>B</sup>	13 <sup>AB</sup>
CCN-51 + pollo	18,50 <sup>B</sup>	4,83 <sup>A</sup>
CCN-51 + res	1,50 <sup>A</sup>	18,33 <sup>B</sup>
Nacional + cerdo	5,33 <sup>A</sup>	65 <sup>D</sup>
Nacional + pollo	4 <sup>A</sup>	19,67 <sup>B</sup>
Nacional + res	3,67 <sup>A</sup>	50 <sup>C</sup>

**Elaborado por:** Autores.

En el Gráfico 10 muestra diferencia significativa para el conteo de Coliformes, se notó que a0c1 (CCN-51 + pollo) con un valor de 18,50 presentó el nivel más alto, a0c0 (CCN-51 + cerdo) obtuvo el valor de 16,67; en tanto el valor menor fue a0c2 (CCN-51 + res) con 1,50. Respecto a Mohos y Levaduras el que contiene mayor cantidad es a1c0 (Nacional + cerdo) cuyo valor fue 65 y a0c1 (CCN-51 + pollo) presentó el valor menor con 4,83.

#### 4.1.3.11. Resultados respecto a la interacción BxC (Tiempo de conservación + Tipos de carne) de los análisis físicos y químicos.

**Gráfico 11.** Resultados de las diferencias medias entre tiempo de conservación y tipos de carne mediante la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH del mucílago (DS); 2.- Colorimetría espectro L (DS); 3.- Colorimetría espectro A (DS) 4.- Colorimetría espectro B (DS); 5.- Coliformes (DS); 6.- Mohos y levaduras (DS); 7.- Bacterias Ácido Lácticas (DS).

Factor BxC	pH mucílago	Color *L	Color *a	Color *b	Coliformes (UFC)	Mohos y levaduras (UFC)	BAL (UFC)
7 días + cerdo	3,86 A	54 C	4,60 B	9,46 A	4,83 A	50 C	54,83 C
7 días + pollo	3,85 A	56,43 C	4,51 B	17,22 C	2 A	15,33 A	15,50 A
7 días + res	3,96 B	47,06 B	6,18 C	11,25 B	2,33 A	12,33 A	96,67 E
14 días + cerdo	4,23 C	56,69 C	4,08 B	12,55 B	17,17 B	28 B	72,17 D
14 días + pollo	4,41 D	62,08 D	1,11 A	22,55 D	20,50 B	9,17 A	31,33 B
14 días + res	4,30 C	37,79 A	6,77 C	8,20 A	2,83 A	56 C	100 E

Elaborado por: Autores.

En el Gráfico 11 respecto al pH del mucílago el valor más elevado es  $b_{1c1}$  (14 días + pollo) con 4,41;  $b_{0c1}$  (7 días + pollo) obtuvo el resultado menor con 3,85. En Colorimetría espectro L se notó que  $b_{1c1}$  (14 días + pollo) exhibió un mayor espacio de color con 62,08 y  $b_{1c2}$  (14 días + res) alcanzó el resultado menor con 37,79. Colorimetría espectro A se comprobó que  $b_{1c2}$  (14 días + res) entregó un mayor valor con 6,77, mientras que  $b_{1c1}$  (14 días + pollo) mostró el valor menor con 1,11. En Colorimetría espectro B se registró que  $b_{1c1}$  (14 días + pollo) presentó un mayor espacio de color con 22,55 y  $b_{1c2}$  (14 días + res) obtuvo el resultado menor con 8,20.

**4.1.3.12. Resultados respecto a la interacción BxC (Tiempo de conservación + Tipos de carne) de los análisis microbiológicos.**

**Gráfico 12.** Resultados de las diferencias medias de tiempo de conservación y tipos de carne, por medio de la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias Ácido Lácticas (DS).

Factor BxC	Coliformes (UFC)	Mohos y levaduras (UFC)	BAL (UFC)
7 días + cerdo	4,83 <sup>A</sup>	50 <sup>C</sup>	54,83 <sup>C</sup>
7 días + pollo	2 <sup>A</sup>	15,33 <sup>A</sup>	15,50 <sup>A</sup>
7 días + res	2,33 <sup>A</sup>	12,33 <sup>A</sup>	96,67 <sup>E</sup>
14 días + cerdo	17,17 <sup>B</sup>	28 <sup>B</sup>	72,17 <sup>D</sup>
14 días + pollo	20,50 <sup>B</sup>	9,17 <sup>A</sup>	31,33 <sup>B</sup>
14 días + res	2,83 <sup>A</sup>	56 <sup>C</sup>	100 <sup>E</sup>

**Elaborado por:** Autores.

Dentro del Gráfico 12 se muestran los resultados respecto al conteo de Coliformes, señala que  $b_{1C1}$  (14 días + pollo) con un valor de 20,50 presentó el nivel más alto y el valor menor fue  $b_{0C1}$  (7 días + pollo) con 2. En relación a Mohos y Levaduras el que contiene mayor cantidad es  $b_{1C2}$  (14 días + res) cuyo valor fue 56 y  $b_{1C1}$  (14 días + pollo) mostró el valor menor con 9,17. En cuanto al conteo de Bacterias Ácido Lácticas se contempló que el tratamiento  $b_{1C2}$  (14 días + res) con un valor de 100 presentó el nivel más alto, mientras que el valor menor fue  $b_{0C1}$  (7 días + pollo) con 15,50.

**4.1.3.13. Resultados respecto a la interacción AxBxC (Variedades de cacao + Tiempo de conservación + Tipos de carne) de los análisis físicos y químicos.**

**Gráfico 13.** Resultados de las diferencias de medias entre variedades de cacao, tiempo de conservación y tipos de carne de la prueba de significación Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- pH de la carne (DS); 2.- pH del mucílago (DS); 3.- Contenido de humedad (DS); 4.- Colorimetría espectro A (DS).

Factor AxBxC	pH carne	pH mucílago	Humedad (%)	Color *a
CCN-51 + 7 días + cerdo	4,66 AB	3,81 A	73,07 ABC	4,36 B
CCN-51 + 7 días + pollo	4,57 A	3,88 AB	73,63 BC	2,37 A
CCN-51 + 7 días + res	4,76 BC	4,01 BCD	69,53 AB	4,91 BC
CCN-51 + 14 días + cerdo	4,80 BC	4,04 CD	71,37 ABC	5,59 BC
CCN-51 + 14 días + pollo	4,88 CD	4,23 E	73,63 BC	0,83 A
CCN-51 + 14 días + res	4,64 CD	4,10 DE	71,30 ABC	5,57 BC
Nacional + 7 días + cerdo	4,92 CD	3,91 ABC	66 A	4,83 B
Nacional + 7 días + pollo	5,03 D	3,81 A	72,63 ABC	6,64 CD
Nacional + 7 días + res	4,64 AB	3,91 ABC	73,43 ABC	7,44 D
Nacional + 14 días + cerdo	4,92 CD	4,43 F	75,50 BC	2,56 A
Nacional + 14 días + pollo	4,82 BC	4,58 G	72,07 C	1,39 A
Nacional + 14 días + res	4,82 BC	4,51 FG	75,47 BC	9,97 B

**Elaborado por:** Autores.

En el Gráfico 13, el pH de la carne que señaló mayor valor es  $a_1b_0c_1$  (Nacional + 7 días + pollo) con 5,03 y por  $a_0b_0c_1$  (CCN-51 + 7 días + pollo) obtuvo el resultado menor de pH con 4,57. En el pH del mucílago, el que expuso el valor elevado es  $a_1b_1c_1$  (Nacional + 14 días + pollo) con 4,58 mientras tanto  $a_0b_0c_0$  (CCN-51 + 7 días + cerdo) y  $a_1b_0c_1$  (Nacional + 7 días + pollo) obtuvieron el resultado menor de pH con 3,81. En el contenido de humedad,  $a_1b_1c_1$  (Nacional + 14 días + pollo) con 77,20% obtuvo el valor mayor y  $a_1b_0c_0$  (Nacional + 7 días + cerdo) obtuvo el resultado menor 66%. En Colorimetría espectro A

se observó que el tratamiento  $a_1b_1c_2$  (Nacional + 14 días + res) ostentó un mayor espacio de color con 7,97 y  $a_0b_1c_1$  (CCN-51 + 14 días + pollo) obtuvo el resultado menor 0,83.

#### 4.1.3.14. Resultados respecto a la interacción $A \times B \times C$ (Variedades de cacao + Tiempo de conservación + Tipos de carne) de los análisis microbiológicos.

**Gráfico 14.** Resultados de las diferencias de medias entre variedades de cacao, tiempo de conservación y tipos de carne mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). 1.- Coliformes (DS); 2.- Mohos y levaduras (DS); 3.- Bacterias Ácido Lácticas (DS).

Factor $A \times B \times C$	Coliformes (UFC)	Mohos y levaduras (UFC)	BAL (UFC)
CCN-51 + 7 días + cerdo	3,67 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	33,33 <sup>CD</sup>
CCN-51 + 7 días + pollo	1,33 <sup>A</sup>	7 <sup>AB</sup>	8,67 <sup>A</sup>
CCN-51 + 7 días + res	2,67 <sup>A</sup>	24,67 <sup>BC</sup>	100 <sup>G</sup>
CCN-51 + 14 días + cerdo	29,67 <sup>B</sup>	26 <sup>BC</sup>	96,67 <sup>G</sup>
CCN-51 + 14 días + pollo	35,67 <sup>B</sup>	2,67 <sup>A</sup>	45 <sup>DE</sup>
CCN-51 + 14 días + res	0,33 <sup>A</sup>	12 <sup>ABC</sup>	100 <sup>G</sup>
Nacional + 7 días + cerdo	6 <sup>A</sup>	100 <sup>D</sup>	76,33 <sup>F</sup>
Nacional + 7 días + pollo	2,67 <sup>A</sup>	23,67 <sup>BC</sup>	22,33 <sup>BC</sup>
Nacional + 7 días + res	2 <sup>A</sup>	0 <sup>A</sup>	93,33 <sup>G</sup>
Nacional + 14 días + cerdo	4,67 <sup>A</sup>	30 <sup>C</sup>	47,67 <sup>E</sup>
Nacional + 14 días + pollo	5,33 <sup>A</sup>	15,67 <sup>ABC</sup>	17,67 <sup>AB</sup>
Nacional + 14 días + res	5,33 <sup>A</sup>	100 <sup>D</sup>	100 <sup>G</sup>

**Elaborado por:** Autores.

En el Gráfico 14 se muestran los resultados respecto al conteo de Coliformes, se observó que  $a_0b_1c_1$  (CCN-51 + 14 días + pollo) con un valor de 35,67 presentó el nivel más alto, en tanto  $a_0b_1c_2$  (CCN-51 + 14 días + res) obtuvo el resultado menor 0,33. En torno a Mohos y Levaduras los tratamientos que contiene mayor cantidad son  $a_1b_0c_0$  (Nacional + 7 días + cerdo) y  $a_1b_1c_2$  (Nacional + 14 días + res) cuyo valor fue 100, mientras tanto el resultado menor lo aportaron los tratamientos  $a_0b_0c_0$  (CCN-51 + 7 días + cerdo) y  $a_1b_0c_2$  (Nacional + 7 días + res) con 0.

En las Bacterias Ácido Lácticas se contempló que a0b0c2 (CCN-51 + 7 días + res), a0b1c2 (CCN-51 + 14 días + res) y a1b1c2 (Nacional + 14 días + res) con un valor de 100 resultó el nivel más alto y a0b0c1 (CCN-51 + 7 días + pollo) obtuvo el resultado menor 8,67.

#### 4.1.4. Resultado con respecto a las muestras de control.

**Tabla 7.** Resultados de los análisis microbiológicos a los tratamientos de control.

Tiempo de conservación	Tipos de carnes	Coliformes totales.	Mohos y Levaduras	Ácido lácticas
7 días	Cerdo	MNPC	MNPC	56
7 días	Pollo	MNPC	MNPC	MNPC
7 días	Res	MNPC	MNPC	MNPC
14 días	Cerdo	MNPC	MNPC	72
14 días	Pollo	MNPC	MNPC	MNPC
14 días	Res	MNPC	MNPC	MNPC

MNPC = Muy Numerosos Para Contar.

**Elaborado por:** Autores.

En la Tabla 7 se describe los datos obtenidos de los factores de estudios, Factor A (Mucílago: CCN-51 y Nacional), Factor B (Tiempo de conservación: 7 días y 14 días) y Factor C (Tipos de carne: Cerdo, Pollo y Res) dando como resultado que presenta contaminación por microorganismos de Coliformes totales, Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido lácticas en todos sus tratamientos.

## 4.2. Discusión.

### 4.2.1. Discusión de resultados.

#### 4.2.1.1. Respecto a la interacción AxBxC (Variedades de cacao, Tiempo de conservación y Tipos de carnes) de los parámetros físicos y químicos.

**Tabla 8.** Parámetros físico-químicos (pH carnes, pH mucílago, Acidez %, Contenido de Humedad %, Capacidad de Retención de Agua %, Textura, L\*, a\* y b\*) P<0.05.

AxBxC (Variedades de mucílago, Tiempo de conservación y Tipos de carne)												
Parámetros	C7C	C7P	C7R	C14C	C14P	C14R	N7C	N7P	N7R	N14C	N14P	N14R
pH carne	4,66 <sup>AB</sup>	4,57 <sup>A</sup>	4,76 <sup>BC</sup>	4,80 <sup>BC</sup>	4,88 <sup>CD</sup>	4,64 <sup>CD</sup>	4,92 <sup>CD</sup>	5,03 <sup>D</sup>	4,64 <sup>AB</sup>	4,92 <sup>CD</sup>	4,82 <sup>BC</sup>	4,82 <sup>BC</sup>
pH mucílago	3,81 <sup>A</sup>	3,88 <sup>AB</sup>	4,01 <sup>BCD</sup>	4,04 <sup>CD</sup>	4,23 <sup>E</sup>	4,10 <sup>DE</sup>	3,91 <sup>ABC</sup>	3,81 <sup>A</sup>	3,91 <sup>ABC</sup>	4,43 <sup>F</sup>	4,58 <sup>G</sup>	4,51 <sup>FG</sup>
Acidez%	0,16 <sup>AB</sup>	0,15 <sup>AB</sup>	0,18 <sup>B</sup>	0,15 <sup>AB</sup>	0,14 <sup>AB</sup>	0,15 <sup>AB</sup>	0,12 <sup>A</sup>	0,15 <sup>AB</sup>	0,13 <sup>A</sup>	0,14 <sup>AB</sup>	0,15 <sup>AB</sup>	0,13 <sup>A</sup>
Humedad%	73,07 <sup>ABC</sup>	73,63 <sup>BC</sup>	69,53 <sup>AB</sup>	71,37 <sup>ABC</sup>	73,63 <sup>BC</sup>	71,30 <sup>ABC</sup>	66 <sup>A</sup>	72,63 <sup>ABC</sup>	73,43 <sup>ABC</sup>	75,50 <sup>BC</sup>	72,07 <sup>C</sup>	75,47 <sup>BC</sup>
CRA%	18,21 <sup>A</sup>	17,39 <sup>A</sup>	17,53 <sup>A</sup>	15,62 <sup>A</sup>	16,57 <sup>A</sup>	13,91 <sup>A</sup>	21,72 <sup>A</sup>	10,65 <sup>A</sup>	13,65 <sup>A</sup>	17,66 <sup>A</sup>	17,19 <sup>A</sup>	13,26 <sup>A</sup>
Textura	1,02 <sup>A</sup>	0,92 <sup>A</sup>	1,34 <sup>A</sup>	1,34 <sup>A</sup>	1,52 <sup>A</sup>	0,84 <sup>A</sup>	1,11 <sup>A</sup>	2,06 <sup>A</sup>	1,48 <sup>A</sup>	1,41 <sup>A</sup>	1,35 <sup>A</sup>	0,89 <sup>A</sup>
L*	49,38 <sup>C</sup>	59,32 <sup>DE</sup>	50,91 <sup>C</sup>	58,62 <sup>DE</sup>	53,54 <sup>CD</sup>	43,21 <sup>B</sup>	58,62 <sup>DE</sup>	53,54 <sup>CD</sup>	43,21 <sup>B</sup>	62,06 <sup>E</sup>	60 <sup>E</sup>	33,94 <sup>A</sup>
a*	4,36 <sup>B</sup>	2,37 <sup>A</sup>	4,91 <sup>BC</sup>	5,59 <sup>BC</sup>	0,83 <sup>A</sup>	5,57 <sup>BC</sup>	4,83 <sup>B</sup>	6,64 <sup>CD</sup>	7,44 <sup>D</sup>	2,56 <sup>A</sup>	1,39 <sup>A</sup>	9,97 <sup>B</sup>
b*	8,79 <sup>A</sup>	16,88 <sup>D</sup>	9,78 <sup>AB</sup>	12,44 <sup>BC</sup>	23,35 <sup>E</sup>	8,47 <sup>A</sup>	10,13 <sup>ABC</sup>	17,56 <sup>D</sup>	12,72 <sup>C</sup>	12,67 <sup>C</sup>	21,75 <sup>E</sup>	7,94 <sup>A</sup>

C7C= CCN-51+7 días + cerdo, C7P= CCN-51+7 días + pollo, C7R= CCN-51+7 días + res, C14C= CCN-51+14 días + cerdo, C14P= CCN-51+14 días + pollo, C14R= CCN-51+14 días + res, N7C= Nacional+7 días + cerdo, N7P= Nacional+7 días + pollo, N7R= Nacional+7 días + res, N14C= Nacional+14 días + cerdo, N14P= Nacional+14 días + pollo y N14R= Nacional+14 días + res.

Elaborado por: Autores.

En los resultados del pH de la carne se obtuvo el mayor valor 5,03 para (a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>) (Nacional, 7 días y pollo) y el valor menor 4,57 para (a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>) (CCN-51, 7 días y pollo) estos resultados son inferiores a (5,48 a 5,58) reportados por Perlo *et al.*(2020) [81] en su estudio uso de extracto de romero y ácido ascórbico en la conservación refrigerada de carne de cerdo, esto debido a los antioxidantes que aplica el investigador, por lo cual no existió mayor reducción en los valores de pH.

De acuerdo a la norma INEN [33], NTE 2346 Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos, el valor del pH para carne debe ser menor a 7 y mayor a 5,5; estos valores son superiores a los reportados (4,57 a 5,03), debido a la acción de las

Bacterias Ácido Lácticas que consumen el glucógeno de la carne y producen ácido láctico, reduciendo los valores de pH.

En el pH del mucílago se halló el mayor valor en 4,58 ( $a_1b_1c_1$ ) (Nacional, 14 días y pollo) y el valor inferior 3,81 para ( $a_0b_0c_0$ ) (CCN-51, 7 días y cerdo) y ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo) estos son superiores a los valores (3,0 a 3,5) reportado por Amorim *et al.* (2017) [82] en su investigación Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao L.*) PH-16 en la región cacaotera de Bahía, Brasil, esto debido al tiempo de fermentación de los granos de cacao (168 horas).

De acuerdo con la acidez se observó el valor máximo valor de 0,18% en ( $a_0b_0c_2$ ) (CCN-51, 7 días y res), mientras el valor mínimo se presenta ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo) con 0,12%, cuyos datos no están en los parámetros de León, Orduz y Velandia. (2017) [52] cuyos valores van de 0,15% a 0,17% en su investigación composición físico química de la carne de ovejo, pollo, res y cerdo; pero los tratamientos ( $a_0b_1c_0$ ) (CCN-51, 14 días y cerdo), ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo), ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo), ( $a_0b_0c_1$ ) (CCN-51, 7 días y pollo), ( $a_1b_1c_1$ ) (Nacional, 14 días y pollo) y ( $a_0b_1c_2$ ) (CCN-51, 14 días y res) con un valor de 0.15%, si están dentro de los parámetros, también el tratamiento ( $a_0b_0c_0$ ) (CCN-51, 7 días y cerdo) con un porcentaje de acidez de 0,16%.

Con respecto al contenido de humedad se estableció que el tratamiento mayor es ( $a_1b_1c_1$ ) (Nacional, 14 días y pollo) con el valor de 77,20% y los tratamientos con valores menores son ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo) con 66% y ( $a_0b_0c_2$ ) (CCN-51, 7 días y res) con 69,53%; los mismos que están entre los rangos (71% a 77%) reportados por Rodríguez *et al.* (2020) [83] en su estudio análisis de polimorfismos en los genes SOX6 y Ryr1 y su relación con la calidad de carne de cerdo, exceptuando a los tratamientos ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo) y ( $a_0b_0c_2$ ) (CCN-51, 7 días y res) que reportaron valores mínimos.

La Capacidad de Retención de Agua presentó una cantidad superior 21,72% en el tratamiento ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo), el valor mínimo se encuentra en el tratamiento ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo) con 10,65%; estos valores están en los parámetros (12% a 23%) reportados por León, Orduz y Velandia. (2017) [52], esto quiere decir que la carne de pollo conservada 7 días con mucílago de cacao Nacional ( $a_1b_0c_1$ )

tiene mayor capacidad para ligar su propia agua, según su trabajo, composición fisicoquímica de la carne de ovejo, pollo, res y cerdo.

En lo referente a Textura se obtuvo el valor mayor en el tratamiento ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo) con 2,06 N y el valor menor lo posee el tratamiento ( $a_0b_1c_2$ ) (CCN-51, 14 días y res) con 0,84 N. De los cuales los tratamientos ( $a_0b_1c_2$ ) (CCN-51, 14 días y res) con 0,84 N; ( $a_1b_1c_2$ ) (Nacional, 14 días y res) con 0,89 N; ( $a_0b_0c_1$ ) (CCN-51, 7 días y pollo) con 0,92 N; ( $a_0b_0c_0$ ) (CCN-51, 7 días y cerdo) con 1,02 N y ( $a_1b_0c_0$ ) (Nacional, 7 días y cerdo) con 1,11 N; están dentro de los rangos (0,68N a 1,1N) reportados por U-Chupaj *et al.* (2017) [84] en su trabajo de investigación differences in textural properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat.

De acuerdo a los datos obtenidos en el espectro de color  $L^*$  se encontró el valor mayor en ( $a_0b_1c_1$ ) (CCN-51, 14 días y pollo) con 64,15 y el valor menor en ( $a_1b_1c_2$ ) (Nacional, 14 días y res) con 33,94. Según los resultados obtenidos (49 a 56) por Velasco *et al.* (2017) [85] los tratamientos que se encuentran dentro del rango son: ( $a_0b_0c_0$ ) (CCN-51, 7 días y cerdo) con 49,38; ( $a_0b_0c_2$ ) (CCN-51, 7 días y res) con 50,91; ( $a_0b_1c_0$ ) (CCN-51, 14 días y cerdo) con el valor de 51,32 y por último el tratamiento ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo) con un valor de 53,54.

Estos valores indican que se puede considerar a la carne de luminosidad clara, lo que estaría relacionado con su baja cantidad de pigmento muscular (mioglobina) y su mayor cantidad de agua, como lo indica Alberti (2016) [86] en su investigación Clasificación objetiva del color de la carne de las denominaciones de venta de vacuno.

En el espectro de color  $a^*$  los datos arrojan que el valor mayor se encuentra en el tratamiento ( $a_1b_1c_2$ ) (Nacional, 14 días y res) con un valor de 7,97 y el valor menor se encuentra en el tratamiento ( $a_0b_1c_1$ ) (CCN-51, 14 días y pollo) con 0,83. Según la investigación de Velasco *et al.* (2018) [87] Parámetros de calidad de carne de pollos broiler alimentados con vinaza de achicoria (*Cichorium intybus*), reporta resultados de 5 a 8, los tratamientos ( $a_0b_1c_2$ ) (CCN-51, 14 días y res) con 5,57; ( $a_0b_1c_0$ ) (CCN-51, 14 días y cerdo) con 5,59; ( $a_1b_0c_1$ ) (Nacional, 7 días y pollo) con 6,64; ( $a_1b_0c_2$ ) (Nacional, 7 días y res) con 7,44 y ( $a_1b_1c_2$ ) (Nacional, 14 días y res) con un valor de 7,97 son los que se encuentran dentro del rango.

En relación al espectro de color b\* los tratamientos (a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>) (Nacional, 7 días y cerdo) con un valor de 10,13; (a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>) (CCN-51, 14 días y cerdo) con 12,44; (a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub>) (Nacional, 14 días y cerdo) con 12,67; (a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub>) (Nacional, 7 días y res) con 12,72; (a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>) (CCN-51, 7 días y pollo) con 16,88 y (a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>) (Nacional, 7 días y pollo) con un valor de 17,56 se encuentran dentro de los rangos reportados (10 a 19) por Velasco *et al.* (2018) [87] en su trabajo Parámetros de calidad de carne de pollos broiler.

#### 4.2.1.2. Respecto a la interacción AxBxC (Variedades de cacao, Tiempo de conservación y Tipos de carnes) de los parámetros microbiológicos.

**Tabla 9.** Parámetros microbiológicos (Coliformes, Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido Lácticas) expresados en notación científica (\*10<sup>1</sup>) P<0.05.

Medias de la interacción AxBxC (Variedades de mucilago, Tiempo de conservación y Tipos de carne) *10 <sup>1</sup>												
UFC/g												
Parámetros	C7C	C7P	C7R	C14C	C14P	C14R	N7C	N7P	N7R	N14C	N14P	N14R
Coliformes	0,3 <sup>A</sup>	0,1 <sup>A</sup>	0,2 <sup>A</sup>	2,9 <sup>B</sup>	3,5 <sup>B</sup>	0,1 <sup>A</sup>	0,6 <sup>A</sup>	0,2 <sup>A</sup>	0,2 <sup>A</sup>	0,4 <sup>A</sup>	0,5 <sup>A</sup>	0,5 <sup>A</sup>
Mohos y Levaduras	0 <sup>A</sup>	0,7 <sup>AB</sup>	2,4 <sup>BC</sup>	2,6 <sup>BC</sup>	0,2 <sup>A</sup>	1,2 <sup>ABC</sup>	10 <sup>D</sup>	2,3 <sup>BC</sup>	0 <sup>A</sup>	3 <sup>C</sup>	1,5 <sup>ABC</sup>	10 <sup>D</sup>
BAL	3,3 <sup>CD</sup>	0,8 <sup>A</sup>	10 <sup>G</sup>	9,6 <sup>G</sup>	4,5 <sup>DE</sup>	10 <sup>G</sup>	7,6 <sup>F</sup>	2,2 <sup>BC</sup>	9,3 <sup>G</sup>	4,7 <sup>E</sup>	1,7 <sup>AB</sup>	10 <sup>G</sup>

**C7C**= CCN-51+7 días + cerdo, **C7P**= CCN-51+7 días + pollo, **C7R**= CCN-51+7 días + res, **C14C**= CCN-51+14 días + cerdo, **C14P**= CCN-51+14 días + pollo, **C14R**= CCN-51+14 días + res, **N7C**= Nacional+7 días + cerdo, **N7P**= Nacional+7 días + pollo, **N7R**= Nacional+7 días + res, **N14C**= Nacional+14 días + cerdo, **N14P**= Nacional+14 días + pollo y **N14R**= Nacional+14 días + res.

**Elaborado por:** Autores.

Con respecto a Coliformes, Graciano *et al.* (2017) [88] en su investigación efecto antimicrobiano de aditivos naturales en carne de cerdo cruda obtuvo un conteo de 1,15 log<sub>10</sub> UFC/g a 4,67 log<sub>10</sub> UFC/g, el aumento puede deberse a la concentración de los antimicrobianos, a mayor concentración impartía un sabor intenso en la carne. Cabral *et al.* (2021) [89] exhibió resultados de 4,33 log<sub>10</sub> UFC g<sup>-1</sup> en su trabajo de calidad de física y microbiológica en cortes de carne de pollo, indican que es debido a falencias en proceso de eviscerado manual y/o una contaminación cruzada.

La norma INEN [67] NTE INEN 1346 establece los parámetros aptos de presencia de Coliformes para consumo humano se encuentran entre 1,0 x 10<sup>1</sup> a 1,0 x 10<sup>2</sup>; esto significa

que los resultados obtenidos de todos los tratamientos, se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la norma INEN.

De acuerdo a los datos obtenidos en el conteo de mohos y levaduras, se observó que los tratamientos (a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub>) (Nacional, 7 días y cerdo) y (a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>) (Nacional, 14 días y res) con un valor de 10 x 10<sup>2</sup> UFC/g están fuera de los parámetros (2,9 x 10<sup>1</sup> UFC/g) reportados por Cavus *et al.* (2018) [90]; y se encuentran al límite máximo permitido por Codex Alimentarius Turco [91], los demás tratamientos si se encuentran dentro de los rangos de la norma Turca. La presencia de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) se debe a que están presentes en el mucílago de cacao como lo explican Delgado *et al.* (2018) [92].

En lo referente a la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL) se observó el menor valor en el tratamiento (a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub>) (CCN-51, 7 días y pollo) con 0,8 x 10<sup>1</sup> UFC/g y el mayor valor en los tratamientos (a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub>) (CCN-51, 7 días y res), (a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>) (CCN-51, 14 días y res) y (a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub>) (Nacional, 14 días y res) con 10 x 10<sup>1</sup> UFC/g cada tratamiento, Giannina *et al.* (2018) [93] reportan en su investigación valores de 2,7 log<sub>10</sub> UFC/g hasta por encima de 7 log<sub>10</sub> UFC/g de BAL,

Mientras que Saucedo *et al.* (2017) [94] presentan resultados superiores a 6 log<sub>10</sub> UFC/g de BAL a partir del día 12 de la aplicación, en su investigación de efecto de las bacterias lácticas sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales en batidos cárnicos cocidos, y explica también que por el efecto bacteriostático (la bacteria se muere sin reproducirse) no se reproducen los microorganismos patógenos.

#### 4.2.1.3. Respecto a los tratamientos de control (Tiempo de conservación y tipos de carnes) de los parámetros microbiológicos.

**Tabla 10.** Parámetros microbiológicos (Coliformes, Mohos, Levaduras y Bacterias Ácido Lácticas) de los tratamientos de control expresados en notación científica (\*10<sup>1</sup>) P<0.05.

<b>Resultado de los tratamientos de control (Tiempo de conservación y Tipos de carne) *10<sup>1</sup> UFC/g</b>						
<b>Parámetros</b>	<b>7C</b>	<b>7P</b>	<b>7R</b>	<b>14C</b>	<b>14P</b>	<b>14R</b>
Coliformes	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
Mohos y Levaduras	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC	MNPC
BAL	5,6	MNPC	MNPC	7,2	MNPC	MNPC

**7C**= 7 días + cerdo, **7P**= 7 días + pollo, **7R**= 7 días + res, **14C**= 14 días + cerdo, **14P**= 14 días + pollo, **14R**= 14 días + res.

**MNPC** = Muy Numerosos Para Contar.

**Elaborado por:** Autores.

En relación a Coliformes en los tratamientos de control (sin mucílago) se observó que la carga de colonias es muy elevada que se dificulta el conteo, por lo que teniendo en cuenta la guía de conteo para placas Petrifilm [95] recuento de Coliformes se aplicó el termino MNPC (Muy Numerosos Para Contar). Saucedo *et al.* (2017) [94] reporto resultados de más de 7 log<sub>10</sub> UFC/g en el tratamiento que no contiene bacterias ácido lácticas.

Para Mohos y Levaduras los resultados son similares a los de Coliformes, la carga microbiana es elevada por lo que se dificulta el conteo de las mismas, superando por mucho al al límite máximo permitido por Codex Alimentarius Turco [91] que es de 10 x 10<sup>2</sup> UFC/g.

Con relación a las bacterias ácido lácticas (BAL) los resultados obtenidos muestran que el tratamiento de control 7R (7 días y res) posee 5,6 x 10<sup>1</sup> UFC/g y el tratamiento de control 14C (7 días y res) contiene 7,2 x 10<sup>1</sup> UFC/g, Saucedo *et al.* (2017) [94] explica que es normal que se tengan BAL en el control, ya que es la microbiota natural de la carne fresca.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones.

- Dado el efecto de conservación de las dos variedades de mucílago estudiadas (Nacional y CCN-51) en la carne, se logró determinar que el tratamiento T<sub>4</sub> (CCN-51 + 14 días + Cerdo) obtuvo los mejores resultados, seguido de los tratamientos T<sub>1</sub> (CCN-51 + 7 días + Cerdo), T<sub>2</sub> (CCN-51 + 7 días + Pollo), T<sub>6</sub> (CCN-51 + 14 días + Res) y T<sub>8</sub> (Nacional + 7 días + Pollo), siendo el mucílago de cacao CCN-51, el que presenta mayor capacidad de bioconservación en la carne.
- La aplicación del mucílago de cacao de las dos variedades estudiadas, producen variaciones a partir de los 7 primeros días, observándose cambios en las características físicas, químicas y microbiológicas de los diferentes tipos de carnes en estudio (Cerdo, pollo y res), aumentando la capacidad de sus características al dejar en conservación durante 14 días.
- En vista a los resultados obtenidos mediante los respectivos análisis microbiológicos, existió un gran efecto de bioconservación con mucílago de cacao y refrigeración en la carne de cerdo, durante un tiempo de conservación de 14 días, sin alterar sus características sensoriales, incluso colabora en el ablandamiento de la carne de pollo y cerdo, en comparación a la conservación en refrigeración sin mucílago, se observó poca presencia de microorganismos patógenos en los tratamientos que poseen mucílago, debido a la acción de las bacterias ácido lácticas, que reducen la presencia de dichos microorganismos y aumentando el tiempo de vida útil de las carnes.

## **5.2. Recomendaciones.**

- Se puede utilizar cualquiera de los dos tipos de mucílago para la bioconservación siempre y cuando se aplique adecuadamente las concentraciones y como parte primordial se debe pasteurizar el mucílago para que actúe de mejor forma como conservante, ya que al no ser pasteurizado puede tener resultados negativos en la conservación de las carnes.
- Realizar un estudio más profundo de las propiedades del mucilago de cacao como conservante en diferentes tipos de carnes y/o productos terminados (embutidos de pasta fina y pasta gruesa).
- Aplicar 100 mL de mucilago de cacao en carnes para futuras investigaciones, debido a su efectividad en la bioconservación de carnes.

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## Bibliografía.

- [1] S. Barrezueta-Unda, E. Prado Carpio, y R. Jimbo Sarmiento, “Características Del Comercio De Cacao A Nivel Intermediario En La Provincia De El Oro-Ecuador”, *Eur. Sci. Journal, ESJ*, vol. 13, núm. 16, p. 273, jun. 2017.
- [2] P. Santana, J. Vera, C. Vallejo, y A. Alvarez, “Mucílago de cacao Nacional y Trinitario para la obtención de una bebida Hidratante”, *Univ. Cienc. y Tecnol.*, núm. 4, pp. 179–189, ene. 2018.
- [3] D. Y. Pacheco Uribe, “Obtención de una bebida alcohólica a partir del mucilago de cacao en finca del Urabá”, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD , Bogotá, 2020.
- [4] R. Bibek, “Biopreservatives and Biopreservation”, en *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, R. Bibek y M. Daeschel, Eds. Boca Raton : CRS Press, 2018.
- [5] A. Fernández Escobar y D. J. Alban Rodríguez, “Empleo de bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) para la conservación de la carne de res”, Quevedo : UTEQ, Quevedo, 2017.
- [6] N. Ramiro Villegas y A. del C. Castro Crespo, “Conservación de canales de pollo con aplicación de bacterias ácido lácticas provenientes del mucilago de cacao (*Theobroma cacao* L.)”, Quevedo: UTEQ, Quevedo, 2019.
- [7] S. E. López Medina, “Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) ‘cacao’”, *Arnaldoa*, vol. 24, núm. 2, pp. 609–618, dic. 2017.
- [8] M. G. Chamba León, “Estudio de pre-factibilidad para la instalación de una planta de producción de polvo y manteca de cacao en la ASPRO-Las Lomas-Piura. 2018”, Universidad Nacional de Piura, Piura, 2019.
- [9] A. Marcillo Plaza, T. Martínez Carriel, E. C. Ibarra, W. Baque Bustamante, y C. Soledispa Baque, “Fermentation of cocoa CCN-51, on the basis of three methods, in different times”, *Asia Pacific Stud.*, vol. 5, núm. 3, pp. 394–410, 2019.
- [10] G. J. Chávez Cruz, R. L. Olaya Cum, y J. V. Maza Iñiguez, “Costo de producción

- de cacao clonal ccn-51 en la Parroquia Bellamaria, Ecuador”, *Univ. y Soc.*, vol. 10, núm. 4, pp. 179–185, sep. 2018.
- [11] E. Vivanco Carpio, L. Matute Castro, y M. Campo Fernández, “Caracterización físico-química de la cascarilla de *Theobroma cacao* L, variedades Nacional y CCN-51 ”, *Conference Proceedings*, Machala, pp. 213–222, 2018.
- [12] Ministerio de Agricultura y Ganadería, “Cacao Híbrido CCN-51 cuenta con certificación de calidad – Ministerio de Agricultura y Ganadería”, 04-sep-2019. [En línea]. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.ec/cacao-hibrido-ccn-51-cuenta-con-certificacion-de-calidad/>. [Consultado: 09-jun-2021].
- [13] D. M. Pincay Figueroa, “Polifenoles y capacidad antioxidante en granos de cacao en función del genotipo y pisos altitudinales del cultivo en la zona 4”, Calceta: ESPAM MFL, Calceta, ago. 2019.
- [14] C. A. Mestanza Uquillas y J. C. Zambrano Cruz, “Relaciones filogenéticas entre tipos de cacao (*theobroma cacao* l.): forastero, trinitario y nacional, basadas en marcadores morfológicos y secuencias nucleotídicas de la región ITS; y su posible uso en la identificación de clones”, Quevedo : UTEQ, Quevedo, 2017.
- [15] G. M. Durán Salazar, V. B. Salazar Soledispa, y T. Meza Clark, “Estrategias de Trazabilidad para la exportación de cacao”, *Publicando*, vol. 3, núm. 8, pp. 375–389, 2016.
- [16] Anecacao - Asociación Nacional de Exportadores de Cacao - Ecuador, “Cacao Nacional ”, *Anecacao Ecuador*, 2015. [En línea]. Disponible en: <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>. [Consultado: 14-jun-2021].
- [17] S. T. Moreira Morán, “Caracterización del mucílago de caco (*Theobroma Cacao* L.) nacional y trinitario en el cantón Quevedo”, Quevedo-UTEQ, Quevedo, 2019.
- [18] C. A. Vallejo Torres, R. Díaz Ocampo, W. Morales Rodríguez, R. Soria Velasco, J. F. Vera Chang, y C. Baren Cedeño, “UTILIZACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CACAO, TIPO NACIONAL Y TRINITARIO, EN LA OBTENCIÓN DE JALEA

- PDF Descargar libre”, *ESPAMCIENCIA*, vol. 7, núm. 1, pp. 51–58, abr. 2016.

- [19] G. A. Rodríguez Zamora y F. G. Zambrano Flores, “Procesamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) como alternativa económica para los productores cacaoteros del Ecuador”, Guaranda. Universidad Estatal de Bolívar . Facultad de Ciencias Aropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente . Ingeniería Agronómica, Bolívar, 2019.
- [20] I. T. Macías Salazar, “Adición de mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) como inoculante en la elaboración de queso semiduro”, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, 2019.
- [21] A. E. Arana Analuisa y E. C. Rugel Jiménez, “Propuesta de aprovechamiento del desecho mucilago de cacao en la hacienda Santa Rita”, Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Administrativas, Guayaquil, 2017.
- [22] K. M. Granados Espinoza, “Conservación de mora (*Rubus glaucus*.) con la aplicación de bacterias +ácido lácticas provenientes del mucilago de cacao (*Theobroma cacao* L.)”, Quevedo: UTEQ, Quevedo, 2019.
- [23] K. S. Tapia Garcia, “Evaluación del mucílago y la placenta de dos variedades de cacap (*Theobroma cacao* L.) aplicando dos métodos conservantes en la obtención de mermelada.”, Quevedo : UTEQ, Quevedo, 2016.
- [24] G. A. Hinojosa Benites, “Análisis de la relación entre los costos de calidad y la cadena de valor de la carne expandida en mercados del norte de la ciudad de Guayaquil”, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Guayaquil, 2020.
- [25] FAO, “Carne y Productos Cárnicos”, *División de Producción y Sanidad Animal*, 15-mar-2019. [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>. [Consultado: 15-jun-2021].
- [26] C. Ayala Vargas, “Importancia nutricional de la carne”, *Inst. Investig. Agropecu. y Recur. Nat.*, vol. 5, pp. 54–61, nov. 2018.
- [27] INEC, “2018: Seis cultivos con mayor producción en Ecuador”, *Noticias*, 17-jul-

2019. [En línea]. Disponible en: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/2018-seis-cultivos-con-mayor-produccion-en-ecuador/>. [Consultado: 15-jun-2021].
- [28] J. S. Vela Viteri, “Análisis de competitividad de la cadena de la carne bovina en el Ecuador, periodo 2007-2014”, PUCE, Quito, 2016.
- [29] N. Uribe, C. Arango, J. Naranjo, A. Segura, y S. Henao, “Relación entre el transporte y las características nutricionales de la carne porcina para consumo humano en el valle de Aburrá (Colombia)”, *Fac. Med. Vet. y Zootec.*, vol. 64, núm. 3, pp. 22–35, 2017.
- [30] I. P. Muñoz Ron, S. E. Suárez Cedillo, A. F. Larrea Poveda, y J. Poma, “Diagnóstico de la producción, comercialización y consumo de productos porcinos en el cantón Sacha, Orellana ”, *Polo del Conoc.*, vol. 5, núm. 4, pp. 3–32, abr. 2020.
- [31] R. Tellez Delgado, J. S. Mora Flores, y M. Á. Martínez Damián, “Caracterización del consumidor de carne de pollo en la zona metropolitana del Valle de México”, *Estud. Soc.*, vol. 26, núm. 48, pp. 193–209, abr. 2016.
- [32] X. Guerra, “Consejos de la nutricionista: ¿Por qué consumir carne de pollo?”, *El Universo*, Guayaquil, 27-sep-2020.
- [33] Servicio Ecuatoriano de Normalización, “Carne y menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos. NTE INEN 2346”, Quito, dic. 2016.
- [34] I. Y. Peregrino Peña, H. H. Pérez Villarreal, Y. Mayett Moreno, y E. Arvizu Barrón, “Factores que influyen en la calidad y decisión de compra de carne res en Chiapas, México”, *Nacameh*, vol. 12, núm. 1, pp. 1–14, feb. 2018.
- [35] C. P. Vera Calderón y L. J. Vilela Velásquez, “Análisis bacteriológico (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp) en carne bovina procedente de matadero municipal para consumo humano”, Calceta: ESPAM MFL, Calceta, 2021.
- [36] C. Valenzuela V. y P. Pérez M., “Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos

- cárneos”, *Rev. Chil. Nutr.*, vol. 43, núm. 2, pp. 188–195, jun. 2016.
- [37] Y. H. Bermúdez Demera y J. C. López Pin, “Diagnóstico de la calidad de carne de res que se expende en la Ciudad de Calceta”, Calceta: ESPAM, Calceta, 2018.
- [38] E. A. Salazar Sánchez, “Efecto de la oleorresina de *Capsicum chinense* ‘ají panca’ sobre el desarrollo microbiano en carne de res empacada al vacío y almacenada en refrigeración”, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2017.
- [39] I. M. Salvatierra Marchant, “Manual de conservación de alimentos”, Arica, 2019.
- [40] M. Torrenegra Alarcon, C. Granados Conde, G. Leon Mendez, Y. Arrieta Pineda, O. Villalobos Lagares, y E. Castellar Abello, “PASTEURIZACIÓN MEDIANTE MICROONDAS UNA NOVEDOSA ALTERNATIVA A LOS PROCESOS TRADICIONALES”, @limentech, *Cienc. y Tecnol. Aliment.*, vol. 17, núm. 1, pp. 94–105, jul. 2020.
- [41] J. L. Bersoja Condolo y O. E. Merino Piedra, “Diseñar y construir un prototipo de cámara fría para la conservación de carne de cuyes y conejos”, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, 2018.
- [42] A. D. Caiza Iza, “Guía de procedimientos sobre el uso correcto de técnicas de conservación y manipulación para productos cárnicos que se expenden en el mercado Santa Clara. Quito- Ecuador”, Universidad Iberoamericana del Ecuador, Quito, 2020.
- [43] M. H. Flores Hinojosa, “EFECTO DEL USO DE DOS ACIDIFICANTES EN AGUA PARA MINIMIZAR LA CARGA BACTERIANA EN POLLO PARRILLERO EN LA ZONA DE COTAPACHI- QUILLACOLLO”, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, 2020.
- [44] C. Barcenilla Canduela, “Estrategias innovadoras de bioconservación en la industria alimentaria”, Universidad de Valladolid , Palencia, 2019.
- [45] P. Heredia Castro, A. Hernández Mendoza, A. González Córdoba, y B. Vallejo Cordoba, “Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas: mecanismos de acción y actividad antimicrobiana contra patógenos en quesos”, *Interciencia*, vol. 42, núm.

6, pp. 340–346, jun. 2017.

- [46] E. Zárate Sarapura, “Modelamiento de la Bioconservación de la Hamburguesa de carne por productos orgánicos de bacterias Ácido Lácticas Homofermentativas”, Universidad Nacional del Callao-Bellavista-Callao, Callao, 2020.
- [47] S. Hernández Aquino, “Bacterias ácido lácticas como bioconservante de carne bovina”, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, 2019.
- [48] FDA, “What does FDA do? ”, *FDA Basics*, 28-mar-2018. [En línea]. Disponible en: <https://www.fda.gov/about-fda/fda-basics/what-does-fda-do>. [Consultado: 19-jun-2021].
- [49] FDA, “Generally Recognized as Safe (GRAS) ”, *Generally Recognized as Safe (GRAS)*, 09-jun-2019. [En línea]. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>. [Consultado: 19-jun-2021].
- [50] D. S. Peña Gallegos, “Valorar la influencia del tiempo y tipo de transporte en factores de calidad cárnica porcina en la empresa pública de rastro de Santo Domingo”, Quito: Universidad de las Américas, 2019, Quito, 2019.
- [51] E. Yucra Mamani, “Efecto del nivel de estrés durante el ante mortem del cuy (*Cavia porcellus* L.) en el proceso de congelación”, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, 2020.
- [52] M. León, A. Orduz, y M. Velandia, “COMPOSICIÓN FISICOQUIMICA DE LA CARNE DE OVEJO, POLLO, RES Y CERDO”, @limentech, *Cienc. y Tecnol. Aliment.*, vol. 15, núm. 2, p. 75, oct. 2018.
- [53] R. M. Cutz Cruz, “CALIDAD DE LA CARNE DE GUAJOLOTES Meleagris gallopavo ALIMENTADOS CON *Trichanthera gigantea* TESIS Que presenta”, Instituto Tecnológico de Conkal , Yucatán, 2020.
- [54] R. N. Yanapa Sanga, “Oxidación lipídica de la carne de vacuno (*Bos taurus*) procesada mediante la tecnología SOUS VIDE”, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, 2020.

- [55] J. Godoy Astelarra, “Ablandamiento de carne de cefalópodo (*Todarodes sagittatus*) mediante papaína. Efecto del tratamiento de cocción”, Universitat Politècnica de València, Valencia, 2020.
- [56] M. Díaz Pobo, “Estudio y caracterización del pre-tratamiento enzimático con papaína en la textura de carne de cerdo. Efecto del tratamiento térmico”, Universitat Politècnica de València, València, 2020.
- [57] E. E. Aucapiña Lituma y K. P. Guamarriga Chicaiza, “Control microbiológico del servicio de catering de la fábrica Plastiazuay en la ciudad de Cuenca”, Universidad de Cuenca, Cuenca, 2021.
- [58] R. A. Rodríguez Ruíz, “Evaluación de Coliformes totales y *Escherichia coli* en superficies de contacto, *Salmonella* sp. en carne de res, en el primer y tercer trimestre del 2018, establecimiento #2. Managua, Nicaragua”, Universidad Nacional Agraria, Managua, 2020.
- [59] Organización Mundial de la Salud, “E. coli”, OMS, 07-feb-2018. [En línea]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>. [Consultado: 23-jun-2021].
- [60] Y. B. Brito Cuichán, “Evaluación de la resistencia microbiana de *Escherichia coli* y *Escherichia coli* O157:H7 en carne de res faenada en Quito-Ecuador”, Quito: UCE, Quito, 2019.
- [61] D. K. Bobadilla Quiroz, “PRESENCIA DE MOHOS PATÓGENOS EN QUESOS FRESCOS AL GRANEL QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO DE TRANSFERENCIA DE VIVERES EN EL SECTOR MONTEBELLO”, Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, 2020.
- [62] C. Suárez Machín, N. A. Garrido Carralero, y C. A. Guevara Rodríguez, “Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica”, *ICIDCA. Sobre los Deriv. la Caña Azúcar*, vol. 50, núm. 1, pp. 20–28, 2016.
- [63] D. A. Velasco Briceño, “Bioconservantes en productos cárnicos :implicaciones frente a los principales referentes regulatorios en *Listeria monocytogenes*”,

Elsevier Ltd, La Sabana , 2018.

- [64] M. del C. López Aguayo, “Aplicación de bacteriocinas para la bioprotección de alimentos”, Universidad de Jaén, Jaén, 2017.
- [65] AOAC, “Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. AOAC 16.247”, Arlington, 1990.
- [66] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS. NTE INEN 767:2013”, Quito, 2013.
- [67] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. CARNE MOLIDA. REQUISITOS. NTE INEN 1346”, Quito, 2015.
- [68] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS-DETERMINACIÓN DE HUMEDAD. NTE INEN-ISO 1442”, Quito, 2013.
- [69] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS. NTE INEN 1529-1”, Quito , 2013.
- [70] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETECCIÓN Y RECuento DE ESCHERICHIA COLI PRESUNTIVA POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE. NTE INEN 1529-8”, Quito, sep. 2016.
- [71] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVAURAS VIABLES. DETECCIÓN. NTE INEN 1529-11”, Quito , sep. 2013.
- [72] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE pH (IDT). NTE INEN-ISO 1842:2013”, Quito, 2013.
- [73] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “ADITIVOS ALIMENTARIOS

PERMITIDOS PARA CONSUMO HUMANO. LISTAS POSITIVAS. REQUISITOS. NTE INEN 2074-2012”, Quito, ene. 2012.

- [74] Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), “CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS-MEDICIÓN DE pH-MÉTODO DE REFERENCIA (IDT) NTE INEN-ISO 2917:2013 ”, Quito, 2013.
- [75] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), “NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS. CODEX STAN 192-1995”, Roma, 2019.
- [76] ISO, “Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees C. ISO 15214:1998”, Londres, ago. 1998.
- [77] L. I. Rengifo Gonzales y E. Ordóñez Gómez, “Efecto de la temperatura en la capacidad de retención de agua y pH en carne de res, cerdo, pollo, ovino, conejo y pescado paco”, *ECIPeru*, vol. 7, núm. 2, pp. 77–85, ene. 2019.
- [78] American Meat Science Association, *AMSA Meat Color Measurement Guidelines*. Champaign, 2012.
- [79] J. Á. Coronado Martín, “La Medición del Color”, en *El Color. Medición y Aplicaciones*, J. Á. Coronado Martín, Ed. Ibarra: Universidad Técnica del Norte UTN, 2020, pp. 40–54.
- [80] A. A. Encalada Peláez, “Efecto del tiempo y temperatura de cocción de la carne sobre los resultados de dureza de la prueba de warner bratzler”, Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, oct. 2019.
- [81] F. M. Perlo, R. Fabre, P. Bonato, C. Jenko, O. Tisocco, y G. Teira, “Uso de extracto de romero y ácido ascórbico en la conservación refrigerada de carne de cerdo”, *Ciencia, Docencia y Tecnol.*, vol. 31, núm. 60 may-oct, pp. 208–277, may 2020.
- [82] G. Amorim Homem de Abreu Loureiro, Q. Reis de Araujo, R. René Valle, y S. M. Moreira de Souza, “Influencia de factores agroambientales sobre la calidad del clon de cacao (*Theobroma cacao* L.) PH-16 en la región cacaotera de Bahia,

- Brasil”, *Ecosistemas y Recur. Agropecu.*, vol. 4, núm. 12, pp. 579–587, 2017.
- [83] V. R. Rodríguez, J. I. Maffioly, F. M. A. Martínez, C. Jenko, R. Fabre, y M. Lagadari, “Análisis de polimorfismos en los genes SOX6 y Ryr1 y su relación con la calidad de carne de cerdo”, *Ciencia, Docencia y Tecnol.*, vol. 31, núm. 60, pp. 228–244, may 2020.
- [84] J. U-Chupaj *et al.*, “Differences in textural properties of cooked caponized and broiler chicken breast meat”, *Poult. Sci.*, vol. 96, núm. 7, pp. 2491–2500, jul. 2017.
- [85] V. Velasco *et al.*, “Estabilidad durante el almacenamiento de carne de pollos alimentados con orégano seco (*Origanum vulgare* l.) en la dieta ”, *Chil. J. Agric. & Anim. Sci.*, vol. 33, núm. 1, pp. 28–38, ene. 2017.
- [86] P. Alberti, G. Ripoll, y B. Panea, “Clasificación objetiva del color de la carne de denominaciones de venta de vacuno”, *Eurocarne*, núm. 244, pp. 131–142, mar. 2016.
- [87] V. Velasco *et al.*, “Parámetros de calidad de carne de pollos broiler alimentados con vinaza de achicoria (*Cichorium intybus*)”, *Chil. J. Agric. & Anim. Sci.*, vol. 34, núm. 1, pp. 26–32, ene. 2018.
- [88] M. J. Graciano Cristobal *et al.*, “Efecto antimicrobiano de aditivos naturales en carne de cerdo cruda”, *Acta agrícola y Pecu.*, vol. 3, núm. 2, pp. 32–40, jul. 2017.
- [89] A. I. Cabral Cruz, D. A. Penha Brito, M. da C. Costa, G. da S. Tavares, y A. C. Santos dos Passos, “Cortes de carne de frango in natura: qualidade física e microbiológica / Natural chicken meat cuts: physical and microbiological quality”, *Brazilian J. Dev.*, vol. 7, núm. 6, pp. 58430–58443, jun. 2021.
- [90] S. Cavus, F. Tornuk, K. Sarioglu, y H. Yetim, “Determination of mold contamination and aflatoxin levels of the meat products/ingredients collected from Turkey market”, *J. Food Saf.*, vol. 38, núm. 5, pp. 1–7, oct. 2018.
- [91] Turkish Food Codex, “Regulation on Microbiological Criteria”, Ankara, 2011.
- [92] J. Delgado, J. Soler, y J. Á. Peña, “Optimización de la producción de bioetanol en

procesos fermentativos del mucílago de Cacao CCN – 51 en un biorreactor tipo batch”, *Jorn. Jóvenes Investig. del I3A*, vol. 6, jun. 2018.

- [93] G. Brugnini, M. J. Acquistapace, S. Rodríguez, y C. Rufo, “Efecto de la aplicación de ácido láctico sobre *Listeria monocytogenes* en carne envasada al vacío en Uruguay”, *INNOTEC*, vol. 15, pp. 7–24, jun. 2018.
- [94] N. Saucedo Briviesca, A. I. Cuesta, y M. de L. Pérez Chabela, “Efecto de las bacterias lácticas termotolerantes probióticas sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales en batidos carnicos cocidos”, *Nacameh*, vol. 11, núm. 1, pp. 1–17, 2017.
- [95] 3M, “3M Petrifilm Guía de Interpretación”, Saint Paul, 2021.

## **CAPÍTULO VII**

### **ANEXOS**

## Anexo 1. Datos obtenidos de los análisis realizados.

Variedades	Tiempo de conservación	Tipo de carne	REPETICIONES	pH carne	pH mucílago	Acidez	L	a*	b*	Humedad (%)	CRA %	Moh y leva (UFC)	Coliformes (UFC)	Acido lácticas (UFC)	Textura (N)
CCN 51	7 días	Cerdo	1	4.847	3.78	0.162	47.89	3.68	8.64	75.7	22.017	0	5	34	1.5693
CCN 51	7 días	Pollo	1	4.627	3.87	0.153	58.83	2.39	16.44	79.1	16.856	0	1	8	0.7668
CCN 51	7 días	Res	1	4.789	4.06	0.18	49.89	5.49	11.21	71.8	18.570	13	1	100	1.8355
CCN 51	14 días	Cerdo	1	4.84	4.09	0.144	51.5	5.54	12.39	75.2	13.298	12	27	100	1.7946
CCN 51	14 días	Pollo	1	4.985	4.27	0.126	64.47	0.17	22.46	74.4	22.401	0	38	45	1.8551
CCN 51	14 días	Res	1	4.691	4.15	0.162	41.88	5.62	8.65	75.6	13.228	7	0	100	1.18804
Nacional	7 días	Cerdo	1	4.975	3.97	0.117	58.83	5.08	9.85	63.2	15.823	100	2	74	1.7099
Nacional	7 días	Pollo	1	5.049	3.89	0.18	50.06	7.65	15.56	70.9	4.701	23	3	22	3.7543
Nacional	7 días	Res	1	4.674	3.89	0.126	39.44	7.02	12.34	73.5	13.605	0	2	100	1.6903
Nacional	14 días	Cerdo	1	4.945	4.48	0.135	60.97	2.6	12.85	74.7	17.849	24	2	48	2.026
Nacional	14 días	Pollo	1	4.837	4.63	0.153	59.9	1.63	21.44	75.4	8.842	12	8	15	2.4805
Nacional	14 días	Res	1	4.839	4.58	0.117	33.75	8.22	8.11	75.5	17.660	100	4	100	1.2535
CCN 51	7 días	Cerdo	2	4.576	3.78	0.153	50.36	4.61	8.87	72.9	13.717	0	3	29	0.8249
CCN 51	7 días	Pollo	2	4.542	3.91	0.144	58.1	2.18	16.11	75.9	21.959	20	0	10	0.8971
CCN 51	7 días	Res	2	4.733	4	0.171	51.22	5.44	10.29	70	19.048	41	4	100	1.4714
CCN 51	14 días	Cerdo	2	4.777	4.03	0.135	51.48	5.68	12.48	69.8	19.102	36	27	90	1.5684
CCN 51	14 días	Pollo	2	4.843	4.22	0.144	65.47	0.6	23.4	72.2	13.850	4	36	40	1.6061
CCN 51	14 días	Res	2	4.605	4.09	0.153	40.88	5.45	8.25	72.8	18.315	9	1	100	0.8499
Nacional	7 días	Cerdo	2	4.89	3.89	0.126	57.63	4.88	10.96	68.3	29.283	100	7	75	0.8691
Nacional	7 días	Pollo	2	5.027	3.79	0.135	51.67	7.21	17.77	70.5	14.184	25	3	20	1.3151
Nacional	7 días	Res	2	4.622	3.91	0.117	42.75	7.76	12.67	72.6	18.365	0	1	100	1.8364
Nacional	14 días	Cerdo	2	4.899	4.42	0.144	63.15	2.24	11.46	75	17.778	35	1	45	1.4197
Nacional	14 días	Pollo	2	4.814	4.57	0.144	59.6	1.21	22.1	77.7	25.740	16	3	20	1.0217
Nacional	14 días	Res	2	4.819	4.49	0.126	33.79	7.63	7.46	75.7	8.807	100	6	100	0.8728
CCN 51	7 días	Cerdo	3	4.569	3.87	0.171	49.88	4.79	8.86	70.6	18.886	0	3	37	0.6734
CCN 51	7 días	Pollo	3	4.536	3.87	0.153	61.04	2.55	18.08	74.9	13.351	1	3	8	1.0821
CCN 51	7 días	Res	3	4.751	3.97	0.189	51.61	3.79	7.84	66.8	14.970	20	3	100	0.7091
CCN 51	14 días	Cerdo	3	4.785	3.99	0.171	50.99	5.56	12.44	69.1	14.472	30	35	100	0.65303
CCN 51	14 días	Pollo	3	4.803	4.19	0.162	62.52	1.73	24.2	74.3	13.459	4	33	50	1.1077
CCN 51	14 días	Res	3	4.618	4.06	0.144	42.17	5.65	8.51	65.5	10.178	20	0	100	0.4957
Nacional	7 días	Cerdo	3	4.887	3.87	0.126	59.4	4.53	9.59	66.5	20.050	100	9	80	0.7623
Nacional	7 días	Pollo	3	5.017	3.76	0.135	58.89	5.05	19.35	76.5	13.072	23	2	25	1.1059
Nacional	7 días	Res	3	4.618	3.92	0.153	47.43	7.55	13.15	74.2	8.985	0	3	80	0.9214
Nacional	14 días	Cerdo	3	4.904	4.39	0.135	62.06	2.85	13.7	76.8	17.361	31	11	50	0.7913
Nacional	14 días	Pollo	3	4.799	4.55	0.162	60.49	1.34	21.72	78.5	16.985	19	5	18	0.5482
Nacional	14 días	Res	3	4.793	4.45	0.153	34.27	8.06	8.24	75.2	13.298	100	6	100	0.53104

Elaborado por: Autores.

## Anexo 2. Muestras.



Carnes con mucílago

**Elaborado por:** Autores.

## Anexo 3. Análisis de pH para las carnes.



Potenciómetro y determinación del pH con el potenciómetro.

**Elaborado por:** Autores.

**Anexo 4.** Análisis de pH para el mucílago.



Determinación del pH de mucílago.

**Elaborado por:** Autores.

**Anexo 5.** Análisis de acidez.



Titulación de las carnes y muestra titulada.

**Elaborado por:** Autores.

**Anexo 6.** Análisis de contenido de humedad.



Muestras en la estufa para el secado y muestras secas.

**Elaborado por:** Autores.

**Anexo 7.** Análisis de capacidad de retención de agua.



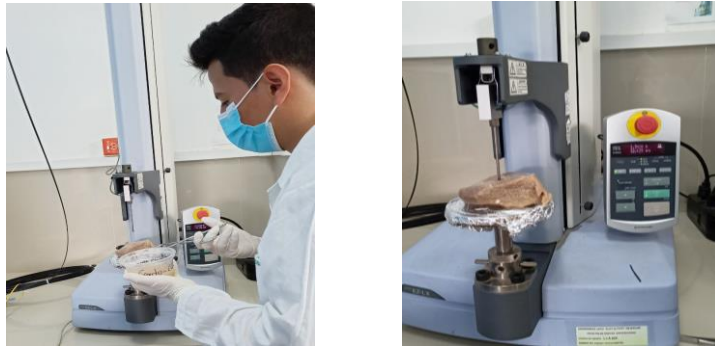
Muestras preparadas y prensadas para la determinación de CRA.



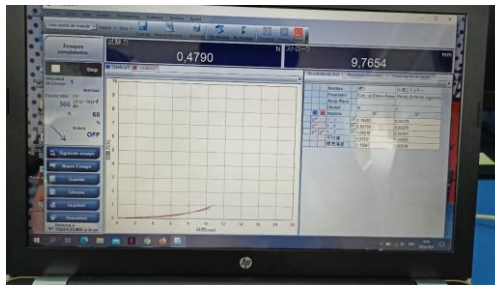
Secado del papel filtro húmedo en estufa y registro del peso del papel filtro seco en una balanza analítica.

**Elaborado por:** Autores.

### Anexo 8. Análisis de textura de las carnes.



Ubicación de la muestra en el Texturómetro y muestra penetrada por la sonda del Texturómetro.



Datos de textura obtenidos a través del software TRAPEZIUM.

Elaborado por: Autores.

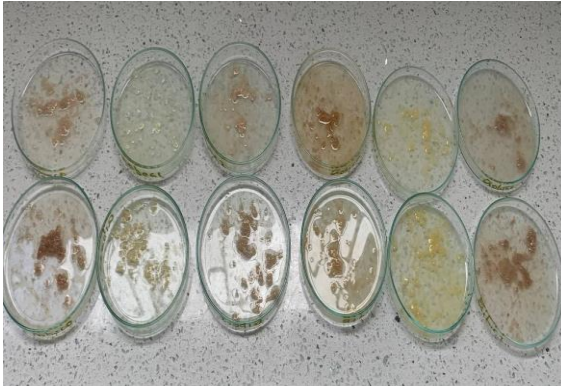
### Anexo 9. Análisis de Colorimetría.



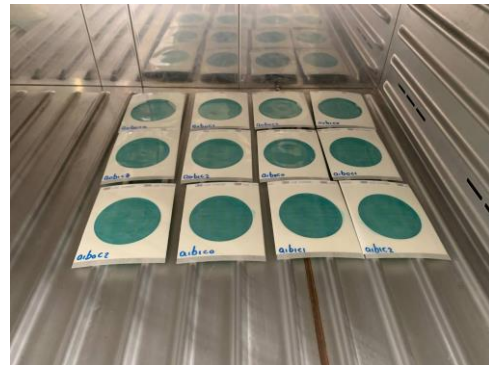
Obtención del espectro de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

Elaborado por: Autores.

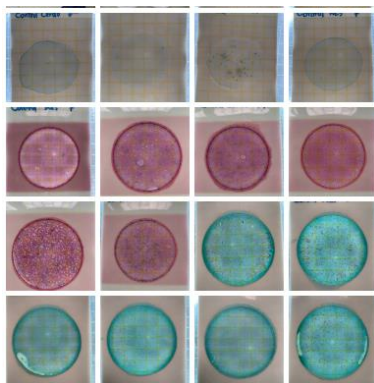
**Anexo 9.** Análisis microbiológicos.



Preparación de muestras y cultivo de las colonias.



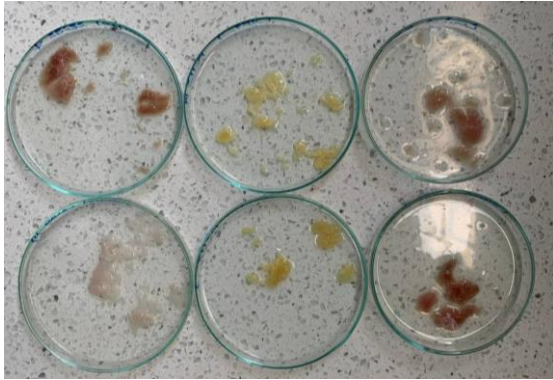
Proceso de incubación de las colonias de Coliformes totales (rojo), Mohos y levaduras (blanco) y BAL (verde).



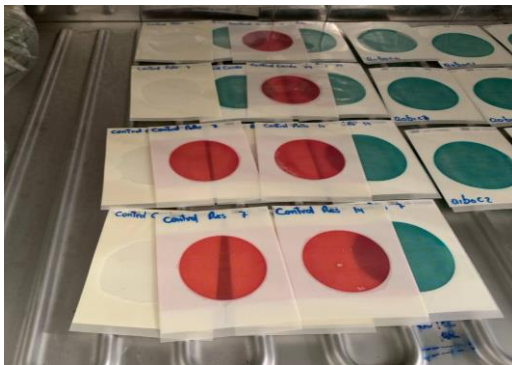
Colonias incubadas y conteo de las colonias.

**Elaborado por:** Autores.

**Anexo 10.** Análisis microbiológicos de los tratamientos de control.



Preparación de muestras de los tratamientos de control y cultivo de las colonias.



Proceso de incubación de las colonias y conteo de las colonias.

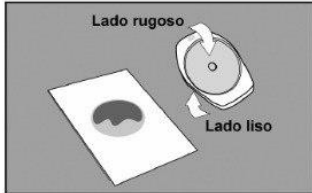
**Elaborado por:** Autores.

## Anexo 11. Guía Placas Petrifilm E.coli/Coliformes.

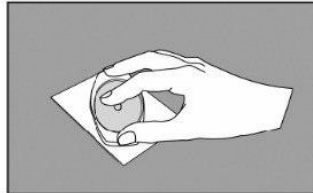
### 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes

Recomendaciones de uso

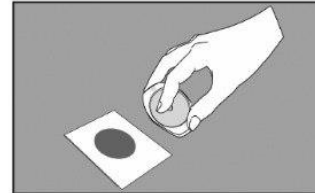
Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.



**10** Con el lado **liso** hacia abajo, coloque el difusor en la película superior sobre el inóculo.

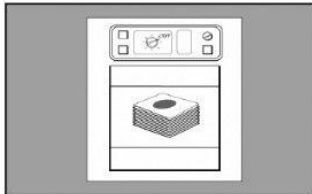


**11** Presione **suavemente** el difusor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. **No gire ni deslice** el difusor.



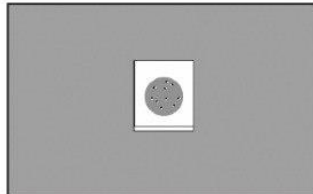
**12** Levante el difusor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

### Incubación

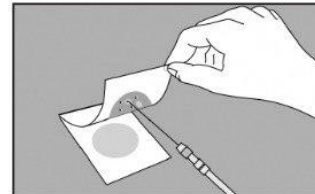


**13** Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente de agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



**14** Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de interpretación para leer los resultados.



**15** Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Métodos más comúnmente utilizados para total de coliformes:

- **AOAC método oficial 986.33 y 989.10** (leche y productos lácteos)  
Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 32 °C  $\pm$  1 °C
- **AOAC método oficial 991.14**  
Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 35 °C  $\pm$  1 °C
- **NMK método 147.1993**  
Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 37 °C  $\pm$  1 °C
- **AFNOR métodos validados 3M 01/2-09 89A y B** (todos los alimentos, excepto marinos)  
Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 30 °C  $\pm$  1 °C

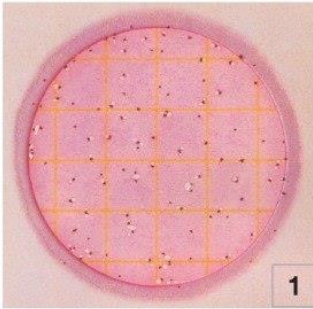
Para coliformes termotolerantes (fecales), el método más conocido es:

- **AFNOR método validado 3M 01/2-09/89C**  
Incubar 24 h  $\pm$  2 h a 44 °C  $\pm$  1 °C  
La incubadora debe ser humedecida a estas altas temperaturas.

### Comentarios adicionales

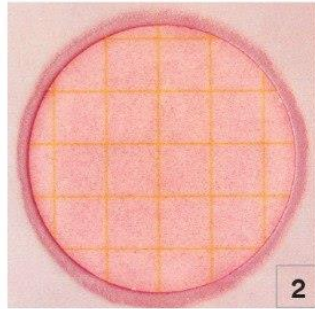
- Nota: Recuerde inocular y colocar el difusor antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Food Safety en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: [www.3M.com/foodsafety](http://www.3M.com/foodsafety)
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

## 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes



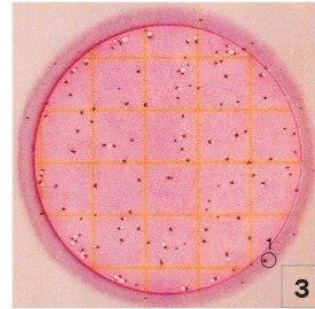
1  
La identificación de los coliformes puede variar de país a país (ver la sección de incubación y temperaturas en "Recomendaciones de uso").

Método validado por la AOAC Internacional  
Total de coliformes = 69 (colonias con gas)



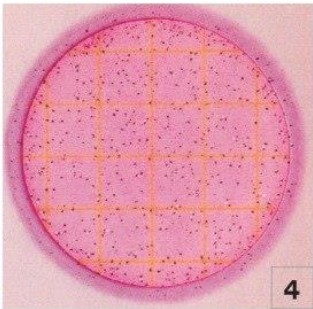
2  
No crecimiento = 0  
Observe el cambio de color del gel en las figuras 2 a 5. Mientras el recuento de los coliformes aumenta, el color del gel se oscurece.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son un resultado del crecimiento de los coliformes.



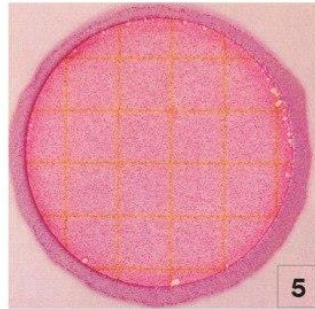
3  
Recuento total de coliformes = 79  
El rango de recuento para la población total en las Placas Petrifilm CC es entre 15 y 150.

No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Vea el círculo 1.



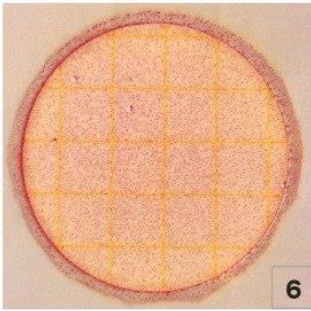
4  
Recuento estimado total de coliformes = 220  
El área de crecimiento circular es de cerca de 20 cm<sup>2</sup>. Los estimados pueden hacerse en placas que tienen más de 150 colonias, como resultado de contar las colonias en uno o más cuadrados representativos y de determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

Para un recuento más preciso, se recomienda una dilución adicional de la muestra.

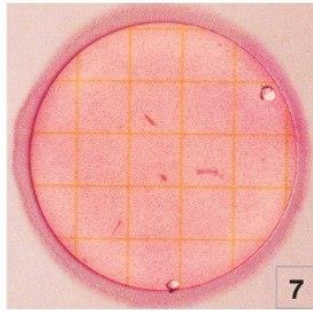


5  
MNPC  
Las Placas Petrifilm CC con colonias Muy Numerosas Para Contar (MNPC) tienen una o más de las siguientes características: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y un oscurecimiento del color del gel.

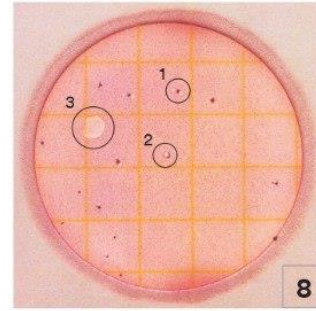
## Burbujas



**Recuento actual = 4**  
 Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm CC, el gel puede volverse amarillo.

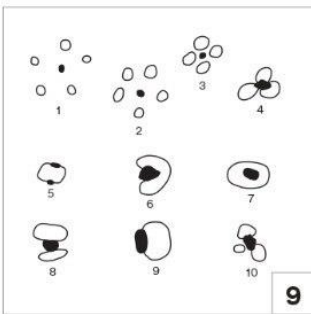


**Recuento total de coliformes = 2**  
 Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



**Recuento total de coliformes = 8**  
 Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede romper la colonia y así, esta última 'delinea' a la burbuja. Vea los círculos 1 y 2.

Las burbujas pueden aparecer como resultado de una inoculación impropia o de aire atrapado dentro de la muestra. Tienen una forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



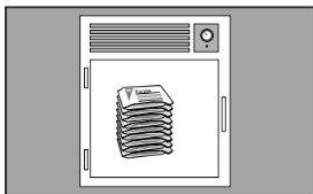
Los ejemplos 1 a 10 muestran varios patrones de burbujas con colonias que producen gas. Todas deben ser enumeradas.

## 3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes

## Recomendaciones de uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

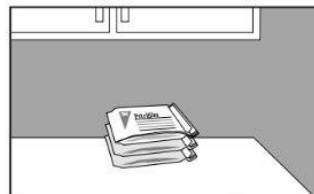
### Almacenamiento



- 1** Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\approx 8^{\circ}\text{C}$  ( $\approx 46^{\circ}\text{F}$ ). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos.  
Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

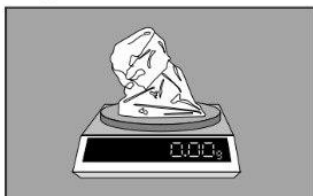


- 2** Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.



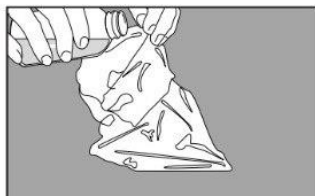
- 3** Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\approx 25^{\circ}\text{C}$  ( $\approx 77^{\circ}\text{F}$ ) y una humedad relativa  $\leq 50\%$ . **No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos.** Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

### Preparación de la muestra



- 4** Prepare una dilución de una muestra de alimento.\* Pese o pipetee la muestra en un recipiente adecuado, como una bolsa Stomacher, una botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

\*Vea las indicaciones para Productos Lácteos y Jugos.



- 5** Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y con pH ajustado a 7.2); agua de peptona al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); *buffer* de agua peptonada (método ISO 6879); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada.

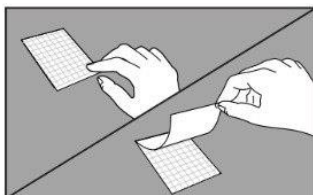
No utilice *buffers* que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.



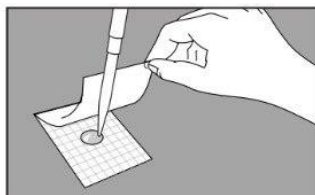
- 6** Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales. Para un óptimo crecimiento y recuperación de los microorganismos ajuste el pH de la muestra diluida.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:  
 • Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.  
 • Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

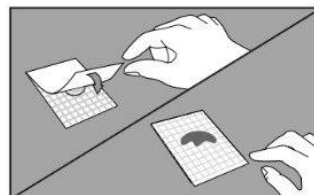
### Inoculación



- 7** Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



- 8** En forma **perpendicular** a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la Pipeta Electrónica 3M™ (o cualquier otro dispositivo similar).



- 9** Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.

## Anexo 12. Guía Placas Petrifilm Mohos y levaduras.



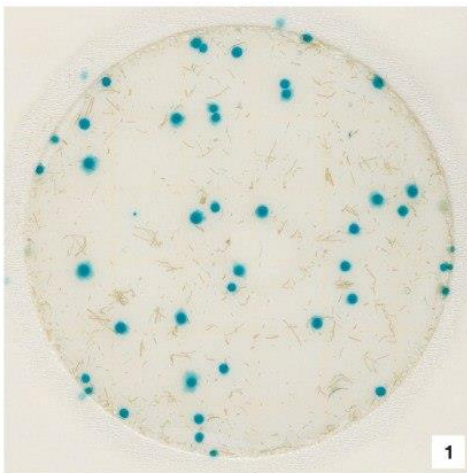
Guía de interpretación

### Placas Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras

La Placa 3M™ Petrifilm™ para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras es un sistema con medio de cultivo listo para usar que contiene nutrientes complementados con antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de mohos y levaduras.

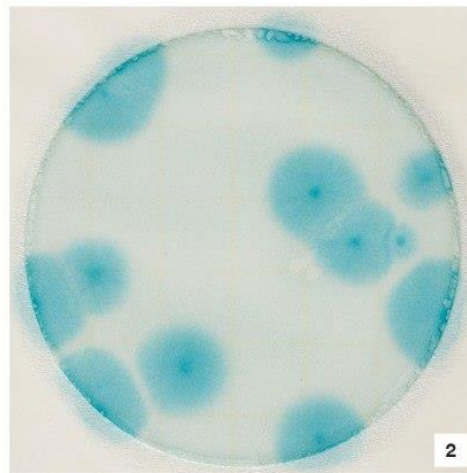
#### Comparación de colonias de levaduras y mohos

Para diferenciar las colonias en las Placas 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras, busque una o más de las siguientes características:



#### Recuento de levaduras: 44

Las colonias son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, colonias con bordes definidos, de color canela rosado a verde azulado. Las colonias parecen elevadas (tridimensionales) y tienen un color uniforme.



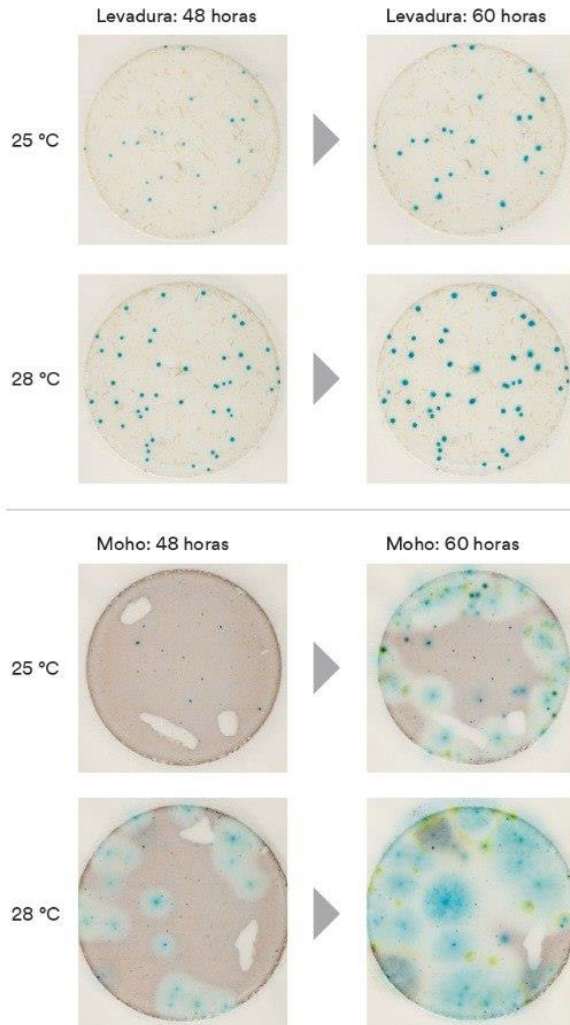
#### Recuento de mohos: 12

Las colonias son ejemplos de mohos característicos: colonias grandes, colonias con bordes difusos, de color verde azulado después de una incubación prolongada. Las colonias parecen planas y tienen un centro oscuro con bordes difusos.

### Crecimiento y formación de las colonias

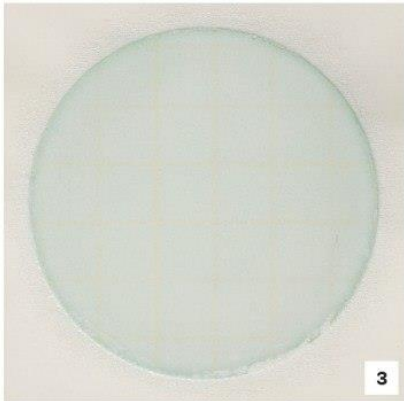
Incube las Placas 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras a 25-28 °C durante 48 ± 2 horas\* en posición horizontal, con la película transparente hacia arriba, en pilas de no más de 40 placas. Algunos tipos de alimentos pueden exhibir un crecimiento y una formación de colonias más evidente a 28 °C.

\*Si las colonias son apenas visibles, incube por 12 horas adicionales para una mejor interpretación.  
La presencia de pequeñas burbujas de aire no impedirá que el recuento sea preciso.



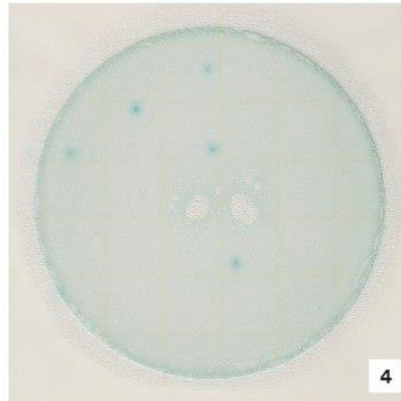
### Reacción enzimática

Las muestras de alimentos pueden mostrar ocasionalmente interferencias en las Placas 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras. Por ejemplo:



**Recuento: 0**

Un color azul uniforme de fondo (con frecuencia visto en los organismos que se usan en los productos cultivados), no deberá calificarse como muy numerosos para contar (MNPC).



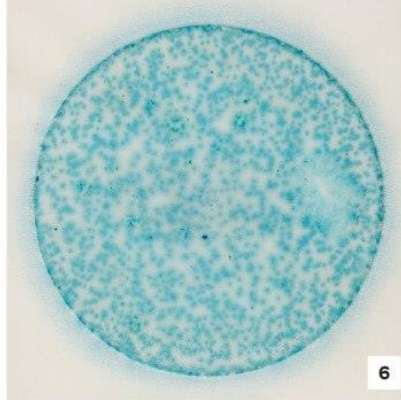
**Recuento: 5**

Un color de fondo azul uniforme no impedirá que el recuento sea preciso.



**Recuento: 0**

Una placa sin reacción enzimática.

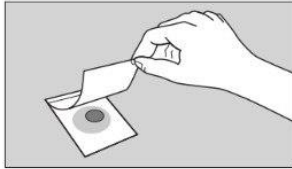


**Recuento: MNPC**

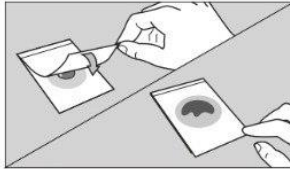
Algunos alimentos que contienen altos niveles de enzimas pueden provocar un fondo azul uniforme. El crecimiento de la colonia aún será visible si ocurre una reacción enzimática.

## Instrucciones de uso:

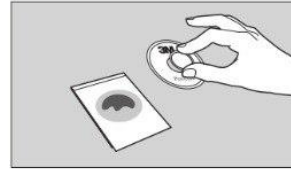
### Procedimiento de inoculación



- 1** Coloque la Placa 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior y agregue 1 mL de la muestra con la 3M™ Pipeta Electrónica perpendicular en el centro de la película inferior.



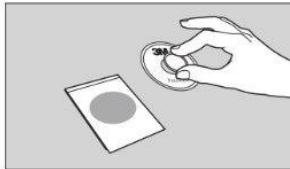
- 2** Baje la película superior sobre la muestra.



- 3** Coloque el 3M™ Petrifilm™ Difusor Plano (No. de cat. 6425) u otro difusor plano en el centro de la Placa 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras.



- 4** Presione firmemente el centro del Dispensor para distribuir la muestra de manera uniforme. Difunda el inóculo por toda el área de crecimiento de la Placa 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras antes de que se forme el gel. No deslice el Dispensor a través de la película.

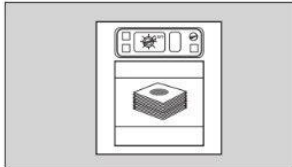


- 5** Retire el Dispensor y deje sin mover la Placa 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras por lo menos durante un minuto, para permitir que se forme el gel.

### Utilice diluyentes estériles apropiados:

Solución amortiguadora de fosfato Butterfield (ISO 5541-1), agua peptonada bufferada (ISO), 0.87% de agua peptonada, diluyente de sal peptonada, solución salina (0.85 a 0.90%), caldo Lethen libre de bisulfito o agua destilada. **No utilice diluyentes que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato con las Placas 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras, ya que pueden inhibir el crecimiento.** Si se indica el uso de una solución amortiguadora de citrato en el procedimiento estándar, reemplácela por 0.1% de agua peptonada, calentada a una temperatura de 40 a 45 °C.

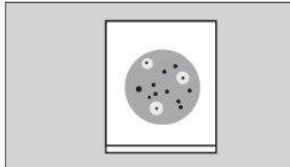
### Incubación



- 6** Incube la Placa 3M Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras a 25-28 °C durante 48 ± 2 horas\* en posición horizontal, con la película transparente hacia arriba, en pilas de no más de 40 placas.

\*Si las colonias son apenas visibles, déjelas en un periodo de incubación de 12 horas más para una mejor interpretación.

### Interpretación



- 7** Lea los resultados para las levaduras y los mohos a las 48 horas. Ciertos mohos y levaduras de crecimiento más lento pueden aparecer apenas visibles a las 48 horas. Para mejorar la interpretación de estos mohos, incúbelos por 12 horas más.

### Almacenamiento



- 8** Selle la bolsa plegando el extremo y pegándolo con cinta adhesiva. Para evitar la exposición a la humedad, no refrigere las bolsas abiertas. Almacene las bolsas reselladas en un ambiente fresco (20 a 25 °C) y seco (con una HR menor al 60 %) durante un máximo de 4 semanas.



Food Safety  
3M México  
Av. Santa Fe No. 190, Col. Santa Fe, Del.  
Álvaro Obregón  
C.P. 01210 México D.F.  
5270-0400 ext 0443 o 1272  
foodsafetymx@mmm.com

[3M.com/foodsafety](http://3M.com/foodsafety)

3M, Ciencia. Aplicada a la Vida. y Petrifilm son marcas registradas de 3M.  
Por favor recicle. © 3M, 2017.  
Todos los derechos reservados.



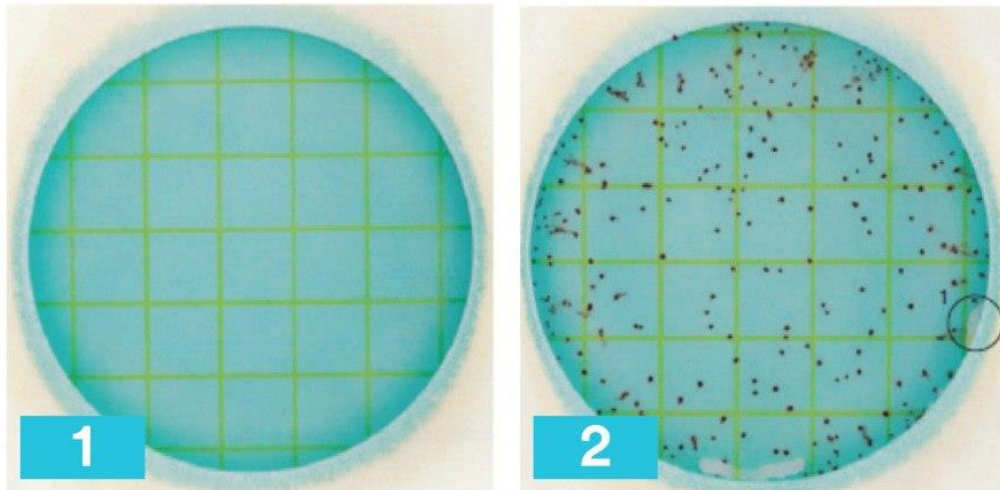
# Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®.

## Guía de interpretación

La placa para recuento de bacterias ácido lácticas 3M® Petrifilm® es un sistema constituido por un medio de cultivo listo para usarse, que contiene nutrientes, agentes selectivos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio (TTC) que facilita el recuento de colonias. La placa contiene compuestos que eliminan el oxígeno, creando un ambiente anaeróbico para la recuperación de bacterias ácido lácticas homofermentativas y heterofermentativas en las industrias de alimentos y bebidas.



## Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®

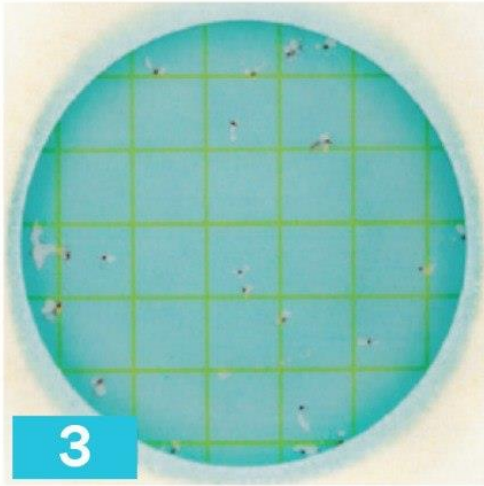


**Figura 1**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 0

Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® sin colonias.

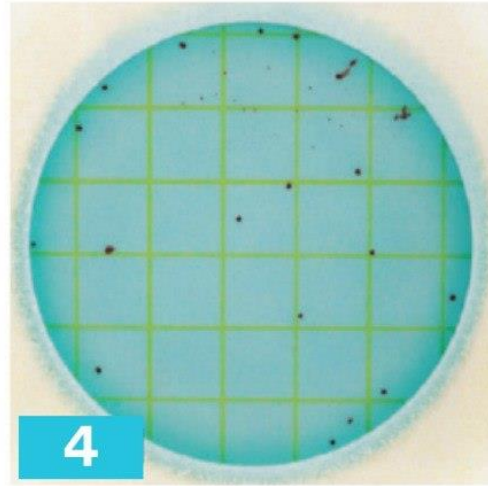
**Figura 2**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 236

El rango ideal de recuento es menor a 300 colonias sin gas. La aparición de burbujas puede ser resultado de la inoculación incorrecta (círculo 1) de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® o por aire atrapado en la muestra; tienen una forma irregular y no están relacionadas con un colonia roja. No cuente las colonias que se encuentra por fuera del área delimitada o en la espuma de hule.



**Figura 3**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 24

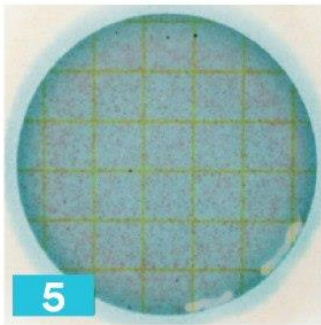
El rango de ideal de recuento es menor a 150 colonias con gas. Los patrones de las burbujas de gas pueden variar de tamaño y forma. La burbuja de gas puede romper la colonia, de modo que ésta delinea la burbuja.



**Figura 4**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 38

Contar todas las colonias sin importar su tamaño o la intensidad del color.





**Figura 5**  
Recuento total de Bacterias  
Ácido Lácticas = MNPC (muy  
numerosas para contar)



**Figura 6A**  
Recuento total de Bacterias  
Ácido Lácticas = MNPC (muy  
numerosas para contar)



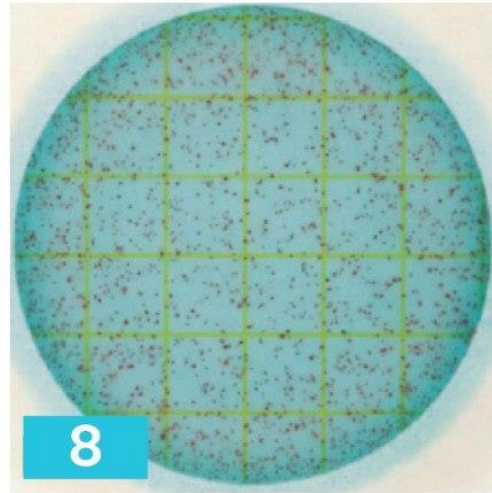
**Figura 6B**  
Recuento total de Bacterias  
Ácido Lácticas = 0

Es posible que las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® con demasiadas colonias para conteo (MNPC) tengan una o más de las siguientes características: muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y/o un color de gel intenso que puede ir de azul a rosa-morado. Una alta concentración de colonias en las placas hará que toda el área de crecimiento se torne de azul oscuro a morado con una aureola rosa alrededor de la orilla exterior del área de crecimiento. En estos casos se recomienda pasar a la dilución siguiente o diluir más la muestra hasta tener un recuento dentro del rango ideal de recuento.



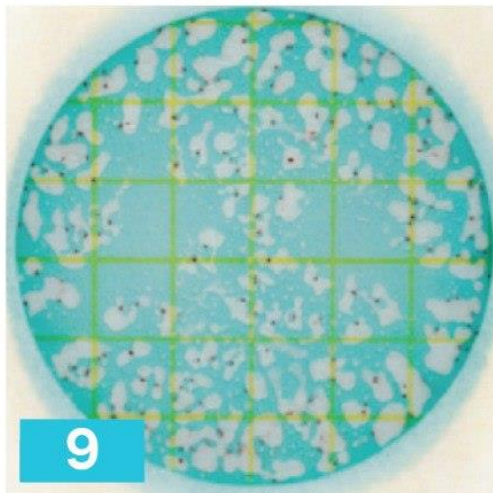
**Figura 7**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas =  
MNPC (muy numerosas para contar)

Una alta concentración de colonias generadoras de gas (BAL heterofermentativas) en las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® producirán una distribución irregular de muchas burbujas de gas. En estos casos se recomienda pasar a la dilución siguiente o diluir más la muestra hasta tener un recuento dentro del rango ideal de recuento.



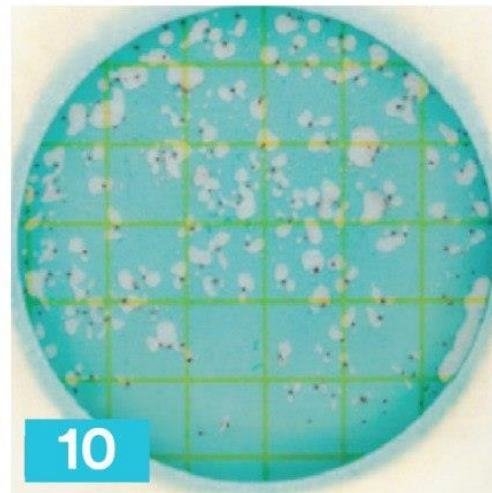
**Figura 8**  
Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 1,500

Cuando el número de colonias sin gas es mayor a 300, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



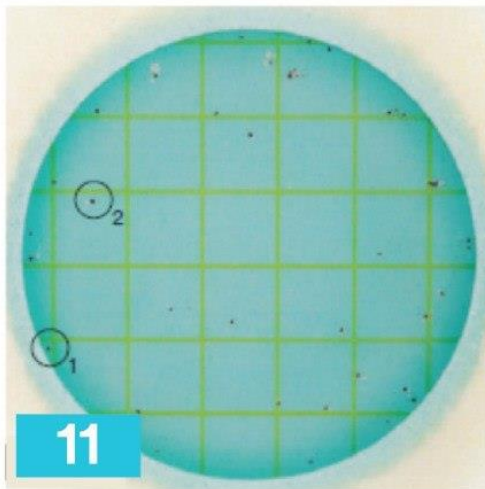
**Figura 9**  
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 250

Cuando el número de colonias con gas es mayor a 150, se puede estimar el recuento. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



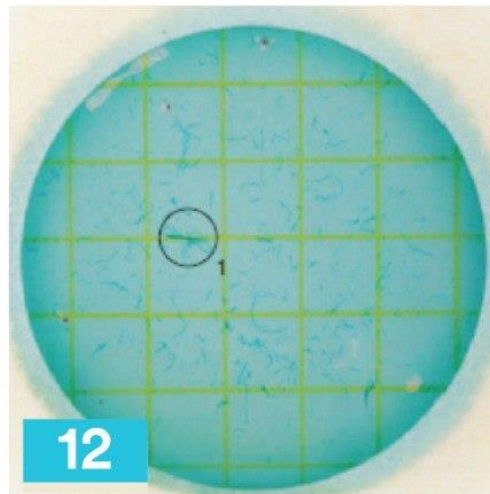
**Figura 10**  
Recuento estimado total de Bacterias Ácido Lácticas = 165

Se debe estimar el recuento en las Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® cuando el número de colonias con o sin gas sea mayor a 150. Para esto, se debe determinar el promedio de colonias en dos o más cuadrados representativos y multiplicar este valor por 30 para obtener así el conteo estimado total por placa. El área inoculada en una Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® es aproximadamente 30cm<sup>2</sup>.



**Figura 11**  
**Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 41**  
**Homofermentativas: 13**  
**Conteo heterofermentativas: 28**

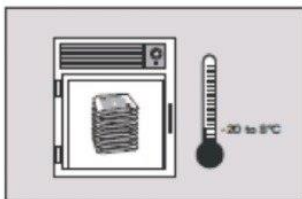
En la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® se puede diferenciar las colonias de Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas de las heterofermentativas. Las Bacterias Ácido Lácticas heterofermentativas (círculo 2) están definidas como colonias rojas e íntimamente asociadas a gas atrapado (a una distancia no mayor al diámetro de una colonia). Las colonias rojas sin gas (círculo 1) están definidas como Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas.



**Figura 12**  
**Recuento total de Bacterias Ácido Lácticas = 4**  
**Conteo homofermentativo: 1**  
**Conteo heterofermentativo: 3**

Las partículas de alimento (círculo 1) tienen una forma irregular y/o filamentosa; no enumerar. La aparición de burbujas puede ser resultado de una inoculación inapropiada o incorrecta de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® o por aire atrapado dentro de la muestra; tienen una forma irregular y no están asociadas a una colonia roja; no enumerar.

## Almacenamiento



1

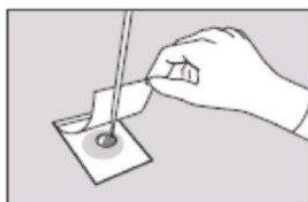
Almacenar los paquetes sin abrir de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® a temperatura de congelación o refrigeración igual a -20 a 8°C (-4 a 46°F). Usar antes de su fecha de caducidad indicada en el empaque. Es recomendable que las bolsas se atemperen a temperatura ambiente antes de usarlas. La fecha de caducidad también se puede leer en la parte superior de las placas.



2

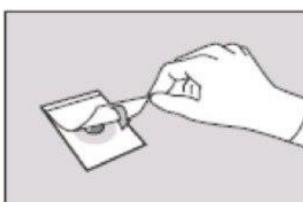
Para cerrar un paquete abierto doble el extremo superior y séllelo con cinta adhesiva; para evitar la exposición a la humedad, **no** refrigerar los paquetes abiertos. Almacenar los paquetes sellados en un ambiente fresco y seco (20–25°C/<60% HR) o en un congelador  $\geq$  -15°C (5°F) por un lapso no mayor a cuatro semanas.

## Inoculación



3

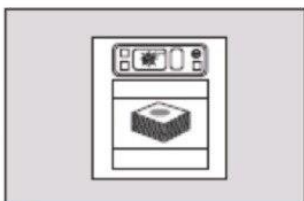
Colocar la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® en una superficie plana y nivelada. Levantar la película superior y colocar la pipeta perpendicularmente al área de inoculación, verter 1mL de suspensión de la muestra en el centro de la película inferior. Asegúrese de no tocar la placa con la punta de la pipeta.



4

Bajar con cuidado la película superior sobre la muestra para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer. Colocar el Difusor 3M® Petrifilm® (#6425 del catálogo) en el centro de la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® sobre el inóculo. Presionar con suavidad en el centro del Difusor 3M® Petrifilm® para distribuir la muestra uniformemente. No gire ni deslice el difusor. Retirar el Difusor 3M® Petrifilm® y espere sin mover la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® como mínimo por un minuto hasta que solidifique el gel.

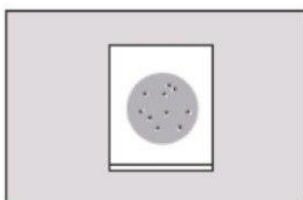
## Incubación



5

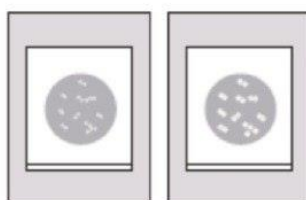
Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba en pilas de no más de 20; incubar la Placa para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm® por 48±3 horas a 28-37°C.

## Interpretación



6

El recuento de las Placas Petrifilm® 3M® puede realizarse con un contador de colonias estándar o con una lupa con luz. Contar todas las colonias rojas sin importar el tamaño o la intensidad del color. No cuente las colonias que han crecido fuera del área de inoculación o sobre la espuma de de espuma por cuanto están fuera de la influencia selectiva del medio.



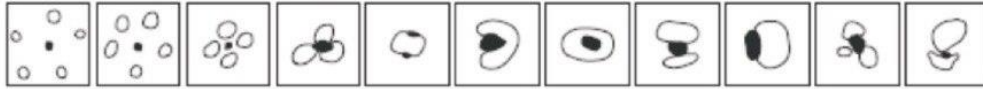
7

Las Bacterias Ácido Lácticas heterofermentativas se definen como colonias que son rojas e íntimamente asociadas a gas, dentro del diámetro de una colonia. Las colonias rojas sin gas están definidas como Bacterias Ácido Lácticas homofermentativas.

**Responsabilidad del usuario:** No se ha evaluado el desempeño de las Placas Petrifilm® 3M® con todas las combinaciones de flora microbiana, condiciones de incubación y matrices de alimento; el usuario es responsable de determinar que los métodos de prueba y resultados cumplan con sus requisitos. Si requiere reimprimir esta Guía de interpretación, es posible que la configuración de impresión del usuario impacte la imagen y calidad de color.

# Burbujas

Las ilustraciones a continuación muestran ejemplos de varios patrones de burbuja asociados con colonias que producen gas. Es posible ver más de un patrón de burbuja en una Placa para recuento Ácido Láctico 3M® Petrifilm®. Las imágenes a continuación deben enumerarse como una colonia.



Las imágenes a continuación deben enumerarse como dos colonias.



Número de Catálogo	Descripción del Material	Cantidad
6461	Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®	50 placas/caja
6462	Placas para recuento de Bacterias Ácido Lácticas 3M® Petrifilm®	500 placas/caja



Food Safety  
 3M México  
 Av. Santa Fe No. 190, Col, Santa Fe, Del.  
 Álvaro Obregón  
 C.P. 01210 México D.F.  
 5270-0400 ext 0443 o 1272  
 foodsafetymx@mmm.com

[3M.com/foodsafety](http://3M.com/foodsafety)

Seguridad en Alimentos 3M ofrece una línea completa de productos para cubrir una variedad de las necesidades de sus pruebas microbiológicas. Para obtener mayores informes visite el sitio [3M.com/foodsafety/Petrifilm](http://3M.com/foodsafety/Petrifilm).

3M, Ciencia. Aplicada a la Vida. y Petrifilm son marcas registradas de 3M.  
 Por favor recicle. © 3M, 2017.  
 Todos los derechos reservados.  
 70-2011-5105-0