



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Proyecto de Investigación
previo a la obtención del título
de Ingeniera en Alimentos.

Título del Proyecto de Investigación:

**“CALIDAD FISICO, QUIMICA Y MICROBIOLÓGICA DE
INFUSIÓN (NIBS, CASCARILLA Y ALMENDRA) DE
CACAO (*Theobroma cacao* L.) NACIONAL EN LA
ASOCIACIÓN LA CRUZ, CANTÓN MOCACHE”**

Autor:

Daniela Viviana Sánchez Domínguez

Director de Proyecto de Investigación:

Ing. Wiston Morales M. Sc.

Quevedo – Los Ríos - Ecuador.

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Daniela Viviana Sánchez Domínguez**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento. La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

f. _____

Daniela Viviana Sánchez Domínguez

C.I. 120561389-4

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. Wiston Morales M. Sc.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Daniela Viviana Sánchez Domínguez**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**CALIDAD FISICA QUIMICA Y MICROBIOLOGICA DE INFUSIÓN (NIBS, CASCARILLA Y ALMENDRA) DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) NACIONAL EN LA ASOCIACIÓN LA CRUZ CANTÓN MOCACHE**”, previo a la obtención del título de **Ingeniera en Alimentos**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....

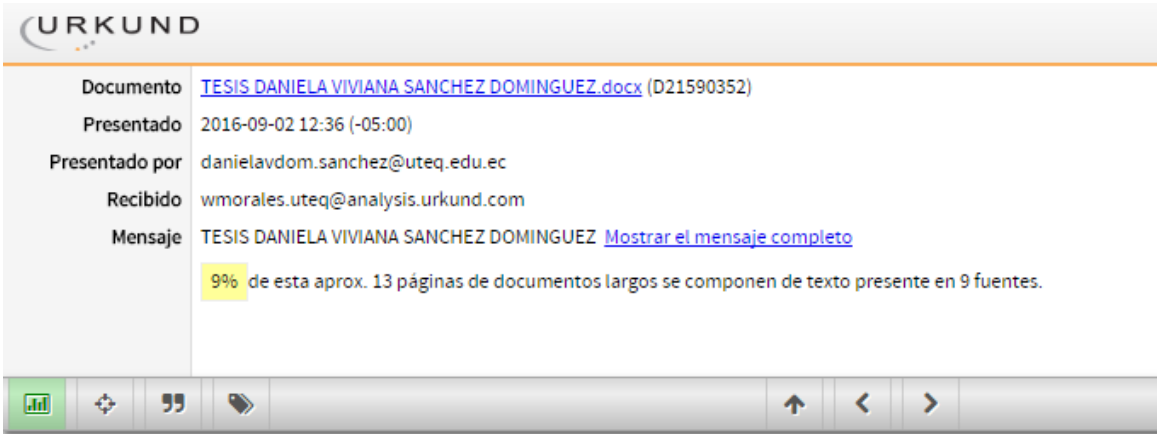
Ing. Wiston Morales M. Sc.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

Ing. Wiston Javier Morales Rodríguez MSc, en calidad de Director del Proyecto de Investigación cuyo tema es: “**Calidad físico, química y microbiológica de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao (Theobroma cacao L.) Nacional en la Asociación La Cruz, Cantón Mocache**”, me permito manifestar a usted y por intermedio del Consejo Académico lo siguiente:

Que, la Srta. **Daniela Viviana Sánchez Domínguez**, egresada de la Facultad de Ciencias Pecuarias, ha cumplido con las correcciones pertinentes, de acuerdo al reglamento de Graduación de Pregrado de la UTEQ, e ingresado su Proyecto de Investigación al **sistema URKUND**, tengo bien certificar la siguiente información sobre el informe del sistema reflejando un porcentaje del 9%.



The screenshot displays the URKUND interface with the following details:

- Documento:** [TESIS DANIELA VIVIANA SANCHEZ DOMINGUEZ.docx](#) (D21590352)
- Presentado:** 2016-09-02 12:36 (-05:00)
- Presentado por:** danielavdom.sanchez@uteq.edu.ec
- Recibido:** wmorales.uteq@analysis.urkund.com
- Mensaje:** TESIS DANIELA VIVIANA SANCHEZ DOMINGUEZ [Mostrar el mensaje completo](#)

A yellow highlight indicates: **9%** de esta aprox. 13 páginas de documentos largos se componen de texto presente en 9 fuentes.

The interface includes a toolbar at the bottom with icons for document view, zoom, and navigation.

Ing. Wiston Morales

Director de Tesis



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERIA EN ALIMENTOS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Calidad Física Química y Microbiológica de Infusión (Nibs, Cascarilla Y Almendra) de Cacao (*Theobroma Cacao* L.) Nacional en la Asociación La Cruz Cantón Mocache”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Carlos Aguirre Valverde

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Alexandra Barrera Álvarez

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Jaime Vera Chang

QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR

2016

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme dado fé y perseverancia durante estos años de estudio, no tengo dudas que de no haberme guiado de su mano, no hubiera sido posible cumplir este sueño tan anhelado.

También a mis padres Daniel y Yenny, que significan para mí un ejemplo de superación, estabilidad familiar y la perfecta entrega de amor; gracias por todo, en especial por la confianza, paciencia y cariño permanente.

No olvido a mis hermanas, Arantxa y Yenny que de una u otra forma siempre estuvieron dispuestas a brindarme su ayuda, fueron un gran apoyo durante estos años.

A todos quienes conforman la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, y en especial a cada uno de mis Profesores, gracias infinitas, por darme la oportunidad de estudiar, formarme, aprender y entender cada una de sus enseñanzas, espero no defraudarlos.

Y por último, mis más sinceros agradecimientos a todos los integrantes de la Asociación La Cruz, por abrirme sus puertas y brindar todas sus atenciones para el desarrollo y culminación de esta investigación.

Daniela Viviana Sánchez Domínguez

DEDICATORIA

Quiero dedicar este proyecto de investigación, a mis padres por el apoyo incondicional brindado y la confianza de siempre, enseñándome que la vida requiere de sacrificios para tener las bendiciones en forma de recompensas, este logro es tan mío como de ustedes.

Con mucho cariño y profundo amor.

Daniela Viviana Sánchez Domínguez

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en la Asociación La Cruz, ubicada en el km. 14 de la vía Mocache – Jauneche, Recinto La Cruz, Cantón Mocache. La misma fue realizada en el Laboratorio de Bromatología, situado en la Finca Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, Recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas de 01° 06’ de latitud Sur y 79° 29’ de longitud Oeste. A una altura de 120msnm. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad físico, química y microbiológica de la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) de cacao Nacional. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), con 4 repeticiones. Se utilizaron dos variedades de residuos de cacao (secado y tamizado) y 3 concentraciones (2gramos, 3 gramos y 4 gramos), adquiriendo un total de seis interacciones. Para la comparación entre media se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Las variables físico-químicas medidas fueron: pH, humedad, grasa, ceniza total y ceniza insoluble; microbiológicas: *E. coli*/coliforme, aerobios totales, mohos y levaduras. Con relación a los análisis organolépticos color, olor y sabor. Se concluye que los resultados obtenidos de los análisis físico-químicas y microbiológicos cumplen con los parámetros de las normas INEN 0620 de cacao soluble y 2392 de hierbas aromáticas, mientras que los análisis organolépticos según la escala de intervalos de color café, olor y sabor a chocolate presento el T6.

Palabras claves: Cacao Nacional, calidad, infusión, residuos.

ABSTRACT

This research was just in the Association La Cruz, located at km. 14 of the Mocache – Jauneche way, enclosure La Cruz, Mocache Canton. It was conducted at the Laboratory of Food Science, located at the Experimental Farm Maria, State Technical University of Quevedo, located at Km 7 ½ Quevedo - El Empalme way, enclosure San Felipe, Mocache Canton, Province Los Ríos. It is among the geographical coordinates of 01o 06´ south latitude and west longitude 79o 29´. At a height of 120msnm. The aim of this study was to evaluate the physical chemical and microbiological quality of the infusion (nibs, husks and kernels) National cocoa. Completely randomized design (CRD) with 4 replications was used. Two varieties of cocoa waste (drying and screening) and 3 concentrations (2grams, 3 grams and 4 grams) were used, acquiring a total of six interactions. For comparison between average Tukey test ($p \leq 0.05$) it was applied. The physico-chemical measures variables were: pH, moisture, fat, total ash and insoluble ash; microbiological: *E. coli*/coliform, total aerobic, molds and yeasts. With regard to the organoleptic analysis color, smell and taste. It is concluded that the results of the physico-chemical and microbiological analyzes meet the parameters of the rules INEN 0620 cocoa soluble and 2392 aromatic herbs, while the organoleptic analysis according to the interval scale coffee color, smell and taste of chocolate presented the T6.

Keywords: National cocoa, quality, infusion, waste.

INDICE GENERAL

PORTADA	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	II
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	III
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	IV
CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	V
AGRADECIMIENTO	VI
DEDICATORIA	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT	IX
CÓDIGO DUBLIN	XV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problema de investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.	4
1.1.2. Formulación del problema.	4
1.1.3. Sistematización del problema.	4
1.2. Objetivos.	5
1.2.1. Objetivo General.	5
1.2.2. Objetivos Específicos.	5
1.3. Justificación.....	5
CAPÍTULO II: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1. Marco conceptual.	7
2.2. Marco referencial.	9
2.3. Marco Legal	18
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	19
	x

3.1.	Localización.....	20
3.2.	Tipos de investigación.....	20
3.2.1.	Investigación Exploratoria.....	20
3.2.2.	Investigación Descriptiva.....	20
3.2.3.	Investigación Experimental.....	21
3.3.	Método de investigación.....	21
3.3.1.	Método inductivo – deductivo.....	21
3.3.2.	Métodos estadísticos.....	21
3.4.	Fuentes de recopilación de la investigación.....	21
3.5.	Diseño de la investigación.....	22
3.5.1.	Tratamientos en estudio.....	22
3.5.2.	Esquema del experimento.....	22
3.5.3.	Modelo matemático.....	23
3.6.	Instrumentos de la investigación.....	23
3.7.	Procedimiento experimental.....	24
3.7.1.	Descripción del proceso.....	25
3.7.2.	Descripción de los análisis físico químicos.....	26
3.7.3.	Descripción del análisis microbiológico.....	29
3.7.4.	Descripción de análisis organoléptico.....	30
3.7.5.	Descripción del análisis económico.....	31
3.8.	Recursos humanos y material.....	33
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		34
4.1.	Análisis Físico Químicos.....	35
4.2.	Análisis Microbiológico.....	37
4.3.	Análisis organolépticos.....	39
4.4.	Costo.....	40
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		42
5.1.	Conclusiones.....	43
5.2.	Recomendaciones.....	43
CAPÍTULO VI: BIBLIOGRAFÍA		44
6.1.	Bibliografía.....	45
CAPITULO VII: ANEXOS		48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Parámetros físico químico y microbiológico y norma.	18
Tabla 2.	Esquema del ANDEVA.	22
Tabla 3.	Esquema del experimento con los tratamientos, repeticiones y unidades experimentales.	23
Tabla 4.	Valoración organoléptica en la infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao. (Anexo 2)	31
Tabla 5.	Recursos utilizados en la investigación.	33
Tabla 6.	Datos de pH, humedad, ceniza total y ceniza insoluble de los 6 tratami- entos para medir la cantidad físico química de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.	37
Tabla 7.	Datos de E. coli/coliforme, aerobios totales, mohos y levaduras, de los 6 tratamiento para medir la calidad microbiológica de infusión (nibs, cas- carilla y almendra) de cacao.	38
Tabla 8.	Datos de color, olor y sabor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cas- carilla y almendra) de cacao.	39
Tabla 9.	Análisis económico, en la elaboración de infusión (nibs, cascarilla y al- mendra) de cacao.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Diagrama de flujo para la obtención de infusión.	16
Figura 2.	Diagrama de flujo obtención de infusión de nibs, cascarilla y almendra.	25
Figura 3.	Parámetros organolépticos de color, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.	39
Figura 4.	Parámetros organolépticos de olor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.	40
Figura 5.	Parámetros organolépticos de sabor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.	40

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	ANDEVAS de las variables pH, humedad, grasa, cenizas totales y cenizas insolubles, en la elaboración de infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao Nacional.	49
Anexo 2.	Hoja de trabajo y respuesta para la valoración organoléptica, en la elaboración de infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao Nacional.	50
Anexo 3.	Combustible.	51
Anexo 4.	Depreciaciones.	51
Anexo 5.	Costos.	51
Anexo 6.	Costo primo.	52
Anexo 7.	Costo conversión.	52
Anexo 8.	Costo de producción.	53
Anexo 9.	Costo total.	54
Anexo 10.	Precio de venta.	54
Anexo 11.	Norma INEN 620 de Cacao Soluble.	56
Anexo 12.	Norma INEN 2392 de hierbas aromáticas.	58
Anexo 13.	Norma INEN 1676 de determinación de humedad.	61
Anexo 14.	Norma INEN 0533 de determinación ceniza total.	63
Anexo 15.	Norma INEN 0532 determinación de ceniza insoluble en acido.	65
Anexo 16.	Técnica de análisis determinación de grasa.	67
Anexo 17.	Guía de interpretación de aerobios totales.	68
Anexo 18.	Guía de interpretación de E. coli/ Coliforme.	74
Anexo 19.	Guía de interpretación de mohos y levaduras.	80
Anexo 20.	Fotografías del experimento.	87

CÓDIGO DUBLIN

Título:	Calidad físico, química y microbiológica de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Nacional en la Asociación La Cruz, Cantón Mocache.			
Autor:	Sánchez Domínguez, Daniela Viviana			
Palabras claves:	Cacao Nacional	Calidad	Infusión	Residuos
Fecha de publicación:				
Editorial:				
Resumen:	<p>La presente investigación se llevó a cabo en la Asociación La Cruz, ubicada en el km. 14 de la vía Mocache – Jauneche, Recinto La Cruz, Cantón Mocache. La misma fue realizada en el Laboratorio de Bromatología, situado en la Finca Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, Recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas de 01° 06´ de latitud Sur y 79° 29´ de longitud Oeste. A una altura de 120msnm. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad físico, química y microbiológica de la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) de cacao Nacional. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), con 4 repeticiones. Se utilizaron dos variedades de residuos de cacao (secado y tamizado) y 3 concentraciones (2gramos, 3 gramos y 4 gramos), adquiriendo un total de seis interacciones. Para la comparación entre media se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Las variables físico-químicas medidas fueron: pH, humedad, grasa, ceniza total y ceniza insoluble; microbiológicas: <i>E. coli</i>/coliforme, aerobios totales, mohos y levaduras. Con relación a los análisis organolépticos color, olor y sabor. Se concluye que los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos y microbiológicos cumplen con los parámetros de las normas INEN 0620 de cacao soluble y 2392 de hierbas aromáticas, mientras que los análisis organolépticos según la escala de intervalos de color café, olor y sabor a chocolate presento el T6.</p>			

	<p>This research was just in the Association La Cruz, located at km. 14 of the Mocache – Jauneche way, enclosure La Cruz, Mocache Canton. It was conducted at the Laboratory of Food Science, located at the Experimental Farm Maria, State Technical University of Quevedo, located at Km 7 ½ Quevedo - El Empalme way, enclosure San Felipe, Mocache Canton, Province Los Ríos. It is among the geographical coordinates of 01o 06´ south latitude and west longitude 79o 29´. At a height of 120msnm. The aim of this study was to evaluate the physical chemical and microbiological quality of the infusion (nibs, husks and kernels) National cocoa. Completely randomized design (CRD) with 4 replications was used. Two varieties of cocoa waste (drying and screening) and 3 concentrations (2grams, 3 grams and 4 grams) were used, acquiring a total of six interactions. For comparison between average Tukey test ($p \leq 0.05$) it was applied. The physico-chemical measures variables were: pH, moisture, fat, total ash and insoluble ash; microbiological: <i>E. coli</i>/coliform, total aerobic, molds and yeasts. With regard to the organoleptic analysis color, smell and taste. It is concluded that the results of the physico-chemical and microbiological analyzes meet the parameters of the rules INEN 0620 cocoa soluble and 2392 aromatic herbs, while the organoleptic analysis according to the interval scale coffee color, smell and taste of chocolate presented the T6.</p>
Descripción:	
URI:	

INTRODUCCIÓN

Según La Asociación Nacional de Exportadores de Cacao – Ecuador (2015), el país exportó 260 mil toneladas métricas de cacao, de las cuales 87% equivalente 236 mil toneladas correspondió a exportaciones de granos, 12% equivalente a 23 mil toneladas métricas correspondió a semielaborados y un 0.8% para productos terminados (chocolates, barras, tabletas, coberturas, bombones) con 1.1 mil toneladas (1). Volumen que posiciona al país como el mayor productor de cacao fino con más del 70% de la producción mundial, cabe señalar que el cacao producido en Ecuador es reconocido a nivel mundial con la clasificación de “Cacao Fino de Aroma” (2).

Estadísticas que dan cuenta que Ecuador continúa siendo exportador de materia prima (granos), pese a que el cacao Nacional presenta ventajas competitivas por sus características organolépticas (toques florales, frutales, nueces, almendras, especias que lo hace único y especial); sabor y aroma cuyo origen genético se expresa en el grano, después de un correcto tratamiento post-cosecha, además de las condiciones naturales de suelo, clima, temperatura, luminosidad que convergen en las zonas productoras de cacao del país (1).

Si bien es cierto que Ecuador se destacó por producir cacao, la agro-exportación demanda de exigentes mercados de calidad, escenario que requiere de los productores ecuatorianos cuidadosos manejos de sus plantaciones y aprovechamiento de los residuales de cosecha para mejorar la productividad del cultivo.

Con respecto a los residuales, la cascarilla de cacao rodea al grano se obtiene a partir del descascarillado de la almendra está representa alrededor de 12% del peso de la almendra, es seca, crujiente y de color marrón. Estudios en otros países indican que la cascarilla de cacao tiene una importante actividad antioxidante, una de las formas eficientes de aprovechar las propiedades podría ser a través de su uso en la preparación de infusiones (3).

Expertos en la fabricación de productos con base en cacao, determinan que el rendimiento de 100 Kg de semillas de cacao seco equivale al 85%, su valor restante (15%) es considerado desechos. De estos desechos, la cascarilla de cacao representa el 12% (4).

En el Centro de Acopio La Cruz, se receiptan 3000 quintales/año de cacao en baba de los cuales se deriva 2,7 toneladas métricas de residuales es decir 60 quintales de residuos no aprovechados, ocasionan pérdidas que disminuyen la eficiencia productiva de la cadena agroalimentaria.

La presente investigación dará respuesta tecnológica a la problemática de subutilización de los residuales del proceso de secado de cacao fino de La Asociación de Productores La Cruz en el municipio de Mocache.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

El deficiente aprovechamiento de residuos de post cosecha de cacao Nacional, genera procesos de contaminación y pérdidas económicas, escenario que posibilita transformar dicha materia prima en un nuevo producto de calidad para consumo humano.

Diagnóstico.

El proceso de acopio y secado semi tecnificado del cacao Nacional deriva volúmenes significativos de nibs, cascarilla y almendras, materia prima que no es aprovechada de forma eficiente para agregar valor a la Asociación de productores La Cruz, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos.

Pronóstico.

El residuo post cosecha del cacao Nacional genera residuos sólidos los cuales representan el 80% del producto no exportable, sino hay un adecuado manejo de materia prima está podría generar un impacto ambiental, otro aspecto es que los nibs, cascarilla y almendra no cumplan con las normas técnicas exigidas por lo cual afecta a la inocuidad de la infusión final.

1.1.2. Formulación del problema.

El deficiente aprovechamiento de nibs, cascarilla y almendras de cacao ocasiona pérdidas económicas y afectación ambiental al Centro de Acopio La Cruz, revertir esta problemática mediante procesos de transformación e innovación tecnológica para producir una infusión posibilitará mejorar la sostenibilidad de los sistemas de producción, acopio y comercialización de la organización.

1.1.3. Sistematización del problema.

Para que Ecuador pueda competir en mercados internacionales, debe aprovechar las ventajas de la calidad del cacao Nacional, mediante procesos de innovación tecnológica que

potencien el uso de nibs, cascarilla y almendras (residuales en el secado y tamizado del cacao) para elaborar una infusión con sabor tradicional a cacao.

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo General.

Evaluar la calidad físico química y microbiológica de infusión (nibs, cascarilla y almendras) de cacao Nacional en la Asociación La Cruz.

1.2.2. Objetivos Específicos.

1. Determinar las características físico-químicas de la infusión de cacao Nacional.
2. Analizar pruebas sensoriales de infusión con base en el residuo (nibs, cascarilla, almendra) de cacao Nacional.
3. Cuantificar la carga microbiológica (Mohos y levaduras, Aerobios totales, *E. coli*) a la infusión de cacao.
4. Calcular mediante estudio económico el costo de elaboración de una infusión de cacao.

1.3. Justificación.

La presente investigación permitirá contribuir con información técnica como una alternativa para resolver el problema del no aprovechamiento de una importante materia prima del secado de cacao Nacional, como son: (nibs, cascarilla y almendras), ya que no son transformadas o procesadas en un producto de consumo humano. De manera que, la presente investigación aportará con la generación de tecnologías a La Asociación La Cruz, los cuales no cuentan con la información científica sobre el aprovechamiento de 60 quintales al año de materia prima residual para la elaboración de una infusión orgánica.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

Cacao Nacional.

En el Ecuador existe un tipo de cacao único en el mundo conocido con el nombre de cacao Nacional, caracterizado por tener una fermentación muy corta (5), excelente calidad, aroma floral y sabor excepcional, lo que da un chocolate suave de sabor y aroma, por lo que es reconocido internacionalmente con la clasificación de "Cacao Fino de Aroma" (2).

Almendra de cacao.

Se les llama vulgarmente habas o granos de cacao. Ricas en almidón, en proteínas, en materia grasa, lo cual les confiere un valor nutritivo real (6).

Nibs.

El proceso de separación de nibs y cascara es conocido como Winowing, por medio de aire y de diferentes tamices, hay una separación de la cascara; después de este proceso el cacao se llama nibs, que significa pequeñas partes de cacao (7).

Cascarilla de almendra de cacao.

Se entiende por cascarilla del cacao a la parte externa o las cascara del grano de cacao limpias que se encuentren en perfecto estado de conservación y contiene entre 2,85 a 3,14% de grasa en relación con el 30% a 50% del cacao. Es de color marrón, sabor y olor a cacao y de textura quebradizo (8).

Calidad de la almendra de cacao.

La calidad del cacao es uno de los aspectos de mayor importancia en el proceso productivo cacaotero y el nivel que se logre conseguir de la misma, determinará la mayor o menor demanda que tenga en el mercado el producto final (9).

Residuos orgánicos.

Aquellas materias derivadas de actividades de producción y consumo que no han alcanzado ningún valor económico (10).

Evaluación organoléptica.

La industria de los alimentos tiene en la evaluación organoléptica una herramienta que permite valorar la percepción del consumidor de un producto como un todo o de un aspecto específico, sin embargo, es intrínsecamente subjetiva debido a su dependencia de los sentidos humanos (11).

Hierbas aromáticas.

Las hierbas aromáticas comprenden ciertas plantas o partes de ellas (raíces, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas (aceites esenciales) y que, por sus aromas y sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones (12).

Infusión.

El introducir una funda de hierbas aromáticas, frutos, té para extraer sus sustancias orgánicas solubles en una tasa de agua hirviendo se considera una infusión (13).

2.2. Marco referencial.

Historia del cacao.

El cacao es una planta originaria de los trópicos húmedos de América del Sur. El centro de su origen parece estar situado en el noroeste de América del Sur, en la zona alta amazónica. Cuando los españoles llegaron América encontraron el cacao en México, importante centro de dispersión de la especie. Los aborígenes lo usaban desde tiempos remotos para hacer bebidas y como alimento mezclado con algunas especies (14).

Los genotipos encontrados en Centro América y la costa de México, tiene más parecido al cacao Fino de Ecuador. La mayoría de los genotipos de tipo Criollo se encuentran en las costas del Pacífico, desde las costas de Perú, Ecuador, Colombia, Panamá y Centro América hasta México, donde posiblemente fue domesticado (14).

En casi todos los países en desarrollo, la agricultura desempeña una función central como eje económico y social, la actividad agroindustrial del cacao genera gran monto de residuos, de aproximadamente 90% del peso total del producto cosechado. En el caso cacao sólo se aprovecha económicamente el grano que corresponde alrededor de un 10 % del peso del fruto fresco, en el cladodio de tuna solo se aprovecha el mucílago equivalente al 10% del peso total (15).

Durante casi un siglo el orden socioeconómico ecuatoriano se desenvolvía en gran medida en torno al mercado internacional del cacao, por eso el cacao es uno de los más significativos símbolos de nuestro país, Ecuador ostenta superioridad, más del 70% de la producción mundial del cacao fino de aroma se localiza en estas tierras convirtiéndose así en el mayor productor de cacao fino o de aroma del mundo (8). Esto ha generado una fama importante y favorable para el país.

Durante los tiempos coloniales se establecieron diversas preparaciones para el cacao en Venezuela, como el cerrero que se lo consumía especialmente en el campo y hasta como sustituto del agua, consistía en la preparación básica de cacao y agua, sin azúcar, ni especias, así también como el chorote, algo más elaborado, muy común en las ciudades se preparaba

a partir del cacao molido y tostado, se hierva y desgrasa, el producto obtenido se endulza con azúcar (16).

Variedades de cacao.

El cacao se divide según su genética en 3 grupos: Criollos, los cuales dominaron el mercado hasta mediados del siglo XVIII, actualmente existen pocos árboles criollos puros; los Forasteros, que contiene variedades cultivadas así como semi-silvestres y silvestres y el que se destaca es el Amelonado por ser la variedad más cultivada; los Trinitarios, que son considerados como Forasteros, son una mezcla de los Criollos y Forasteros, esta variedad fue cultivada en Trinidad y esparcida a Venezuela hasta llegar a Ecuador. (17).

A nivel mundial en el cacao en grano se reconoce 2 categorías: cacao “fino o de aroma” y el cacao “al granel” o “común”; el cacao fino o de aroma es originado por árboles de cacao de variedad Criollo o Trinitario, mientras que el cacao al granel proviene de la variedad de árbol Forastero; existen particularidades, en Ecuador los árboles de cacao Nacional, considerados de variedad Forastero, producen cacao fino o de aroma, otra excepción en Camerún el cacao producido por árboles de variedad Trinitario es considerado cacao común; el 95% de la producción mundial anual es cacao al granel, el cual se produce en su mayor parte en el África, Asia y Brasil; mientras que el 5%, corresponde a cacao fino o de aroma, cuyas características especiales de aroma y sabor son atractivas para los fabricantes de chocolates de alta calidad (17).

Clones de cacao Nacional.

La Estación Experimental Tropical Pichilingue del INIAP, dispone de clones de cacao cuya conducta ha sido evaluada, donde se localizan las principales zonas cacaoteras del país, el interés creciente por la explotación del cacao, en los sectores de escasa tradición cacaotera y ambiente poco amigable para el cultivo por sus características del suelo y climáticas plantea inquietud a los productores sobre el comportamiento de los clones (18).

Así, una rigurosa selección fenotípica, basada en los caracteres de producción y resistencia a enfermedades, tuvo lugar en varias fincas cacaoteras de la zona central, y el producto fue

un grupo de seis clones comerciales (EET-19, EET-48, EET-62, EET-95, EET-96, y EET-103) que son distribuidos desde 1978 (18).

Los clones EET-544 y EET-558 en la zona de Chongón, los clones EET-575 y EET-103 en la zona de Bourbon y los clones EET-544, EET-575 y EET-103 en la zona de Calceta, presentan rendimientos superiores, similares o cercanos al cultivar CCN-51. Los mejores clones en la zona de Naranjal son el EET-559 y EET-103 pero rinden 1/3 menos que el CCN-51. Sin embargo, la brecha en ingresos que puede producir esta diferencia puede verse disminuida por los premios que puede capturar la exportación directa de cacao Nacional por parte de productores organizados. Definitivamente en la zona de Valencia el clon CCN 51 muestra una productividad claramente superior a cualquier clon de cacao Nacional (19).

Usos del cacao.

Las semillas de cacao consiguen obtener varios productos como el cacao en grano tostado, además de los cuatro sub productos como el licor de cacao, manteca de cacao, pasta de cacao, cacao en polvo y el chocolate como producto terminado; el mercado que absorbe la producción de cacao a nivel mundial es la industria chocolatera, sin dejar atrás el uso de productos como: el polvo y la manteca de cacao (20).

Dentro de los sub productos del cacao se destacan los siguientes:

El licor de cacao: A partir de un proceso de molienda se obtiene una pasta fluida, que se utiliza como materia prima en la producción de chocolates y como bebida alcohólica; si se somete a un proceso de prensado puede convertirse en manteca que sería la materia grasa del cacao conocido también como aceite de Theobroma que es usado en la producción de cosméticos, farmacéuticos, tabaco. Torta: Es la fase sólida del licor de cacao se utiliza en la elaboración de chocolates. Polvo: La pasta fluida al ser pulverizada se convierte en polvo de cacao (20). El cacao en polvo se usa básicamente para dar sabor a galletas, helados, bebidas y tortas, se usa en la fabricación de coberturas para confitería y en postres congelados, el cacao en polvo se consume en la industria de bebidas, por ejemplo, en la preparación de batidos de chocolate (21).

Los productos derivados de un proceso de industrialización o elaboración artesanal del cacao en grano se los considera elaborados del cacao. Por lo general, se refiere al chocolate, que puede ser: barras, tabletas, bombones, coberturas, blanco, en polvo, relleno, y un sinnúmero de manufacturas más, obtenidos a partir de mezclas con otros productos o frutos secos (20).

Valor nutricional de la cascarilla de cacao.

La cascarilla de cacao nutricionalmente aporta como todo alimento con macronutrientes (proteína, carbohidratos, lípidos) y micronutrientes (vitaminas y minerales). Este residuo agro industrial se considera como una fuente baja de energía debido a que presenta niveles de energía digestible menor a 2500 Kcal/Kg; que es la base de la fibra para la nutrición animal (8).

Expertos en la fabricación de productos a base de cacao, determinan que el rendimiento de 100 Kg de semillas de cacao es alrededor de 85%, siendo el valor restante considerado como residuo. De estos residuos, solo la cascarilla de cacao corresponde al 12%. Dentro de sus límites nutricionales se encuentra el contenido de teobromina 1%, la que muchas veces puede restringir su uso para el consumo (8).

Efectos antioxidantes del cacao.

El consumo de cacao, y de chocolate, posteriormente, se lo asocia como beneficios a la salud, tales como la fortaleza, vigor sexual, resistencia al trabajo duro y a las bajas temperaturas, y muchos otros beneficios, aunque, inicialmente, sin un beneficio científico probado (22).

Fermentación del grano de cacao.

Después de extraer los granos de los cascarones o conchas de mazorcas, se someten a un proceso especial que determina su transformación en un producto comercial con los requisitos requeridos para la fabricación de un producto con las características exigidas por los consumidores de chocolates (23).

Existen algunos métodos para fermentar el cacao, tales como:

a. Cajones de madera a un nivel.

Comúnmente son de forma rectangular u se construyen con tablas resistentes de 2 a 2.5 centímetros de grueso y entre 20 y 25 centímetros de ancho. La longitud de estos cajones debe permitir que se les subdivida en dos o tres secciones con tablas removibles que faciliten el volteo de los granos (23).

b. Cajones en escalera.

En este caso los cajones se acomodan por lo general en tres niveles como si fueran una escalera, con el fin de facilitar el volteo de los granos, ya que las tabletas del frente son removibles. El cacao extraído de las mazorcas se deposita en el primer cajón de arriba, de aquí pasa al cajón de medio y finalmente al nivel inferior hasta cuando sale al secado (23).

c. Bandeja o camilla sistema Rohan.

Consta de un marco de madera que mide corrientemente 1.20 metros de largo, 0.90 centímetros de profundidad. El fondo se hace de tablillas separadas por ranuras que dejan escurrir las exudaciones de las almendras (23).

Secado del grano de cacao.

El secado tiene como finalidad reducir el contenido de humedad en las almendras fermentadas, del 60% con que se inicia el proceso a un valor de 7% o si se quiere asegurar buenas condiciones de conservación (24).

El secado artificial produce la principal transformación del grano en la post cosecha y a su vez es el procedimiento que más atención requiere para no afectar la calidad, de la energía utilizada en el proceso de producción de granos, tomando en cuenta factores de calidad y consumo energético, se puede apreciar la importancia que adquiere su correcta realización. Los objetivos principales del secado son: reducir la humedad de cosecha de los granos y semillas a niveles seguros para el almacenamiento y óptimos para su comercialización. Secado significa la remoción de cantidades de agua de determinado material, la cual se elimina en una mezcla de aire-vapor de agua (4).

Para el fabricante, la evaluación sensorial es la única prueba confiable para determinar si puede utilizar determinado cacao para sus productos. Esta prueba permite medir, analizar e interpretar reacciones de las características de los alimentos, los cuales son percibidos por los sentidos de la vista, olfato y gusto es decir sabor y aroma (25).

La fermentación y el secado, son etapas muy importantes en el beneficio del cacao, (*Theobroma cacao L*). en la primera etapa se producen reacciones bioquímicas que causan una disminución del amargor y de la astringencia que dan origen a los precursores del aroma y sabor a chocolate (26)

Tamizados del cacao.

El tamizado es una operación unitaria que se encarga de separar partículas sólidas de acuerdo al tamaño, para esto se utilizan mallas o placas perforadas estas son elaboradas de tela metálica, telas de seda o plástico y barras metálicas (27).

El tamizado consiste en el paso de partículas a través de esta en donde las partículas finas pasan mientras que las gruesas son retiradas por la malla o placa entre los equipos utilizados se puede encontrar entre los equipos de placas estacionarias, vibratorios, giratorios y centrífugos (27).

Tostado de cacao.

El tostado de los granos o de los nibs (granos tostados y molidos) es realizado a temperaturas entre 100 y 150°C durante 20 a 40 minutos, a continuación del tostado las almendras son enfriadas por ventilación para detener las reacciones térmicas y conservar su aroma; el tostado se conduce a la disminución de la humedad de granos desde 6% - 7% a 2,5%, a la eliminación parcial del ácido acético y el desarrollo de los compuestos aromáticos. Los precursores formados durante la fermentación y el secado son los que participan en la formación de este aroma termino, las principales reacciones químicas que se desarrollan durante el tostado son: las reacciones de Maillard, la caramelización de los azúcares, la degradación de las proteínas y la síntesis de compuestos azufrados (28).

Separación de embriones y aventado de cacao.

La cantidad de testa (cutículas de las almendras) que hay en el cacao tostado es alrededor de 12% y con 1% de embriones. Se separan de los cotiledones, primeramente, quebrando las almendras para formar gránulos y luego pasando estos a través de un cilindro que gira y que está provisto de una serie de tamice clasificadores. Lo que queda se somete a una corriente de aire, el cual por succión quita las testas (29).

Molido del cacao.

En esta etapa del proceso el nibs se muele para transformarlo en pasta de cacao. Por lo general, se utilizan molinos de pistones (pines) que muelen los granos hasta alcanzar una finura aproximada el 90%. Durante este proceso se libera la manteca de cacao y se funde como resultado de la elevación de la temperatura por la fricción, el producto resultante que es todavía grosero y se deberá reducir en una molienda posterior. La función de la segunda molienda es el aumento de la finura de la pasta hasta el 99% aproximadamente. Para este proceso son comunes los molinos de bolas; estos molinos tienen un cuerpo de trituración que gira y está relleno con bolas o cilindros trituradores. La temperatura que alcanza la pasta en esta etapa esta entre 65 y 70°C (30).

Extracción de grasa de cacao.

La masa o licor de cacao pasa luego a prensas; en esta etapa es cuando se separa la grasa de la masa o licor hasta el porcentaje deseado y el residuo que se forma durante este proceso es lo que constituye la torta de cacao. Para producir la torta con diversas proporciones de grasa, el fabricante controla la cantidad de manteca que se extrae del licor. La torta se pulveriza con la finalidad de preparar el polvo de cacao, el cual tiene un uso de muy amplio en la industria alimentaria (21).

Proceso de obtención de infusión.

El proceso para la obtención de la infusión general, se demuestra en el diagrama de flujo propuesto en la (Figura 1).

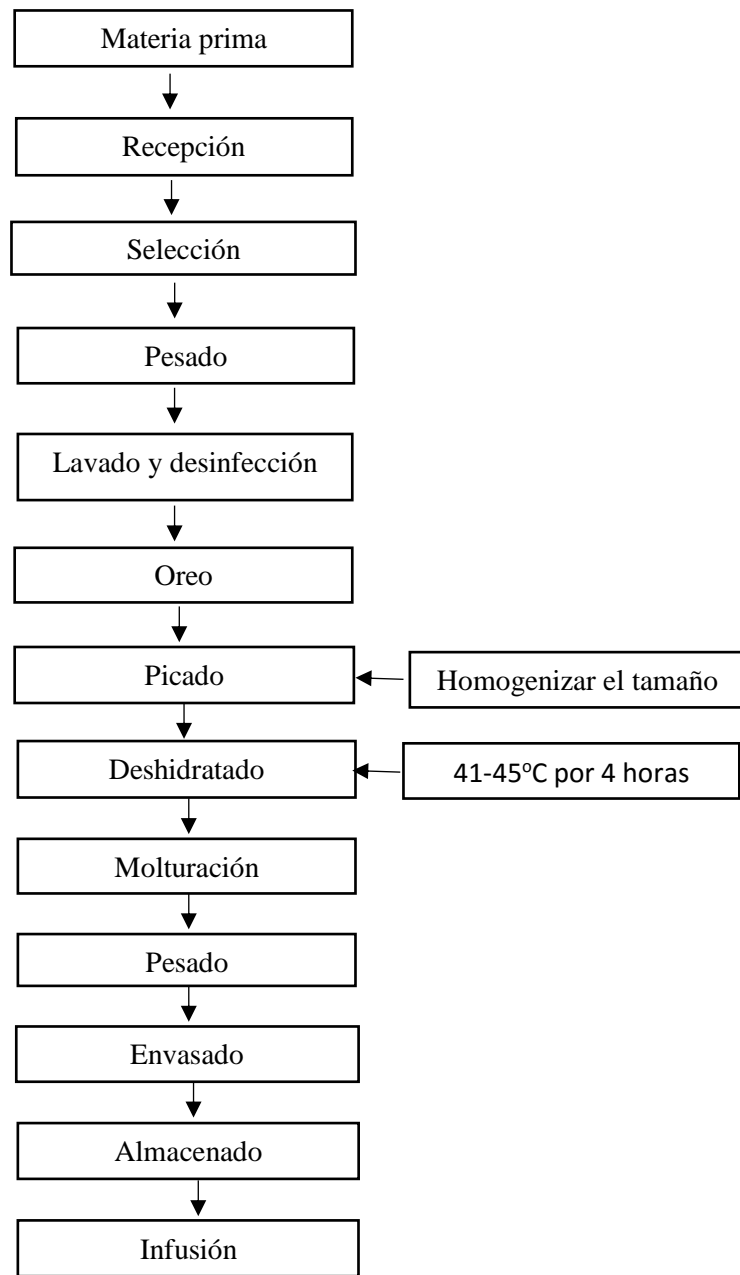


Figura 1. Diagrama de flujo para la obtención de infusión.

Envasado de plantas aromáticas en bolsitas.

Consideraciones generales: El uso de estos materiales en la producción, es de gran importancia para el correcto funcionamiento de las envasadoras, para alcanzar un mayor rendimiento, con una merma poco significativa del material de producción (31).

Papel filtro: su cara exterior será termo sellable, con un peso de 16 a 17 g por m²; se utilizarán bobinas con un diámetro interior de 75 mm y exterior máximo de 500 mm, con un ancho de 125 mm (31).

Hilo: Se utilizará hilo #16, debe ser color blanco y en lo posible sin nudos, es de importancia que el hilo responda a torsión “Z” (31).

Etiquetas: Las etiquetas serán fabricadas en papel monolúcido de 70g/m² (31).

Adhesivos sintéticos: Es recomendable emplear una dispersión de acetato de polivinilo de secado rápido (31).

Estuches para envasadora: Serán elaboradas en cartulina blanca forrada, de primera calidad, de 290 g/m², el espesor será de 0.4 mm (31).

Almacenamiento de bolsitas de infusión.

Para el almacenamiento de bolsitas de infusión, el sitio debe ser inocuo, ventilado por aire seco y sombreado, con una humedad relativa de 45% y una temperatura de 22°C, preservándolas de la luz solar y del polvo y en lo posible evitar la presencia de olores ajenos al mismo (31).

2.3. Marco Legal

Caracterización físico química y microbiológica de la infusión de nibs, cascarilla y almendra de cacao.

La caracterización físico química y microbiológica de la infusión de cacao nibs, almendras y cascarilla de cacao, se realizarán mediante los métodos de análisis estándar que se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros físico químico y microbiológico y norma.

Parámetro físico químico y microbiológico	Norma
Humedad, %	NTE INEN 1676
Cenizas totales, %	NTE INEN 533
Cenizas insolubles en HCl, %	NTE INEN 532
Grasa, %	TAC/004
Ph en suspensión al 10%	*
Aerobios totales ufc/g	PLACAS PETRIFILM
<i>E. coli</i> /Coliformes ufc/g	PLACAS PETRIFILM
Mohos y levaduras upc/g	PLACAS PETRIFILM

Fuente: NTE INEN 0620.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

Se obtuvo las muestras de la investigación en la Asociación La Cruz, ubicada en el km. 14 de la vía Mocache – Jauneche Recinto La Cruz, Cantón Mocache. La investigación se realizó en el Laboratorio de Bromatología, situado en la Finca Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicada en el Km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, Recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. Se encuentra entre las coordenadas geográficas de 01° 06’ de latitud Sur y 79° 29’ de longitud Oeste. A una altura de 120 msnm.

3.2. Tipos de investigación.

Se plasmó una investigación Exploratoria, Descriptiva y Experimental; puesto que no se ha encontrado datos sobre la elaboración de infusión a base de nibs, cascarilla y almendra de cacao.

3.2.1. Investigación Exploratoria.

La investigación preliminar en la que se realizó la observación de los elementos, que se efectuó con el propósito de recalcar los aspectos principales de una problemática determinada y halló los precedentes apropiados para elaborar una investigación.

3.2.2. Investigación Descriptiva.

La investigación descriptiva, también conocida como investigación estadística, describe los datos y características de la población o fenómeno en estudio. La Investigación descriptiva responde a las preguntas: quién, qué, dónde, porque, cuándo y cómo.

Mediante este tipo de investigación se utilizó el método de análisis, se logró categorizar un objeto de estudio o una situación concreta, señaló sus características y propiedades, sirvió para ordenar, agrupar o sintetizar los objetos involucrados en el trabajo. Esta investigación se empleó en la elaboración del marco teórico y del producto.

3.2.3. Investigación Experimental.

Esta investigación fue experimental porque establece relaciones causa y efecto para confirmar la autenticidad o falsedad de las hipótesis que tiene esta investigación. Esta investigación se utilizó en la elaboración de variables y del diseño experimental.

3.3. Método de investigación.

En la investigación los métodos a utilizarse son los siguientes:

3.3.1. Método inductivo – deductivo.

Se empleó este tipo de investigación, buscando darle solución partiendo de un problema, el mismo que nos permitió obtener una tecnología adecuada para la obtención de nibs, cascarilla y almendras de cacao Nacional.

3.3.2. Métodos estadísticos.

Con la ayuda de un software, se cuantificó, se tabuló y ordenó los datos obtenidos mediante análisis, los mismos que permitieron encontrar los resultados.

3.4. Fuentes de recopilación de la investigación.

La presente investigación de utilización de nibs, cascarilla y almendras del cacao fino de aroma para obtener infusión, se utilizó las siguientes fuentes:

Consultas directamente a la fuente, expertos.

Trabajo directamente al campo.

Investigación en el laboratorio.

Revisión bibliográfica.

Internet.

3.5. Diseño de la investigación.

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA), con 6 tratamientos, 4 repeticiones como unidad experimental se consideró envases de tela 1 kg. Para la comparación de las medias de los tratamientos se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$).

Nota: se realizaron pruebas experimentales preliminares en el laboratorio de bromatología y se definieron los tratamientos. Tabla 2.

Tabla 2. Esquema del ANDEVA.

Esquema del andeva		
FV		GL
Tratamientos	$t - 1$	5
Error experimental	$t * (r - 1)$	18
Total	$t * r - 1$	23

3.5.1. Tratamientos en estudio

Los tratamientos mencionados en la Tabla 2, se muestran a continuación:

T₁ = Nibs, cascarilla y almendra del secado; 2 gramos.

T₂ = Nibs, cascarilla y almendra del secado; 3 gramos.

T₃ = Nibs, cascarilla y almendra del secado; 4 gramos.

T₄ = Nibs, cascarilla y almendra del tamizado; 2 gramos.

T₅ = Nibs, cascarilla y almendra del tamizado; 3 gramos.

T₆ = Nibs, cascarilla y almendra del tamizado; 4 gramos.

3.5.2. Esquema del experimento.

A continuación, se plantea el esquema del experimento con los tratamientos, repeticiones y unidades experimentales, se detalla en la Tabla 3.

Tabla 3. Esquema del experimento con los tratamientos, repeticiones y unidades experimentales.

Tratamientos	Repeticiones	Unidad experimental 1 kg	Subtotal
T1	4	1	4
T2	4	1	4
T3	4	1	4
T4	4	1	4
T5	4	1	4
T6	4	1	4
Total			24

3.5.3. Modelo matemático.

Las fuentes de variación para este ensayo se efectuaron con un modelo de experimentación simple cuyo esquema es el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + T_i + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

y_{ijkl} = El total de una observación.

μ = Valor de la media general de la población.

T_i = Efecto “i-esimo” del tratamiento en estudio.

ϵ_{ijk} = Efecto aleatorio o error experimental.

3.6. Instrumentos de la investigación.

Los instrumentos de la investigación aplicarse el presente experimento serán las siguientes:

Análisis físico – químicos.

Humedad.

Grasa.

Cenizas totales.

Cenizas insolubles.

pH.

Análisis microbiológico.

Aerobios totales.

Escherichia coli/Coliforme.

Mohos y levaduras.

Análisis organoléptico.

Color.

Olor.

Sabor.

Análisis Económico.

Costo de producción.

3.7. Procedimiento experimental.

A continuación, se presenta el diagrama de flujo de la elaboración de la infusión (nibs, cascarilla y almendra), se demuestra en el diagrama de flujo propuesto en la (Figura 2).

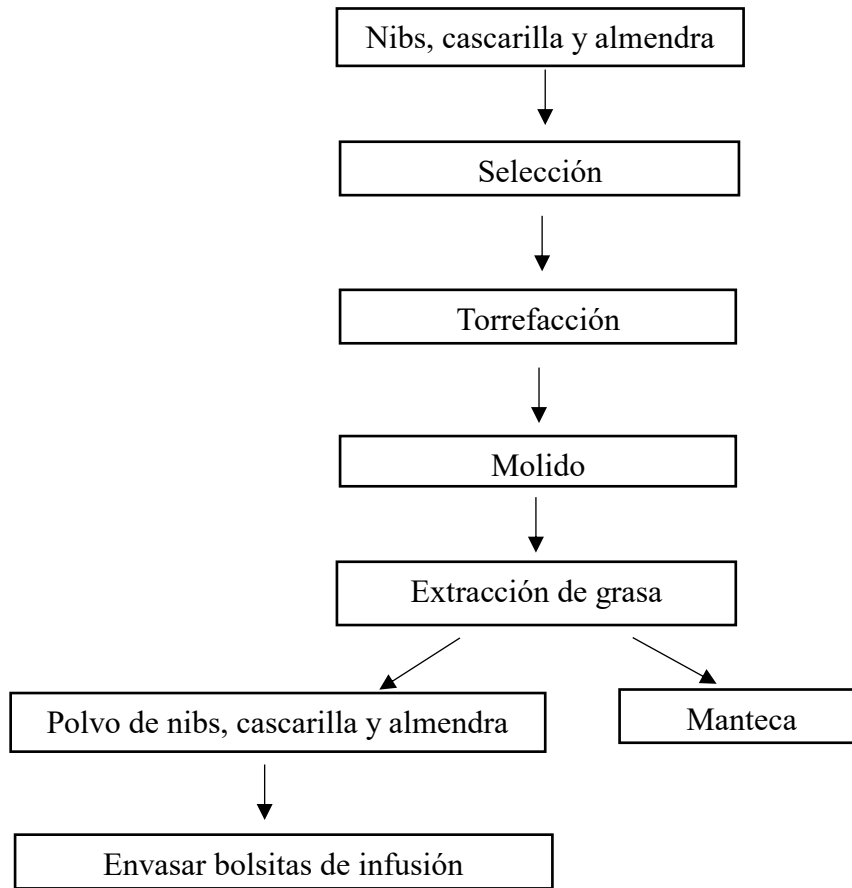


Figura 2. Diagrama de flujo obtención de infusión de nibs, cascarilla y almendra.

3.7.1. Descripción del proceso.

Recepción: las muestras de nibs, cascarilla y almendras, se obtuvieron en la Asociación La Cruz, de dos procesos post cosecha de secado y tamizado.

Torrefacción o tostado: Los granos de cacao fueron colocados en una paila de bronce, a temperatura de 85 - 110°C, durante 10 minutos hasta que se observó una cubierta crujiente.

Molido: El molido del nibs, cascarilla y almendra, se realizó a través de un molino manual hasta que quede una pasta.

Extracción de grasa: La pasta se la ingresó a un prensador de cacao, quedando así por separado el polvo y la manteca de los residuos (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

Envasado: Se envasó el polvo de nibs, cascarilla y almendra de cacao en bolsitas de infusión.

Almacenamiento: Se almacenó las bolsitas de infusión con el polvo de nibs, cascarilla y almendra a temperatura ambiente, en un lugar seco.

3.7.2. Descripción de los análisis físico químicos.

pH.

En suspensión al 10%.

Humedad.

La NTE INEN 1676, la determinación se efectuó por duplicado sobre la muestra fraccionada en trozos finos y convenientemente homogenizado, tarar con aproximadamente al 0,1 mg el crisol de porcelana previamente lavados y desecados, en el crisol de porcelana se colocó 10 g de muestra y pesó el conjunto, se ubicó el crisol de porcelana con su contenido en la estufa a $130^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 2 horas, enfrió en el desecador y se pesó. El contenido de humedad de los productos derivados del cacao se determinó mediante la ecuación siguiente:

$$H = 100 * \frac{m - m_1}{m}$$

Siendo:

H = humedad en porcentaje de masa;

m = masa inicial de la muestra a analizar, g.

m₁ = masa de la muestra después del secado, g.

Grasa.

Según la técnica de análisis determinación de grasa por el método de Golfish, se realizó por duplicado sobre la misma muestra preparada, los vasos beakers en la estufa a $100^{\circ}\pm\text{C}$, por

una hora, se transfirió al desecador y pesó cuando alcanzó temperatura ambiente, pesó la muestra sobre papel filtro y colocó en el interior del dedal, se taponó con suficiente algodón hidrófilo, luego introdujo en el porta dedal, se colocó el dedal y su contenido en el vaso beaker, se llevó a los ganchos metálicos del aparato de Golfish, adicionó en el vaso beaker 40 ml de solvente al mismo tiempo abrir el reflujo de agua, se colocó el anillo en el vaso y se llevó a la hornilla del aparato Golfish se ajustó el tubo refrigerador del extractor, levantó las hornillas y graduó la temperatura a 55°C, cuando existe sobre presión abrir las válvulas de seguridad 2 o 3 veces, el tiempo óptimo para la extracción de grasa es de 4 horas mientras tanto se observó que éter no se evaporó caso contrario se coloca más solvente, termina la extracción se baja con cuidado los calentadores, se retiró momentáneamente el vaso con el anillo, sacó el porta dedal con el dedal y colocó el vaso para recuperar el solvente, se levantó los calentadores, se dejó hervir hasta que el solvente este casi todo en el vaso de recuperación, sin quemar la muestra, se bajó los calentadores, retiró los beaker con el residuo de grasa, el solvente se transfirió al frasco original, el vaso con la grasa se llevó a la estufa a 105°C hasta que se completó la evaporación del solvente por 30 minutos, se colocó los vasos beaker que contiene la grasa, durante 30 minutos en la estufa calentada a 100±5°C, se enfrió hasta quedar a temperatura ambiente en desecador, se pesó y calculó.

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} * 100$$

Siendo:

G = porcentaje de grasa;

W₀ = peso de la muestra;

W₁ = peso del vaso beaker vacío;

W₂ = peso del vaso más la grasa.

Ceniza total.

La determinación de cenizas totales, se según la NTE INEN 533, se efectuó por duplicado sobre la misma muestra preparada, en la capsula de porcelana previamente pesada con aproximadamente 0,2 mg, 10 g de muestra preparada, transfirió la capsula y su contenido a

la plancha de calentamiento y se calentó hasta que todo el agua sea eliminada y continuó el calentamiento hasta que no se observó dilataciones, se colocó la cápsula con los sólidos totales cerca de la puerta de la mufla abierta y mantuvo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material, que pudo ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la mufla, introdujo la cápsula en la mufla a $600^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, hasta que se obtuvo cenizas libres de partículas de carbón color gris, se sacó la cápsula con las cenizas, se dejó enfriar en el desecador y pesó con aproximación a 0,2 mg, se repitió la incineración por períodos de 30 min, enfrió y pesó, hasta que no hubo disminución en la masa, el contenido de ceniza total en la muestra, sobre base libre de azúcar seca y desengrasada, expresado en porcentaje de masa, se calculó mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{10000 m_1}{m 100 - (P + G + S)}$$

En donde:

C = cantidad de cenizas, en porcentaje de masa;

m_1 = masa de la ceniza, en g;

m = masa de la muestra tomada para el ensayo, en g;

P = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa en la muestra;

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa en la muestra;

S = azúcar, en porcentaje de masa en la muestra.

Ceniza insoluble.

Se adicionó a la ceniza contenida en la cápsula de ensayo, que se anota en la Norma INEN 532, 25 cm³ de la solución de ácido clorhídrico, se cubrió el recipiente con un vidrio de reloj y calentó en un baño de agua por 5 minutos, enfrió y filtró el contenido de la cápsula a través de un filtro sin cenizas, se lavó el papel filtro con agua caliente, hasta que los líquidos de lavado no presentaron reacción ácida, llevó el papel filtro y el residuo nuevamente a la cápsula, se calentó en una estufa a $135^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante aproximadamente 3 horas, y luego se calcinó en una mufla a $600^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por una hora, se enfrió en un desecador y se pesó, se repitió la incineración por períodos de 30 minutos en la mufla, enfriando y pesando hasta

que no hubiera disminución en la masa. El contenido de ceniza insoluble en ácido en la muestra, sobre base libre de azúcar seca y desengrasada, expresado en porcentaje de masa, se calculó mediante la expresión siguiente:

$$Cia = \frac{10000 m_1}{m 100 - (P + G + S)}$$

Siendo:

C i a = ceniza insoluble en acido, en porcentaje de masa;

m₁ = masa de la ceniza insoluble en ácido, en g;

m = masa de la muestra tomada para la determinación de ceniza total, en g;

P = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa en la muestra inicial;

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa en la muestra inicial;

S = azúcar, en porcentaje de masa en la muestra inicial.

3.7.3. Descripción del análisis microbiológico.

Escherichia coli/Coliforme.

Se preparó una dilución de la muestra del alimento, añadió agua de peptona al 0.1%, homogenizó la muestra mediante los métodos usuales, se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada, se levantó la película superior y con la pipeta se aplicó 1 ml de la muestra en el centro de la película inferior de la placa, se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire; con el lado liso del dispersor se colocó en la película superior del inóculo, se presionó el dispersor suavemente para distribuir el inóculo sobre el área circular, se levantó el dispersor y se esperó por lo menos 1 minuto que el gel se solidifique; se incubó las placas 24 horas ± 2 horas a 35°C ± 1°C, las placas Petrifilm se calcularon en un contador de colonias estándar de lupa con luz.

Aerobios totales.

Se preparó una dilución de la muestra del alimento, se añadió agua de peptona, homogenizó la muestra mediante los métodos usuales; para la siembra se acomodó la placa Petrifilm en una superficie plana y levantó el film superior, pipeteó 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior, sin que se tocará el film mientras se pipetea; se debió soltar el film superior y dejarlo caer; se colocó el aplicador en el film superior bien centrado en el inóculo, el aplicador se usó con la cara rebajada hacia abajo; se aplicó presión suave sobre el aplicador para que se distribuyera el inóculo por toda la zona circular; se levantó el aplicador y esperó 1 minuto para que se solidifique el gel; se incubó las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 10 placas, a $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 72 ± 2 horas; la interpretación, se leyó las placas usando contador de colonias, no se debió usar luz de fondo para la lectura de esta placa, sino con luz directa.

Mohos y levaduras.

Procedimiento de inoculación, se ubicó la placa de recuento rápido de levaduras y mohos sobre una superficie plana y nivelada, se levantó la película superior y con una pipeta se distribuyó 1 ml de muestra, se dejó caer la película de arriba sobre la muestra, se colocó el aplicador plano en el centro de la placa y se presionó firmemente en el centro de la barra de separación del aplicador para distribuir la muestra uniformemente, se alzó el aplicador de la placa y se dejó en reposo durante al menos 1 minuto para que solidifique el gel; las placas se debieron incubar de 25 a 28°C durante 48 ± 2 horas; se leyó los resultados de levaduras y mohos a las 48 horas.

3.7.4. Descripción de análisis organoléptico.

Para la evaluación se utilizó a un grupo de 10 panelistas, se proporcionó a cada uno información sobre la prueba, entregándose 6 muestras con aproximadamente 100ml con la numeración respectiva. Cada muestra tenía codificación, la cual se tomó de una tabla de números aleatorios (32). Para validar la aceptación de los tratamientos se evaluará las principales características organolépticas (color, olor, sabor) y se aplicará una prueba no paramétrica Kruskal Wallis, tales como:

Color.

Esta propiedad es la percepción de la luz de una cierta longitud de onda reflejada por un objeto; hay una infinidad de tonos en la naturaleza y otros que han sido desarrollados por los fabricantes de colorantes. El color tiene 2 características: el tono, la intensidad (32).

Olor.

Es la percepción, por medio de la nariz, de sustancias volátiles liberados en los objetos; en el caso de los alimentos y mayoría de las sustancias olorosas, esta propiedad es diferente para cada uno y no ha sido posible establecer clasificaciones o taxonomías completamente adecuada para los olores (32).

Sabor.

Este atributo es uno de los más complejos, ya que combina 3 propiedades: el olor, el aroma y el gusto. El sabor es lo que diferencia a un alimento de otro y no el gusto, ya que, si se prueba un alimento con los ojos cerrados y la nariz tapada, solamente se podrá juzgar si es dulce, salado, amargo o ácido (32).

Tabla 4. Valoración organoléptica en la infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

(Anexo 2)

Color	Olor	Sabor
Café	Chocolate	Chocolate
	Quemado	Quemado
	Otro	Otro

3.7.5. Descripción del análisis económico.

Costo primo.

El costo primo, se calcularon mediante la suma de los costos de materia prima directa (nibs, cascarilla y almendra) y mano de obra directa (operadores).

$$CP = MPD + MOD$$

Costo conversión.

El costo de conversión, la suma de mano de obra directa (operadores) y los costos indirectos de fabricación (equipo de protección).

$$CC = MOD + CIF$$

Costo de producción.

Los costos de producción, se calcula con la suma de los costos de materia prima directa, mano de obra directa y costo indirecto de fabricación.

$$CP = MPD + MOD + CIF$$

Costo total.

Costo total, se obtiene de la suma de los costos de producción (mano de obra directa, materia prima directa y costo indirecto de fabricación) y de costos de distribución.

$$CT = CP + CD$$

Precio de venta.

El precio de venta, se lo calculo con el costo total más el porcentaje de utilidad, en este caso será de 20%.

$$PV = CT + \% \text{ DE UTILIDAD}$$

3.8. Recursos humanos y material.

Tabla 5. Recursos utilizados en la investigación.

Materia Prima	Material	Equipo
Nibs, cascarilla y almendra de cacao Nacional	Mesa rectangular de acero inoxidable	Balanza analítica
	Molino manual	Extractor de grasa
	Bandejas	Estufa
	Piola	Mufla
	Cuchillo	Incubación
	Guantes	Autoclave
	Papel de infusión	Contador de colonias
	Placas Petri film	Agitador
	Matraz Erlenmeyer	Cámara fotográfica
	Tubos de ensayo	Computadora
	Pipetas	
	Mandil	
	Cofia	
	Mascarilla	
	Embudo	
	Desecador provisto de silica gel	
	Vasos de precipitación	
	Crisol de porcelana	
	Espátula	
	Pinza	

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis Físico Químicos.

Contenido de pH.

En la medición de la calidad físico/química de infusión de cacao (Tabla 6), en cuanto a la medición del pH fue significativa ($P \leq 0,05$), el T1 (secado con concentración de 2g de polvo soluble de cacao) fue superior con (7,33%) siendo significativas con los demás tratamientos (T2-T6) respectivamente. Estos resultados, concuerdan con las NTE INEN 620, que indica que el rango de pH debe estar entre 6,80% y 7,20% de cacao en polvo soluble; al respecto, Vizcarra (33) obtuvo un pH entre 4,22-4,28 en el uso de la cascarilla y exudado de mucilago de la almendra de cacao fino de aroma en la obtención de una bebida alcohólica, mismo que, es inferior a los obtenidos en el presente estudio, sin embargo, de acuerdo al análisis estadístico se puede concluir; que con un nivel de significancia del 5%, el método determino significancia en las infusiones aromáticas preparadas con tratamiento de secado y tamizado (T2-T6), por lo tanto, cualquiera de ellos puede ser reemplazado por otro.

Contenido de Humedad.

En la obtención de la calidad físico/química de infusión de cacao, la variable humedad (Tabla 6) en cuanto a la medición fue significativa ($P \leq 0,05$), muestra valores de 4,17 a 4,53%, encontrándose dentro del rango de NTE INEN 0620 de cacao en polvo soluble (6% máximo), mientras que la NTE INEN 2392 de hierbas aromáticas aprueba un máximo de 12%; valores superiores obtuvieron los investigadores Velez *et al.* (34) quienes evaluaron las semillas de borrojo y su potencial en la elaboración de una infusión, resultando valores de humedad de 5,70 a 7,29%, considerando que la humedad de estos productos pueden almacenarse por un periodo de 3 meses a temperatura ambiente, en botes de plástico bien sellados o en refrigeración el periodo puede prolongarse un poco más, considerando que la humedad favorece el desarrollo de hongos y otro tipo de microorganismos que afectan la calidad del producto; por otro lado, los parámetros físicos obtenidos en el presente estudio influyen en la selección de un determinado tipo de cacao, tales como el tamaño del grano, el porcentaje de cáscara, contenido de grasa, dureza de la manteca y la humedad Alvarez *et al.* (35), en este sentido, el contenido de humedad obtenido en los tratamientos con secado, fueron menores y con menor concentración de grasa, mientras que los obtenidos con tamizado, fueron superiores al promedio y con mayor porcentaje de grasa, favoreciendo el mejor perfil las muestras tamizadas. A pesar que es posible que la variación del porcentaje de humedad

de los productos tamizados sea el resultado de un proceso lento de elaboración, que las materias primas ya hayan absorbido humedad, un empaque deficiente, o incluso la humedad relativa del ambiente, ya que se trata de una zona tropical Sol *et al.* (36).

Contenido de Grasa.

El contenido de materia grasa presento diferencias ($p \leq 0.05$), el mayor contenido lo tuvo el T6 (tamizado 4g) con 26,22%, mientras que el T1 (secado 2g) tuvo el menor contenido de grasa; sin embargo, el T3 (secado 4g), T4, T5 y T6 (tamizado 2g, 3g, 4g) respectivamente, sobrepasaron la media (25,90%), así mismo, todos los tratamientos se encuentran dentro del rango permitido de grasa de la NTE INEN 620 que acepta desde 8 a 28% en cacao en polvo soluble; de acuerdo a Sol *et al.* (36) el contenido de materia grasa de 17,56 y 34,57%, puede indicar que son elaborados con almendras de cacao, si es elaborado con polvillos el porcentaje es intermedio de 7,71 a 10,20%.

Contenido de Ceniza Total.

El contenido de ceniza total (Tabla 6) fluctuó entre 5,06 y 4,42%, teniendo diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$), siendo superior T3 (secado 4g) y el menor el T6 (tamizado 4g); diversos factores influyen en el contenido de ceniza total, entre ellos el tipo de cacao y a su vez el contenido de minerales en las muestras obtenidas (secado y tamizado), características de suelo rico en minerales, manifestándose las muestras con mayor contenido de cenizas (secado) contengan algún ingrediente en mayor proporción; los resultados promedios de cenizas totales 4,76% están permitidos por la NTE INEN 620 de cacao en polvo soluble que aprueba con un máximo de 10%; contrariamente a lo expuesto por Sangronis *et al.* (37) quienes estudiaron la cascarilla de cacao venezolano como materia prima de infusiones encontraron contenidos de ceniza total entre 7 y 8%.

Contenido de Ceniza Insoluble.

El contenido de ceniza insoluble (Tabla 6), es necesario para determinar la adulteración del producto seleccionado, por tanto, las muestras obtenidas en los tratamientos de los residuos del tamizado T4, T5, T6 (2g, 3g, 4g) respectivamente fueron superiores, siendo significativas según la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$), de las muestras obtenidas del proceso de secado T1, T2, T3 (2g, 3g, 4g); los tratamientos tuvieron un promedio de 0,62% de ceniza insoluble, que al

ser comparados con los valores de la NTE INEN 0620 de cacao en polvo soluble, está permitido un máximo de 0,20%, mientras la NTE INEN 2392 de hierbas aromáticas, un máximo de 2%, por consiguiente los valores obtenidos está dentro de los límites establecidos e indica que dicha materia prima cumple con las especificaciones necesarias de calidad del producto seco, dejando en claro la no adulteración de la muestra de secado (1,09; 1,23; 0,99%; Tratamientos 1, 2 y 3) y para las muestras tamizadas (0,19; 0,16 y 0,06%; Tratamientos 4, 5 y 6).

Tabla 6. Datos de pH, humedad, ceniza total y ceniza insoluble de los 6 tratamientos para medir la cantidad físico química de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

Tratamiento	Código	pH	Humedad	Grasa	Ceniza Total	Ceniza insoluble
T1	Secado 2 g	7,33 a	4,17 b	25,18 d	4,62 b c	1,09 b
T2	Secado 3 g	6,96 b	4,15 b	25,77 c	4,80 A b	1,23 a
T3	Secado 4 g	6,73 b c	4,20 b	25,95 b	5,06 A	0,99 b
T4	Tamizado 2 g	6,95 b c	4,82 a	26,09 a b	4,83 A b	0,19 c
T5	Tamizado 3 g	6,69 c	4,52 a b	26,18 a	4,84 A b	0,16 c
T6	Tamizado 4 g	6,76 b c	4,53 a b	26,22 a	4,42 c	0,06 c
Promedio		6,90	4,40	25,90	4,76	0,62
CV (%)		1,72	4,73	0,25	3,18	9,26

*Los promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$).

4.2. Análisis Microbiológico

E. Coli / Coliforme.

En el análisis de *E. coli* / Coliforme no tuvo diferencias estadísticas significativas, no se encontró presencia alguna de unidades formadoras de colonias; estos resultados están dentro de los límites permisibles de la NTE INEN 620 de cacao en polvo soluble y la NTE INEN 2392 de hierbas aromáticas, donde dice que la *E. coli* como máximo debe presentar 1ufc/gr y coliforme 10 ufc/g máximo, indicando que el producto es de buena calidad para el consumo humano; estos resultados también concuerdan a lo expresado por Jerke *et al.* (38) en estudio microbiológico de yerba mate compuesta con el 15% de hierbas, donde se demostró ausencia de *E. coli*.

Aerobios totales.

El estudio de aerobios totales presento diferencia estadística significativa, el T2 (secado 3g) con $3,3 \times 10^5$ ufc/g con mayor presencia; mientras que T6 (tamizado 4g) presenta menor presencia con $4,1 \times 10^4$ ufc/g; entre tratamientos según la prueba Tukey ($P < 0.05$) con un promedio de $1,2 \times 10^5$ ufc/g y 9,85% el coeficiente de variación. Los resultados registrados en estudio mostraron que los tratamientos tuvieron un promedio de $1,2 \times 10^5$ ufc/g. Según la NTE INEN 2392 de hierbas aromáticas está permitido un máximo de 1×10^7 ufc/g. Estos resultados se ajustan a los observados por Sangronis *et al* (37) en la calidad microbiológica y ocratoxinas en las muestras 1, 3 y 4, de cascarilla de cacao, con valores $3,6 \times 10^4$, $2,7 \times 10^4$, $1,1 \times 10^4$.

Mohos y levaduras.

El análisis de mohos y levaduras (Tabla 7) presento diferencia estadística significativa, el T2 (secado 3gr) $3,3 \times 10^2$ ufc/g con mayor presencia. Mientras que T4 (tamizado 2g) presento ausencia de mohos y levaduras. Entre tratamientos según la prueba Tukey ($P < 0,05$). Con un promedio de $2,2 \times 10^2$ ufc/g y coeficiente de variación de 27,07%. Según la NTE INEN 2392 de hierbas aromáticas está permitido un máximo de 1×10^4 ufc/g, mientras tanto la NTE INEN 620 de cacao en polvo soluble 100 ufc/g. Estos resultados son inferiores a los reportados por Jerke *et al.* (39) quienes obtuvieron valores de hasta 10^4 en un análisis de la calidad microbiológica de té negro en dos formas comerciales: en hebras y en saquitos, analizados de acuerdo a la norma europea RD 1354/83.

Tabla 7. Datos de *E. coli*/coliforme, aerobios totales, mohos y levaduras, de los 6 tratamiento para medir la calidad microbiológica de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

Tratamiento	Código	<i>E. coli</i> /coliforme (ufc/g)	Aerobios totales(ufc/g)	Mohos y levaduras (ufc/g)
1	Secado 2 g	Ausencia	$2,0 \times 10^5$ b	$1,7 \times 10^2$ b
2	Secado 3 g	Ausencia	$3,3 \times 10^5$ a	$3,3 \times 10^2$ a
3	Secado 4 g	Ausencia	$5,3 \times 10^4$ c	$2,9 \times 10^2$ a b
4	Tamizado 2 g	Ausencia	$5,7 \times 10^4$ c	0,00 c
5	Tamizado 3 g	Ausencia	$5,2 \times 10^4$ c	$2,5 \times 10^2$ a b
6	Tamizado 4 g	Ausencia	$4,1 \times 10^4$ c	$2,7 \times 10^2$ a b
Promedio		Ausencia	$1,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^2$
CV (%)		Ausencia	9,85	27,07

4.3. Análisis organolépticos.

Los análisis sensoriales medidos, color, olor a chocolate, olor a quemado u otro olor, sabor a chocolate, sabor a quemado u otro sabor, según la escala de intervalo establecida y los promedios obtenidos de cada característica se observa.

Las figuras muestran una panorámica de las diferentes respuestas otorgadas por los catadores en todas las características medidas en la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) de cacao, evidenciando que el T6 (tamizado 4g) es el que tiene mayor intensidad de color café (Figura 3), T6 (tamizado 4g) son los que presentaron mayor olor a chocolate (Figura 4) y quien presento la mayor característica con sabor a chocolate es el T6 (tamizado 4g) (Figura 5).

Tabla 8. Datos de color, olor y sabor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

Tratamiento	Código	Color	O. Chocolate	O. Quemado	S. Chocolate	S. Quemado
1	Secado 2g	2,34 a	2,21	0,41	1,83	0,46
2	Secado 3g	2,41 a b	2,00	0,41	1,70	0,47
3	Secado 4g	2,43 a b	1,95	0,51	1,79	0,61
4	Tamizado 2g	2,90 b c	2,50	0,58	1,80	1,03
5	Tamizado 3g	2,81 a b c	2,42	0,67	2,14	0,79
6	Tamizado 4g	3,81 c	2,48	0,70	2,18	0,78
Promedio		2,78	2,26	0,55	2,91	0,69

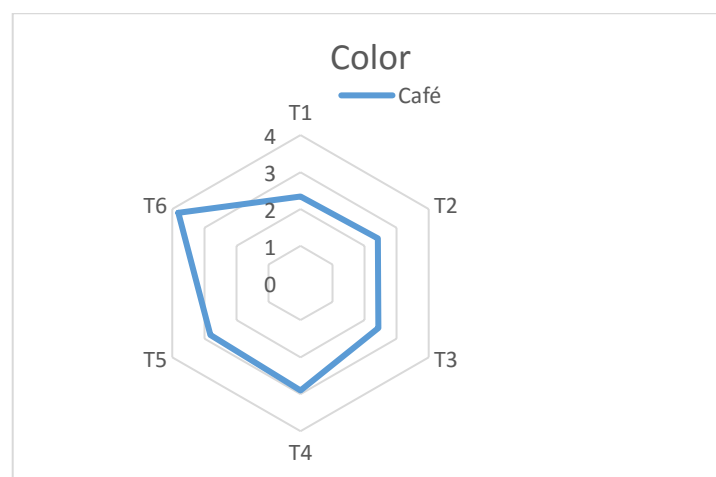


Figura 3. Parámetros organolépticos de color, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.



Figura 4. Parámetros organolépticos de olor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.



Figura 5. Parámetros organolépticos de sabor, de los 6 tratamientos de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

4.4. Costo

Los resultados obtenidos en el análisis económico de la Tabla 9, demuestran que los costos de producción de infusión de cacao más bajo presente en los T1 (secado 2g) y T4 (tamizado, 2g), con un costo de \$3,27 y el costo más alto es de \$4,42 correspondiente a el T3 (secado 3g) y T6 (tamizado 4g).

En la elaboración de la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao, se utilizó combustible (gas) y maquinarias que se deben depreciar, pero dado que los valores presentados son

ínfimos, por esta razón no se consideran en los costos; por ejemplo: molino, prensa de cacao, cocina, etc.

El precio del producto es elevado por ser un producto natural y artesanal, con todos los cuidados manteniendo la asepsia, el porcentaje de ganancia es bajo ya que el objetivo es aprovechar este residuo de cacao (nibs, cascarilla y almendras), de esta manera se optimiza el producto teniendo eficacia y eficiencia.

Tabla 9. Análisis económico, en la elaboración de infusión (nibs, cascarilla y almendra) de cacao.

Rubros	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Egresos						
Costos directos						
materia prima	0,0022	0,0033	0,0044	0,0022	0,0033	0,0044
material directo	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058
mano de obra	0,036	0,054	0,072	0,036	0,054	0,072
Total costo directo	0,096	0,115	0,134	0,096	0,115	0,134
Costos indirectos						
Equipo de protección	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013
Total costo indirecto	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013
Costo primo	0,038	0,057	0,076	0,038	0,057	0,076
Costo conversión	0,049	0,067	0,085	0,049	0,067	0,085
Costo de producción	0,051	0,070	0,089	0,051	0,070	0,089
Costo total	0,051	0,070	0,089	0,051	0,070	0,089
Precio de venta	3,27	3,60	4,42	3,27	3,85	4,42

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

De acuerdo a los resultados obtenidos se plantean las siguientes conclusiones:

- ✓ Las formulaciones en estudio, no afectaron en las características físico-químicas de la infusión de nibs, cascarilla y almendra, debido a la concentración de gramos de cacao soluble en cada bolsita y está dentro de los parámetros de las normas INEN 0620 de cacao soluble y 2392 de hierbas aromáticas.
- ✓ El mejor tratamiento seleccionado en las evaluaciones organolépticas por los catadores fue el T6 (tamizado 4g), presentando la infusión de nibs, cascarilla y almendra concentración de 4 gramos, según la escala de intervalo; color café, olor a chocolate y sabor a chocolate.
- ✓ Los tratamientos de la infusión de nibs, cascarilla y almendra no presentaron *E. coli*/Coliforme, presentaron aerobios totales y mohos y levaduras dentro de los parámetros permitidos por las normas INEN 0620 y 2392.
- ✓ El costo de elaboración para el mejor de los tratamientos es el T6 con un valor de \$4.42, con un valor de \$0,147 por cada bolsita terminada de infusión.

5.2. Recomendaciones.

- ✓ Se recomienda investigar la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao como materia prima para la elaboración de subproducto, mediante un buen manejo desde el momento de cosecha.
- ✓ Se recomienda profundizar los análisis físicos, químicos y organolépticos de la infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao y de esta manera explorar su contribución a la calidad comercial de los subproductos de cacao.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Bibliografía

1. Moncayo R. Exportaciones de cacao del Ecuador. Guayaquil, Ecuador;; 2016.
2. Imbaquingo N. Diseño y construcción de una máquina para remover la cascarilla de granos de cacao. Tesis de Ingeniería. Quito:, Ingeniería Mecánica; 2012.
3. Restrepp ABJ. Disponibilidad térmica solar y su aplicación en el secado de granos. 2005; 1(27).
4. Hector Tinoco DO. Análisis del proceso de deshidratación del Cacao para la disminución del tiempo de secado. Revista EIA. 2010;(13).
5. PROECUADOR. Análisis del sector cacao y elaborados. Guayaquil;; 2013.
6. Perez R. La calidad del cacao Quito: CAMAREN; 2009.
7. Radi C. Estudio sobre los mercados de valor para el cacao Nacional de origen y con certificaciones; 2005.
8. ANECACAO.. Actualidad y perspectivas del sector cacaotero en Ecuador. Santo Domingo - Ecuador;; 2014.
9. Cruz M, González N, González J, Durán T, Perera M, Benítez M. Avances y Perspectivas en Biotecnología y Ciencias Agropecuarias Tabasco - México: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2016.
10. Navarro MGM. Residuos orgánicos y agricultura España: Espagráfic; 1995.
11. Avila RGC. La evaluación sensorial de bebidas a base de fruta: Una aproximación difusa. 2011; 15(60): p. 7 - 12.
12. INEN. Hierbas aromáticas. Quito D.M.; 2012.
13. García E. Infusiones y tisanas para sentirse bien España: Libsa S.A.; 2000.
14. Enriquez G. Cacao orgánico guía para productores ecuatorianos Quito, Ecuador: INIAP; 2004.
15. Abarca D, Martínez R, Muñoz J, Torres MVG. Residuos de Café, Cacao y Cladodio de Tuna: Fuentes Primarias de Fibra Dietaria. Revista Tecnológica ESPOL. 2010; 23(2).
16. Pereira IDLCE. Historias, Saberes y Sabores en torno al cacao (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovent, Estado Miranda. 2009; 10(2): p. 97 - 120.
17. Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones. Análisis del sector cacao y elaborados. Quito;; 2013.
18. Escobar R. Comportamiento de seis clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Guasaganda, provincia de Cotopaxi, Ecuador. 2008; 7(1): p. 9-12.

19. Amores F, Quiroz J, Agama J, Pilamunga M, Vasco A. Evaluación multilocal de nuevos clones de cacao Nacional para la Costa ecuatoriana. ; 2002.
20. Alemania. OCdEe. Estudio de cacao y sus elaborados. ; 2012.
21. Escobar R, Arestegui M, Moreno A, Sánchez L. Catálogo de maquinaria para procesamiento de cacao. 2013..
22. Dillinger TBPEJMSDGL. Food of the Gods: Cure for the humanity A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. 2007; 34(3).
23. Moreno L SJ. Beneficio del cacao Honduras: IICA; 1989.
24. Vera J. Beneficio de las almendras. In 125-128. Manual del cultivo de cacao. Segunda ed. Mocache: INIAP; 1993.
25. Jimenez J. Practicas del beneficio del cacao y su calidad organoleptica. In.; 2003.
26. Nogales J. Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. 2006; 56(1).
27. Ramírez S, Duran D, Cordón S, Hernández A. Tamizado. 2013.
28. E. P, Labarca M, Grazziani L, Cros E, Assemat S, Davrieux F, et al. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. 2009; 9(2): p. 458-468.
29. Hardy F. Manual de Cacao Turrialba: Antonio Lehmann; 1961.
30. Plúa J, Cornejo F. Diseño de una línea procesadora de pasta de cacao artesanal (*Theobroma cacao*). 2008.
31. Caicedo E, Otavalo S. Determinación de temperatura y tiempo de deshidratación para la elaboración de té de Sunfo, *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze. Tesis de Ingeniería. Ibarra: Universidad Técnica del Norte, Ingeniería Agroindustrial; 2007.
32. Andalzúa A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica Zaragoza: Acribia S.A.; 2005.
33. Vizcarra C. Uso de la cascarilla y exudado de mucílago de la almendra de cacao fino de aroma para la elaboración de vino. Quito;; 2013.
34. Velez L, Hincapie G, restrepo C, Adarve S, Paez S, Palacio J. Semillas de borojo (*Borojoa Patinoi* Cuatrec) y su potencial aprovechamiento en la elaboración de una infusión. 2012; 19(1): p. S252-S254.
35. Álvarez C, Pérez E, Lares M. Características física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua. 2007; 57(4): p. 249-256.

36. Sol A, Naranjo J, Córdova V, Ávalos de la Cruz D, Zaldívar J. Caracterización bromatológica de los productos derivados de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Chontalpa, Tabasco, México. 2016;(14): p. 2817-2830.
37. Sangronis E, Soto M, Valero Y, Buscema I. Husk of Venezuelan cocoa as raw material of infusions. 2014; 64(2).
38. Jerke G, Horiński M, Bargardi S, Martínez M. Análisis microbiológico en yerba mate compuesta. 2011;(15).
39. Jerke G, Bargardi S, Medvedeff M, Gonzales E. Calidad microbiológica de té negro en dos formas comerciales: en hebras y en saquitos. 2009;(12): p. 52-57.
40. Mejías CLCMR. Egipto: producción, consumo y seguridad alimentaria. España;; 2011.

CAPITULO VII

ANEXOS

Anexo 1. ANDEVAS de las variables pH, humedad, grasa, cenizas totales y cenizas insolubles, en la elaboración de infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao Nacional.

a. pH

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Tratamientos	1,15	5	0,23	16,26	<0,0001
Error	0,25	18	0,01		
Total	1,41	23			

b. Humedad

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Tratamientos	1,45	5	0,29	6,73	0,0011
Error	0,78	18	0,04		
Total	2,23	23			

c. Grasa

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Tratamientos	3,00	5	0,6	145,83	<0,0001
Error	0,07	18	4,1E-03		
Total	3,08	23			

d. Ceniza total

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Tratamientos	0,97	5	0,19	8,43	0,0003
Error	0,41	18	0,02		
Total	1,38	23			

e. Ceniza insoluble

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Tratamientos	5,73	5	1,15	346,62	<0,0001
Error	0,06	18	3,3E-03		
Total	5,79	23			

Anexo 2. Hoja de trabajo y respuesta para la valoración organoléptica, en la elaboración de infusión de (nibs, cascarilla y almendra) cacao Nacional.

FICHA DE EVALUACIÓN ORGANOLEPTICA

PRODUCTO: INFUSIÓN DE RESIDUOS (NIBS, CASCARILLA Y ALMENDRA) DE CACAO (*Theobroma cacao L.*) NACIONAL.

NOMBRE:

FICHA N°:

FECHA:

INSTRUCCIONES: Coloque una X en la opción que usted considere conveniente, de acuerdo a las características organolépticas que se especifican a continuación.

1. COLOR

Café _____

2. OLOR

Chocolate _____

Quemado _____

Otros _____

¿Qué otro olor?:

3. SABOR

Chocolate _____

Quemado _____

Otros _____

¿Qué otro sabor?:

¡GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!

Anexo 3. Combustible.

	COSTO (\$)	DIA/20 (\$)	HORA/3 (\$)	HORA/1 (\$)	COSTO POR 1800G
Cilindro de gas	2,50	0,125	0,04166667	0,014	0,000005

Anexo 4. Depreciaciones.

	COSTO (\$)	AÑOS	AÑO (\$)	DÍA (\$)	HORA (\$)	POR 1800G(\$)
Cocina	566,00	3	188,67	0,52	0,02154	0,00001
Imanes	6,00	1	6,00	0,02	0,00068	0,0000004
molino manual de granos	50,00	2	25,00	0,07	0,00285	0,000002
prensa hidráulica	180,00	3	60,00	0,16	0,00685	0,000004
Balanza	20,00	1	20,00	0,05	0,00228	0,000001

Anexo 5. Costos.

COSTOS DIRECTOS								
	precio	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
MATERIA PRIMA								
5 lb nibs, cascarilla y almendra	2,00	0,0022	0,0033	0,0044	0,0022	0,0033	0,0044	
COSTO MATERIA PRIMA		0,0022	0,0033	0,0044	0,0022	0,0033	0,0044	
MATERIALES DIRECTOS								
bolsitas de infusión	5,00	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	
cartón y plástico	0,80	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	
COSTO MAT. DIRECTOS		0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	0,058	
MANO DE OBRA DIRECTA								
operario molido	12,00	0,012	0,018	0,024	0,012	0,018	0,024	
operario extracción de grasa	12,00	0,012	0,018	0,024	0,012	0,018	0,024	
operario envasado	12,00	0,012	0,018	0,024	0,012	0,018	0,024	
COSTO MANO DE OBRA DIRECTA		0,036	0,054	0,072	0,036	0,054	0,072	
COSTOS INDIRECTOS								
EQUIPO DE PROTECCION								
Guantes	1,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Mascarilla	0,20	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	
Cofia	0,15	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	
COSTO EQ. DE PROTECCION		0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013	

Anexo 6. Costo primo.

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T1} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0022 + 0,036 = 0,038$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T2} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0033 + 0,054 = 0,057$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T3} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0044 + 0,072 = 0,076$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T4} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0022 + 0,036 = 0,038$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T5} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0033 + 0,054 = 0,057$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo primo} = \\ \text{T6} \\ \text{MPD} + \text{MOD} \end{array}$$

$$0,0044 + 0,072 = 0,076$$

Anexo 7. Costo conversión.

$$\begin{array}{l} \text{Costo conversión=} \\ \text{T1} \\ \text{MOD} + \text{CIF} \end{array}$$

$$0,036 + 0,013 = 0,049$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo conversión=} \\ \text{T2} \\ \text{MOD} + \text{CIF} \end{array}$$

$$0,054 + 0,013 = 0,067$$

$$\begin{array}{l} \text{Costo conversión=} \\ \text{T3} \\ \text{MOD} + \text{CIF} \end{array}$$

$$0,072 + 0,013 = 0,085$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo conversión=} \\ \text{T4} \\ \text{MOD + CIF} \\ 0,036 + 0,013 = 0,049 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo conversión=} \\ \text{T5} \\ \text{MOD + CIF} \\ 0,054 + 0,013 = 0,067 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo conversión=} \\ \text{T6} \\ \text{MOD + CIF} \\ 0,072 + 0,013 = 0,085 \end{array}$$

Anexo 8. Costo de producción.

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T1} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,038 + 0,013 = 0,051 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T2} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,057 + 0,013 = 0,070 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T3} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,076 + 0,013 = 0,089 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T4} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,038 + 0,013 = 0,051 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T5} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,057 + 0,013 = 0,070 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo de producción=} \\ \text{T6} \\ \text{MPD + MOD + CIF} \\ 0,076 + 0,013 = 0,089 \end{array}$$

Anexo 9. Costo total.

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T1} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,051 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,051 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T2} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,070 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,070 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T3} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,089 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,089 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T4} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,051 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,051 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T5} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,070 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,070 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Costo total=} \\ \text{T6} \\ \text{C. Producción + C. Distribución} \\ 0,089 \quad + \quad 0 \quad = \quad 0,089 \end{array}$$

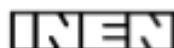
Anexo 10. Precio de venta.

$$\begin{array}{r} \text{Precio venta=} \\ \text{T1} \\ \text{C. Total + 20\% Utilidad} \\ \text{Precio venta=} \quad 2,73 \quad + \quad 0,55 \quad = \quad 3,275 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} \text{Precio venta=} \\ \text{T2} \\ \text{C. Total + 20\% Utilidad} \\ \text{Precio venta=} \quad 3,00 \quad + \quad 0,60 \quad = \quad 3,600 \end{array}$$

	T3			
Precio venta=	C. Total + 20% Utilidad			
Precio venta=	3,69	+	0,74	= 4,425
	T4			
Precio venta=	C. Total + 20% Utilidad			
Precio venta=	2,73	+	0,55	= 3,275
	T5			
Precio venta=	C. Total + 20% Utilidad			
Precio venta=	3,21	+	0,60	= 3,808
	T6			
Precio venta=	C. Total + 20% Utilidad			
Precio venta=	3,69	+	0,74	= 4,425

Anexo 11. Norma INEN 620 de Cacao Soluble.



CDU: 663-92

AL 02.06-406

<p>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</p>	<p>CACAO EN POLVO REQUISITOS</p>	<p>INEN 620 Primera Revisión 1989-04</p>
<p style="text-align: center;">1. OBJ ETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el cacao en polvo para fabricación industrial, de productos de cacao y chocolate para consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma comprende únicamente el cacao en polvo proveniente de la pulverización de la torta de cacao.</p> <p style="text-align: center;">3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Torta de cacao, producto obtenido al eliminar por prensado mecánico parte de la grasa existente en la pasta de cacao.</p> <p>3.2 Torta de cacao soluble, es el producto obtenido al eliminar por prensado mecánico parte de la grasa existente en la pasta de cacao soluble.</p> <p>3.3 Cacao en polvo, producto obtenido por la pulverización de la torta de cacao.</p> <p>3.4 Cacao en polvo soluble, producto obtenido por la pulverización de la torta de cacao soluble sometida a un adecuado proceso de solubilización.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 El cacao en polvo deberá ser elaborado bajo condiciones apropiadas, de materia prima sana, limpia y prácticamente exenta de residuos de plaguicidas u otras sustancias tóxicas.</p> <p>4.2 El cacao en polvo debe presentar características organolépticas (olor, color, sabor) de acuerdo a su composición.</p> <p>4.3 La elaboración de cacao en polvo debe realizarse bajo condiciones sanitarias e higiénicas apropiadas para este producto y con el equipo adecuado.</p> <p>4.4 El producto descrito en esta norma debe estar exento de toda clase de materias vegetales de otra procedencia (féculas, harinas, dextrinas) grasas que no sea manteca de cacao. Además no se deberá agregar cascarilla de cacao, sustancias inerte, colorantes, conservantes u otros productos extraños a su composición natural.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

4.6 Cuando se ensayen por métodos apropiados de toma de muestras y análisis al cacao en polvo deberá estar exento de microorganismos patógenos; no deberán contener sustancia tóxica alguna originada de microorganismos, en cantidades que puedan presentar un peligro para la salud.

6. REQUISITOS

6.1 El cacao en polvo sometido a ensayos de acuerdo a normas ecuatorianas correspondientes, deberá cumplir con los requisitos establecidos en las tablas 1 y 2 de esta norma.

Tabla 1. Requisitos de cacao en polvo

REQUISITO	UNIDAD	CACAO EN POLVO		CACAO EN POLVO SOLUBLE		MÉTODO DE ENSAYO
		Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	
Humedad o pérdida por calentamiento	%	—	5	—	6	INEN 1 576
Contenido de grasa	%	8	28	8	28	INEN 535
Cenizas totales	%	—	9	—	10	INEN 533
Cenizas insolubles en ácido	%	—	0,2	—	0,2	INEN 532
Alcalinidad de las cenizas (en carbonato de - potasio)	%	—	5	—	10	INEN 537
Fibra cruda	%	—	6	—	7	INEN 534
Contenido de almidón	%	—	20	—	20	INEN 536
pH en suspensión al 10%		5,2	6,1	6,8	7,2	*

* Hasta que exista la respectiva norma INEN la determinación se efectuará siguiendo los métodos de ensayo convencionales normalizados.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos

REQUISITOS	UNIDAD	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
R.E.P.*	u.f.c**/g	10 000	1 529
Coliformes	u.f.c**/g	10	1 529
E Coli	u.f.c**/g	1	1 529
Salmonella	u.f.c** en 25 g	0	1 529
Mohos y levaduras	u.f.c**/g	100	1 529

*R.E.P. = Recuento estándar en placa.

** u.f.c. = unidades formadoras de colonias.

6. INSPECCION

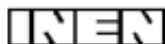
6.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo a norma INEN 537.

6.2 En la muestra extraída se efectuarán los ensayos indicados en los numerales 5.1 y 5.2 de esta norma.

6.3 Si la muestra no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en los numerales 5.1 y 5.2 de esta norma se extraerá una nueva muestra y se repetirán los ensayos.

Anexo 12. Norma INEN 2392 de hierbas aromáticas.

CDU: 663.85
ICS: 67.140.10



CIU: 3121
AL 02.06-410

<p>Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria</p>	<p>HIERBAS AROMÁTICAS. REQUISITOS.</p>	<p>NTE INEN 2 392:2007 2007-01</p>
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las plantas aromáticas, procedentes de las diversas especies que se destinan a la preparación de infusiones para el consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a las hierbas aromáticas procedentes de las especies de plantas de las que se tiene su caracterización taxonómica, toxicológica y química (ver 6.1.1).</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Hierbas aromáticas. La denominación de hierbas aromáticas comprende ciertas plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas (aceites esenciales), y que por sus aromas y sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones.</p> <p>3.2 Té de hierbas. Con el nombre genérico de té de hierbas se conoce al procedente de especies vegetales procesadas con las que se prepara infusiones diferentes al té de las teáceas.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Las hierbas aromáticas deben, corresponder taxonómicamente a la especie declarada, que cumplan condiciones higiénicas y presentar las características macroscópicas y microscópicas que les son propias.</p> <p>4.2 Las hierbas aromáticas deben estar limpias y exentas de materia extraña.</p> <p>4.3 No debe contener más de 15% de otras partes del vegetal exentas de propiedades aromatizantes y saborizantes.</p> <p>4.4 Las hierbas aromáticas deben contener los aceites esenciales que caracteriza a cada una.</p> <p>4.5 Las hierbas aromáticas pueden expendirse enteras o molidas, solas o mezcladas entre sí, adicionadas con frutas, azúcar o miel en una cantidad que no supere el 20 %.</p> <p>4.6 Se permite la adición de saborizantes naturales y artificiales permitidos en la NTE INEN 2 074.</p> <p>4.7 Las hierbas aromáticas se deben procesar bajo las condiciones establecidas en el Código de la Salud y sus Reglamentos que permita reducir la contaminación.</p> <p>4.8 Los residuos de plaguicidas, pesticidas y sus metabolitos, no podrán superar los límites establecidos por el Codex Alimentario en su última edición.</p> <p>4.9 No se permite la adición de colorantes.</p> <p>4.10 Los procesadores de hierbas aromáticas deberán cumplir con buenas prácticas de manufactura y se exigirá paulatinamente a los productores el cumplimiento de los requisitos de Buenas Prácticas Agrícolas.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, té, hierbas aromáticas, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E-9-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

5.1 Las hierbas aromáticas, destinadas para preparar infusiones, en la etiqueta de su envase no deben declarar propiedades terapéuticas para prevenir o curar enfermedades.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos Específicos

6.1.1 Se consideran hierbas aromáticas a las siguientes ⁽¹⁾:

Nombre común	Nombre científico	Parte usada
Anís estrella	<i>Illicium anisatum</i>	Fruto
Anís verde (pan de anís)	<i>Pimpinella anisum</i>	Fruto
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> <i>Cinnamomum cassia</i>	Corteza
Cedrón	<i>Aloysia triphyllia</i> (L. Her) Britton	Hojas
Clavo de olor	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Flores,
Eneldo	<i>Anethum graveolens</i>	Tallo, hojas, flores
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Hojas
Falso tilo (sauco)	<i>Sambucus nigra</i> L.	Flores
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i> ,	Hierba, hojas y copos florescentes
Hierba luisa	<i>Cymbopogon citratus</i>	Hojas
Jazmín	<i>Jasminum officinale</i>	Flores
Limón	<i>Citrus limonum</i> , <i>Citrus limetta</i>	Hojas, fruto, cáscara,
Manzanilla	<i>Matricaria camomila</i> ,	Flores y planta
Mejorana	<i>Origanum majorana</i>	Partes aéreas
Menta	<i>Mentha pulegium</i> <i>Mentha piperita</i>	Partes aéreas
Naranja	<i>Citrus aurantium</i>	Hojas y flores
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Partes aéreas
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Partes aéreas
Rosa	<i>Rosa</i> spp	Flores, escaramujo
Tipo	<i>Minthostachys mollis</i>	Tallo, hoja, flores
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Parte aérea
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i>	Partes aéreas

⁽¹⁾ Esta lista no excluye la utilización de otras plantas que luego de su estudio toxicológico, y contenido de aceites esenciales, hayan sido aprobadas como tales por el Ministerio de Salud a través del Instituto de Higiene.

6.1.2 Las hierbas aromáticas, deben cumplir los requisitos establecidos en las siguientes tablas:

TABLA 1. Requisitos físicos-químicos

Requisitos	Máx	Método de ensayo
Humedad, %	12	NTE INEN 1114
Cenizas insolubles en HCl al 10 %, % m/m	2	NTE INEN 1118

(Continua)

TABLA 2. Contenido de aceites esenciales

Hierba Aromática	Aceite esencial, % Min	Método de ensayo AOAC 968.20
Anís estrella*	5,0	
Anís verde*	2,0	
Canela	1,2	
Cedrón	0,2	
Clavo de Olor	13,0	
Eneldo	3,0	
Eucalipto	1,5	
Falso tilo	0,03	
Hierba buena	0,08	
Hierba luisa	3,0	
Limonero	2,5	
Manzanilla	0,2	
Mejorana	0,7	
Menta	0,25	
Naranja	0,2	
Orégano	0,5	
Romero	1,5	
Rosa	0,01	
Tipo	1,2	
Tomillo	1,5	
Toronjil	0,3	

6.1.3 Los requisitos microbiológicos que deben cumplir las hierbas aromáticas, son los que se especifican en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos Microbiológicos

REQUISITO	Máx	Método de ensayo
Aerobios totales ufc/g	1×10^7	NTE INEN 1529-5
Escherichia coli ufc/g	1×10	NTE INEN 1529-7
Enterobacteriaceas ufc/g	1×10^3	NTE INEN 1529-13
Mohos y levaduras upc/g	1×10^4	NTE INEN 1529-10
Clostridium, ufc/g	ausencia	NTE INEN 1529-18
Salmonella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1529-15
Shigella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1529-16

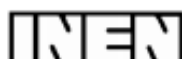
6.1.4 El contenido máximo de contaminantes presentes se especifican en la tabla 4.

TABLA 4. Contenido máximo de contaminantes

Contaminante	mg/kg
Arsénico, As	1,0
Plomo, Pb	0,5

(Continúa)

Anexo 13. Norma INEN 1676 de determinación de humedad.



CDU: 683.91.92

AL 02.06-333

<p>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria</p>	<p>PRODUCTOS DERIVADOS DE CACAO. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD O PÉRDIDA POR CALENTAMIENTO</p>	<p>INEN 1 676 1988-07</p>
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar la humedad en los productos derivados de cacao.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Este método comprende un procedimiento de rutina para la determinación de la humedad en productos derivados del cacao.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Esta norma es para determinar la pérdida en masa de la muestra, mediante pesaje antes y después del secado en estufa.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 Balanza analítica, sensible al 0,1 mg.</p> <p>4.2 Estufa termostática (con tolerancia de 0,5°C).</p> <p>4.3 Cristalizador o cápsula de porcelana, cuarzo o aluminio, de fondo plano.</p> <p>4.4 Varilla de vidrio, espátula o pinza.</p> <p>4.5 Desecador con deshidratador adecuado</p> <p>4.6 Arena (tratada adecuadamente)</p> <p style="text-align: center;">5. PROCEDIMIENTO</p> <p>5.1 La determinación efectuar por duplicado sobre la muestra fraccionada en trozos finos y convenientemente homogeneizado.</p> <p>5.2 Tarar, con aproximación al 0,1 mg el cristalizador con la varilla de vidrio y la arena previamente lavados y desecados.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

5.3 Colocar en el cristalizador tarado de 10 g de muestra y pesar el conjunto con aproximación al 0,1 mg; fraccionar finamente la muestra con la varilla de vidrio distribuyéndola en la cápsula.

5.4 Colocar el cristalizador o la cápsula de porcelana con su contenido en la estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, hasta masa constante.

5.5 Enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.

6. CALCULOS

6.1 El contenido de humedad de los productos derivados del cacao se determina mediante la ecuación siguiente:

$$H = 100 \cdot \frac{m - m_1}{m}$$

Siendo:

H = Humedad en porcentaje de masa,

m = masa inicial de la muestra a analizar, g.

m_1 = masa de la muestra después del secado, g.

7. ERRORES DE METODO

7.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 1,0% del promedio de ambos ensayos; en caso contrario debe repetirse la determinación.

8. INFORME DE RESULTADOS

8.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

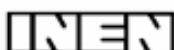
8.2 Deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

8.3 Deben incluirse todos los datos para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

Anexo 14. Norma INEN 0533 de determinación ceniza total.

CDU: 663.91



AL 02.06-307

<p>Norma Técnica Ecuatoriana</p>	<p>CACAO(Productos derivados) DETERMINACION DE CENIZA TOTAL</p>	<p>INEN 533 1980-12</p>
<p style="text-align: center;">1. OBJ ETO</p> <p>1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza total en la pasta de cacao, cacao en polvo y en los chocolates.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 Cenizas. Es el producto resultante de la incineración de los sólidos totales del cacao, mediante procedimientos normalizados.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Se incinera a $600^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ la muestra de cacao a determinar y se pesa el residuo que corresponde a las cenizas.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Balanza analítica</i>, sensible al 0,1 mg.</p> <p>4.2 <i>Mufla</i>, con regulador de temperatura, ajustada a $600^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.</p> <p>4.3 <i>Capsula de porcelana</i>, o de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 50 a 60 mm y altura de 20 a 25 mm.</p> <p>4.4 <i>Plancha de calentamiento</i>.</p> <p>4.5 <i>Desecador</i>, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.</p> <p style="text-align: center;">5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA</p> <p>5.1 Si la muestra es semisólida o sólida (pasta de cacao y/o chocolate), se coloca el recipiente que la contiene, cerrado herméticamente, en una estufa o baño de María entre $45^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, y se la mantiene allí hasta que la muestra alcance tal temperatura (lo suficiente para ablandar la muestra completamente).</p> <p>5.2 Homogeneizar la muestra ablandada, agitando varias veces el recipiente que la contiene (preferiblemente con la ayuda de un agitador mecánico), hasta que ésta adquiera consistencia espesa o cremosa.</p> <p>5.3 Sumergir el frasco en agua helada, agitando continuamente, hasta cuando la temperatura de la muestra llegue al punto de congelación y la masa se haya solidificado (o sea hasta una fina condición granular para desmenuzar o rallar).</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

5.4 En los chocolates con ingredientes y rellenos, antes de desmenuzar o mientras se desmenuza la muestra, se deben extraer los productos agregados, utilizando una espátula o un instrumento adecuado.

5.5 Cuando se trate de productos en polvo, mezclar la muestra completamente antes de extraer la porción de ensayo.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 En la cápsula de porcelana, previamente pesada, pesar, con aproximación a 0,2 mg, 10 g de muestra preparada.

6.3 Transferir la cápsula y su contenido a la plancha de calentamiento y calentar hasta que toda el agua sea eliminada, y continuar el calentamiento hasta que no se observen dilataciones.

6.4 Colocar la cápsula (con los sólidos totales) cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerla allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material, que podría ocurrir si la cápsula se introduce directamente en la mufla.

6.5 Introducir la cápsula en la mufla a $600^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$, hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (color gris).

6.6 Sacar la cápsula (con las cenizas), dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación a 0,2 mg. Repetir la incineración por períodos de 30 min, enfriando y pesando, hasta que no haya disminución en la masa.

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido de ceniza total en la muestra, sobre base libre de azúcar seca y desengrasada, expresado en porcentaje de masa, se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$C = \frac{10\,000\ m_1}{m\ 100 - (P + G + S)}$$

Siendo:

C = cantidad de cenizas, en porcentaje de masa.

m_1 = masa de la ceniza, en g.

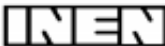
m = masa de la muestra tomada para el ensayo, en g.

P = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa en la muestra.

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa en la muestra.

S = azúcar, en porcentaje de masa en la muestra.

Anexo 15. Norma INEN 0532 determinación de ceniza insoluble en ácido.

CDU: 663.91		AL 02.06-308
Norma Técnica Ecuatoriana	CACAO (Productos derivados) DETERMINACION DE CENIZA INSOLUBLE EN ACIDO	INEN 532 1980-12
1. OBJ ETO		
<p>1.1 Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza insoluble en ácido, en la pasta de cacao, cacao en polvo y chocolates.</p>		
2. RESUMEN		
<p>2.1 La ceniza total se trata con ácido clorhídrico diluido, se filtra y el residuo se incinera a $600^{\circ} \pm 1$ °C. La ceniza insoluble en ácido se determina por la pérdida en masa que experimenta el material después del ensayo.</p>		
3. INSTRUMENTAL		
<p>3.1 Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a $600^{\circ} \pm 1$ °C.</p>		
<p>3.2 <i>Estufa</i>, con regulador de temperatura, ajustada a $135^{\circ} \pm 2$ °C.</p>		
<p>3.3 <i>Cápsula de porcelana</i>, o de otro material inalterable a las condiciones del ensayo, de fondo plano, con diámetro de 50 a 60 mm y altura de 20 a 25 mm.</p>		
<p>3.4 <i>Vidrio de reloj</i>.</p>		
4. REACTIVOS		
<p>4.1 Solución 5N de ácido clorhídrico, debidamente estandarizada.</p>		
5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA		
<p>5.1 Se tomará como muestra de ensayo la ceniza total obtenida de acuerdo al procedimiento señalado en la Norma INEN 533.</p>		
6. PROCEDIMIENTO		
<p>6.1 Adicionar a la ceniza contenida en la cápsula de ensayo, que se anota en la Norma INEN 533, 25 cm^3 de la solución de ácido clorhídrico, cubrir el recipiente con un vidrio de reloj y calentar en un baño de agua por 5 minutos.</p>		
<p>6.2 Enfriar y filtrar el contenido de la cápsula a través de un filtro sin cenizas. Lavar el papel filtro con agua caliente, hasta que los líquidos de lavado no presenten reacción ácida.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

6.3 Llevar el papel filtro y el residuo nuevamente a la cápsula, calentar en una estufa a $135^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, dur ante aproximadamente 3 horas, y luego calcinar en una mufla a $600^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por una hora. Entriar en un desecador y pesar.

6.4 Repetir la incineración por períodos de 30 minutos en la mufla, enfriando y pesando hasta que no haya disminución en la masa.

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido de ceniza insoluble en ácido en la muestra, sobre base libre de azúcar seca y desengrasada, expresado en porcentaje de masa, se calcula mediante la expresión siguiente:

$$Cia = \frac{10.000 m_1}{m 100 - (P + G + S)}$$

Siendo:

C i a = ceniza insoluble en ácido, en porcentaje de masa.

m₁ = masa de la ceniza insoluble en ácido, en g.

m = masa de la muestra tomada para la determinación de ceniza total, en g.

P = pérdida por calentamiento, en porcentaje de masa en la muestra inicial.

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa en la muestra inicial.

S = azúcar, en porcentaje de masa en la muestra inicial.

8. ERRORES DE MÉTODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,01%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.


9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los dos resultados de la determinación.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre los resultados.

9.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

Anexo 16. Técnica de análisis determinación de grasa.

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAC/004
	TECNICA DE ANALISIS DETERMINACION DE GRASA	REV.:
		PAG. 1/1

1. OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el contenido de Grasa o Extracto ~~Etereo~~ en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados

2. INSTRUMENTAL

- Vasos Beacker para grasa
- Aparato Golfish
- Dedales de Extracción
- ~~Portadadales~~
- Vasos para recuperación del solvente
- Balanza analítica
- Estufa (105°C)
- Desecador
- Espátula
- Pinza Universal
- Algodón Liofilizado e Hidrolizados

3. REACTIVOS

- Éter de Petróleo

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 4.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.
- 4.2 La cantidad de la muestra extraída dentro de un lote debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.
- 4.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

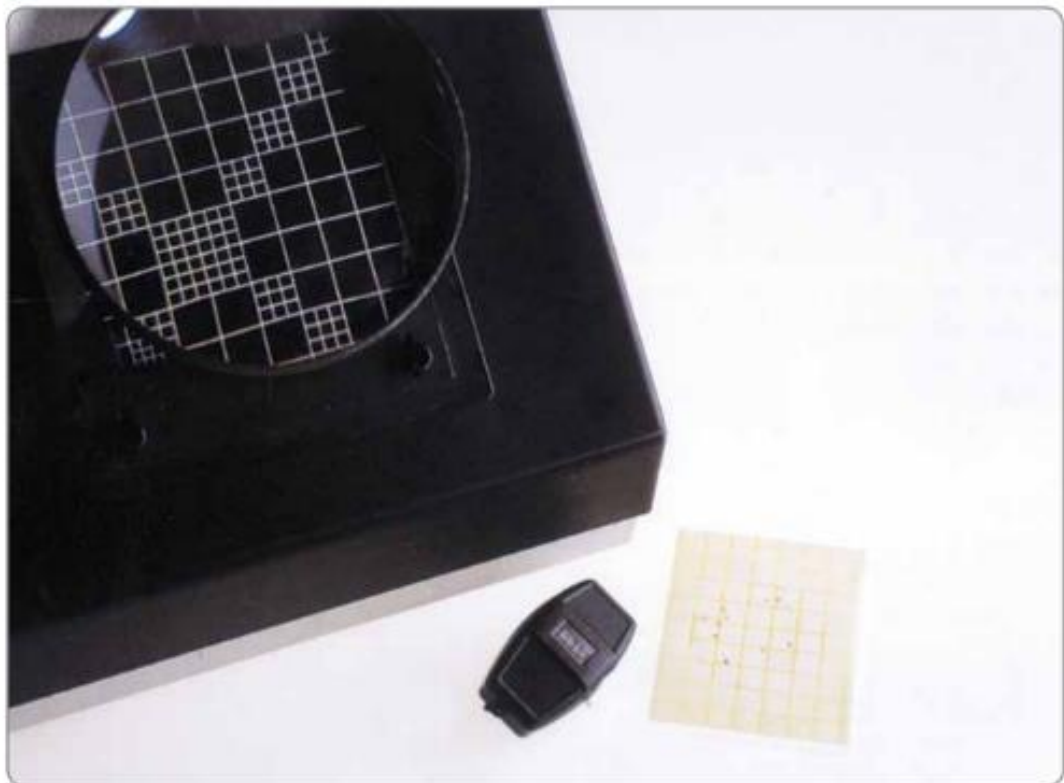
5. PROCEDIMIENTO:

- 5.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- 5.2 Secar los vasos ~~beakers~~ en la estufa a $100^{\circ} \pm C$, por el tiempo de una hora. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.

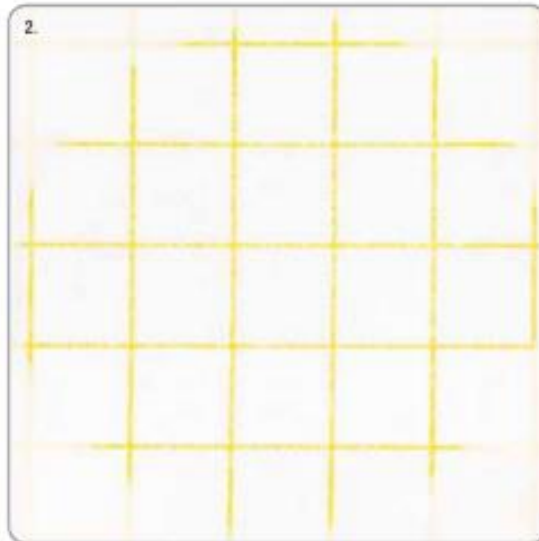
Anexo 17. Guía de interpretación de aerobios totales.



3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios

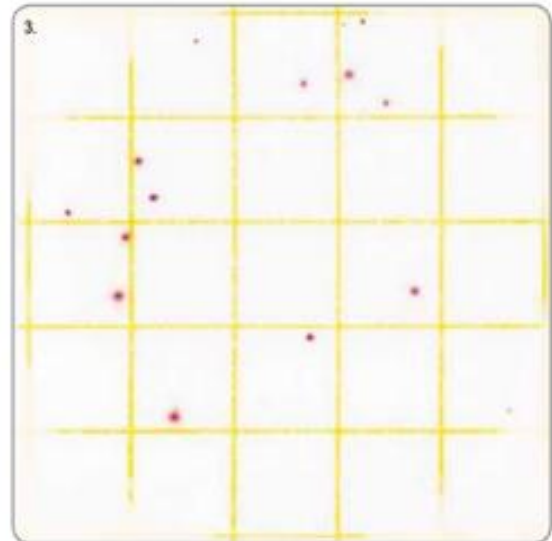


3M™ Petrifilm™ Placas para Recuento de Aerobios



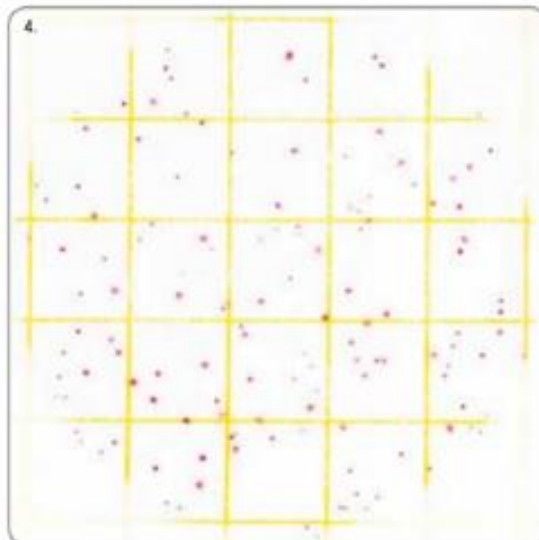
Recuento = 0

La interpretación de la placa Petrifilm para Aerobios resulta muy fácil. La Figura 2 muestra una placa Petrifilm Recuento de Aerobios sin colonias.



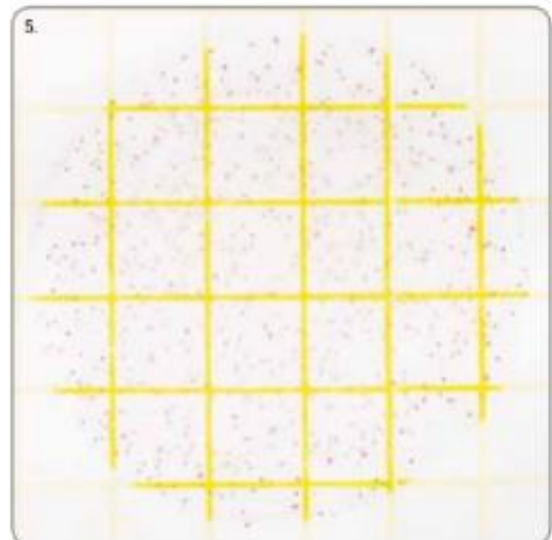
Recuento = 16

La Figura 3 muestra una placa Petrifilm Recuento de Aerobios con pocas colonias bacterianas. Un indicador rojo presente en la placa colorea todas las colonias. Contar todas las colonias rojas independientemente de su tamaño y de la intensidad de color. Usar un contador estándar tipo Quebec o un lector de placas 3M™ Petrifilm™ para leer la placa Petrifilm.



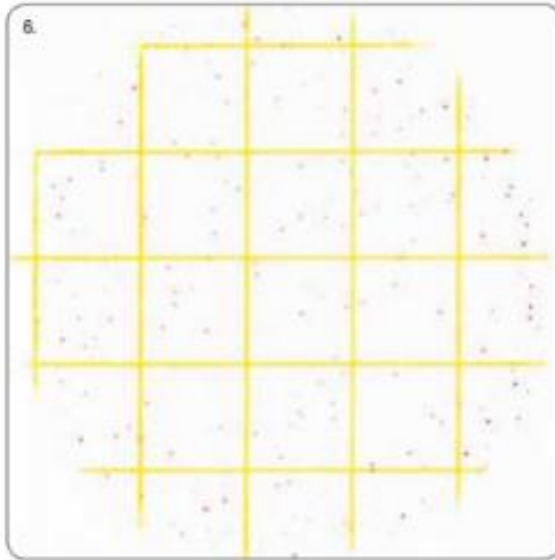
Recuento = 143

Al igual que con una placa Petri normal, el rango de recuento para una placa Petrifilm de Aerobios es de 10 - 300 colonias. Ver Figura 4.



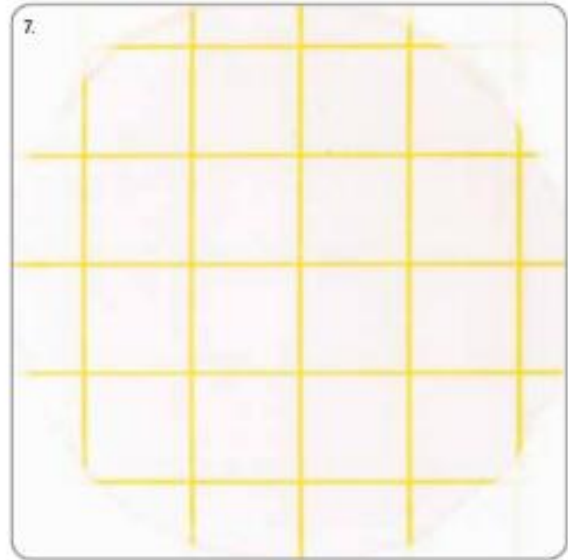
Recuento estimado = 420

Cuando el número de colonias es superior a 300 como ocurre en la Figura 5, se puede realizar una estimación. Contar las colonias de una cuadrícula (1 cm²) y multiplicar por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de inóculo de una placa Petrifilm de Aerobios es de 20 cm² aproximadamente.



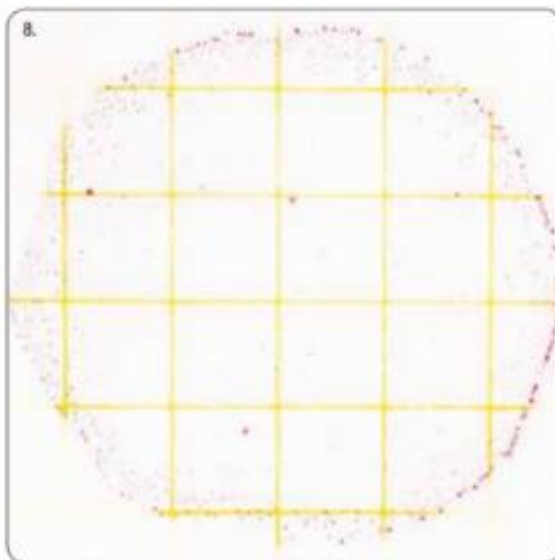
Recuento = Incontable (TNTC)

La Figura 6 muestra una placa Petrifilm de Aerobico con un número incontable de colonias (TNTC).



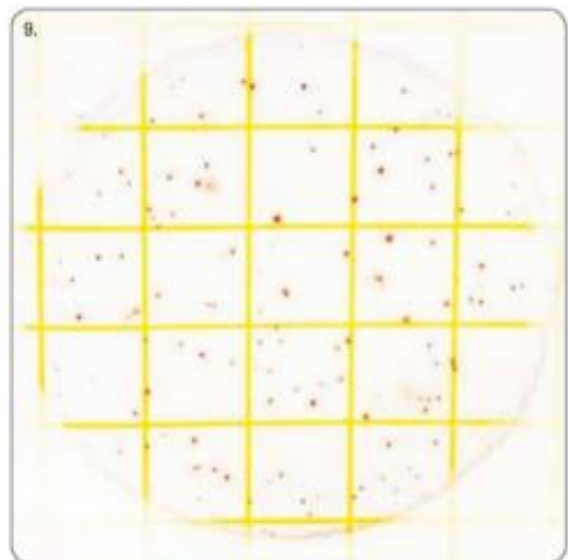
Recuento = Incontable (TNTC)

Con recuentos muy altos, todo el área de crecimiento puede virar al rosa como muestra la Figura 7. Algunas colonias individuales podrían observarse en el borde del área de crecimiento. Registrar este resultado como incontable (TNTC).



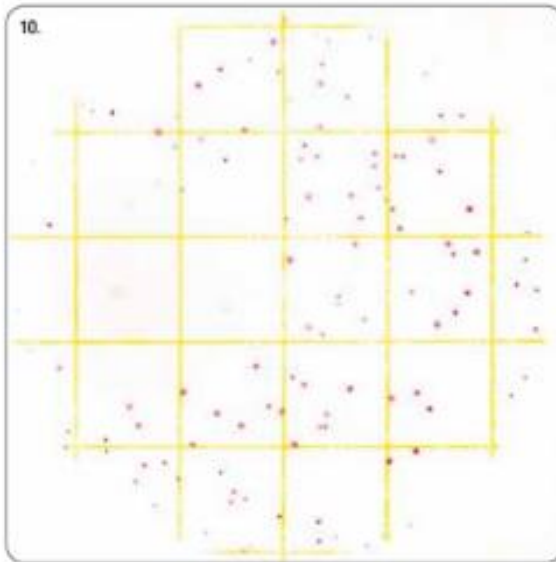
Recuento = Incontable (TNTC)

Ocasionalmente las colonias aparecen distribuidas de manera desigual como ocurre en la Figura 8. Es también un resultado incontable (TNTC). De hecho la distribución es uniforme.



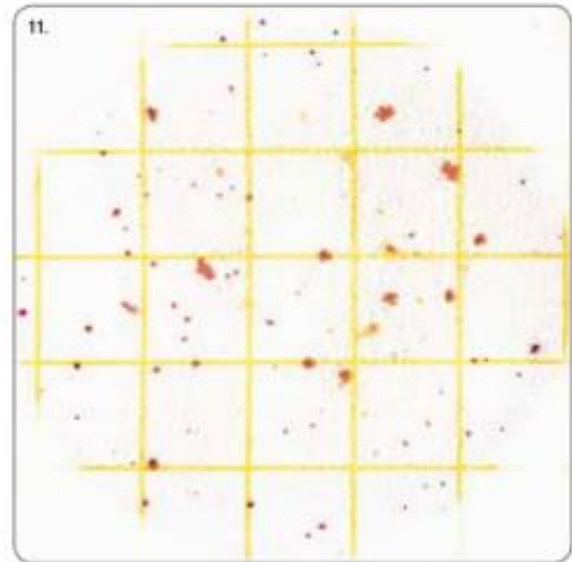
Recuento = Incontable (TNTC)

Las colonias de la placa Petrifilm de Aerobios de la Figura 9 parecen contables a primera vista. Sin embargo, cuando se miran los bordes del área de crecimiento puede verse una alta concentración de colonias. Registrar este resultado como incontable (TNTC).



Recuento estimado = 160

Algunas bacterias licúan el gel en la placa Petrifilm de Aerobios como muestra la Figura 10. Cuando esto ocurre, realizar un recuento aproximado en las cuadrículas no afectadas y luego estimar el recuento total. No contar las manchas rojas de la zona licuada.



Recuento = 83

Las colonias de las placas Petrifilm de Aerobios son rojas y pueden distinguirse fácilmente de las partículas alimenticias opacas que causan confusión en las placas Petri normales. Ver Figura 11.

3M™ Petrifilm™. Placas para Recuento de Aerobios

Para información detallada acerca de PRECAUCIONES, GARANTÍAS, LIMITACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, así como INSTRUCCIONES DE USO ver folleto de producto en las cajas.

Instrucciones
de uso



Almacenamiento



1 Refrigerar las bolsas originales sin abrir de las placas Petrifilm. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa o embalaje.



2 Abrir las bolsa con unas tijeras o cúter por el lado que aparece indicado. Retirar de la bolsa únicamente las placas que vayan a usarse. Volver a cerrar la bolsa doblando el lado abierto y asegurando el cierre con una pinza o cinta adhesiva.



3 Mantener las bolsas que se han abierto y vuelto a cerrar a $\leq 21^{\circ}\text{C}$ ($\leq 70^{\circ}\text{F}$). **No refrigerar las bolsas que han sido abiertas.** En este caso, usar las placas Petrifilm no más tarde de 1 mes desde su apertura.

Preparación de Muestra



4 Preparar una dilución de la muestra de alimento 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución o cualquier otro recipiente estéril apropiado.



5 Añadir el diluyente apropiado. Usar diluyentes estándar tales como tampón fosfato, agua de peptona, tampón de Butterfield, solución Ringer, peptona-sal, agua destilada y otros. No usar tampones que contengan citrato de sodio o fosfato.



6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales

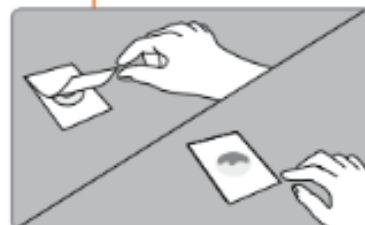
Siembra



7 Disponer la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.

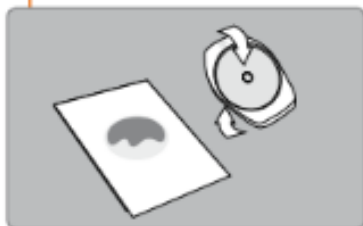


8 Pipetear 1 ml de muestra al centro aproximadamente del film inferior. Mantener la pipeta en posición vertical. No tocar el film inferior mientras se pipetea.



9 Soltar el film superior y dejarlo caer. No deslizar el film hacia abajo.

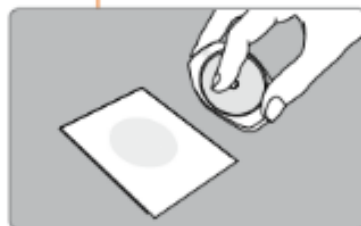
Siembra



10 Colocar el aplicador en el film superior bien centrado sobre el inóculo. Usar el aplicador con la **cara rebajada hacia abajo** (cara lisa hacia arriba).



11 Aplicar presión de **manera suave** sobre el aplicador para distribuir el inóculo por toda la zona circular. **No mover ni girar el aplicador.**



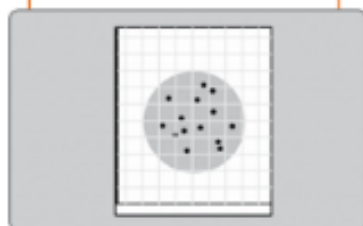
12 Levantar el aplicador. Esperar 1 minuto para que se solidifique el gel.

Incubación



13 Incubar las placas Petrifilm cara arriba y apiladas en grupos de no más de 20 placas. Incubar a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 72 ± 2 horas para cualquier tipo de alimento. Consultar otras condiciones particulares de incubación.

Interpretación



14 Leer las placas. Usar un lector de placas 3M™ Petrifilm™ contador de colonias estándar Quebec u otros. No usar luz de fondo para la lectura de esta placa, usar luz directa. Consultar la Guía de Interpretación para leer los resultados.

Comentarios Adicionales

- Los pasos 9 y 10 son específicos de las placas Petrifilm para recuento de aerobios.
- Nota: Sembrar e inmediatamente poner el aplicador con cada placa antes de sembrar la siguiente placa.



3M España, S.A.
3M Seguridad Alimentaria
C/ Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25
28027 Madrid
www.3M.com/microbiology

Llamada Gratuita
900 210 584
3M Centro de Información al Cliente

Por favor recicle. Impreso en España
©3M 2009. Todos los derechos reservados. Ref. 1354-101-EU

3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M

Anexo 18. Guía de interpretación de *E. coli*/ Coliforme.

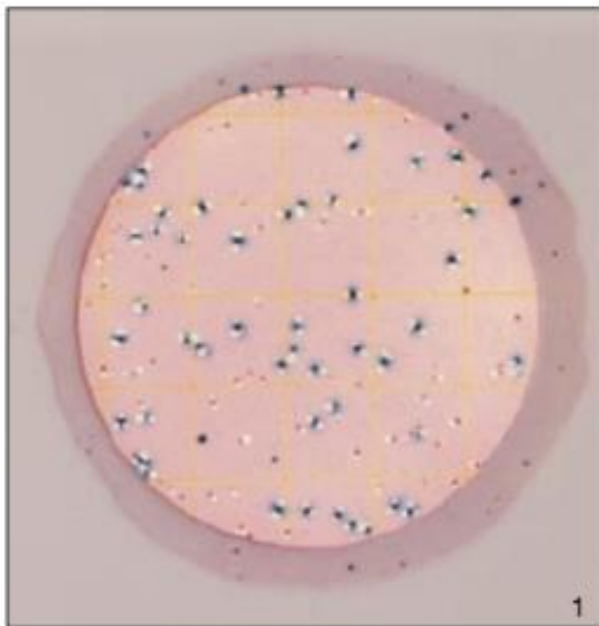
3M Guía de interpretación

Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes. Para mayor información, contacte al representante autorizado de productos de 3M Microbiología más cercano.

Las Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* y coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

La AOAC Internacional y el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA de los Estados Unidos definen los coliformes como colonias de bastoncillos gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.



La identificación de la *E. coli* puede variar de país a país (ver en "Recomendaciones de uso" tiempos de incubación y temperaturas).

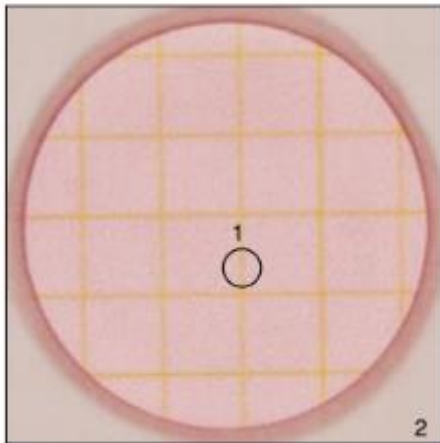
Método validado por la AOAC Internacional

***E. coli* = 49** (colonias azules con gas)

Total coliformes = 87 (colonias rojas y azules con gas)

(NO use esta placa sola para la detección de *E. coli* O157. Como la mayoría de otros medios para enumeración de *E. coli* coliformes, esta placa no señalará específicamente si está presente algún O157).

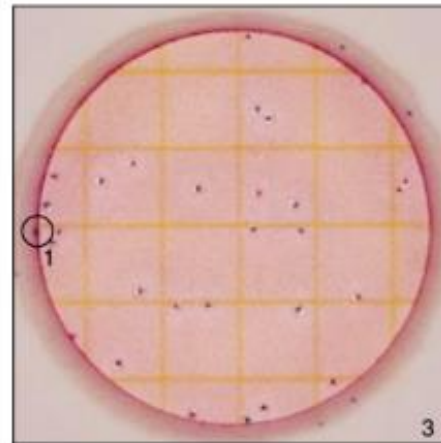
3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli* / Coliformes



No crecimiento = 0

Observe el cambio de color del gel de las figuras 2 a 8. Mientras el recuento de *E. coli* o coliformes aumenta, el color del gel se vuelve rojo oscuro o púrpura azulado.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de *E. coli* o coliformes. Ver el círculo 1.

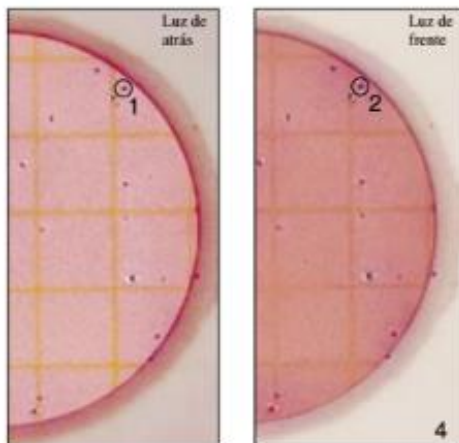


Recuento de *E. coli* = 13

Total de recuento de coliformes = 28

El rango de recuento de la población en las Placas Petrifilm EC es de 15 a 150.

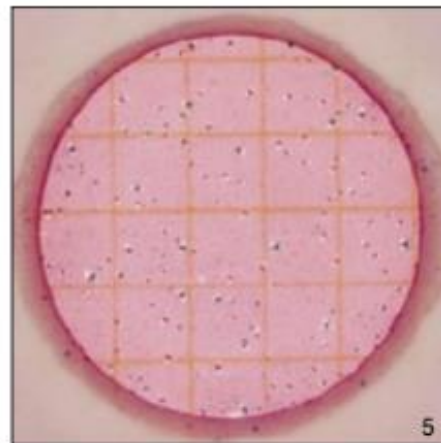
No cuente las colonias que aparecen sobre la barrera de espuma, ya que han sido removidas de la influencia del medio selectivo. Ver el círculo 1.



Recuento de *E. coli* = 3

Cualquier azul en una colonia (de azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. La luz de frente mejorará la detección del precipitado azul formado por una colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul cuyo conteo se hizo con luz de atrás. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz de frente. El azul precipitado es más evidente en el círculo 2.

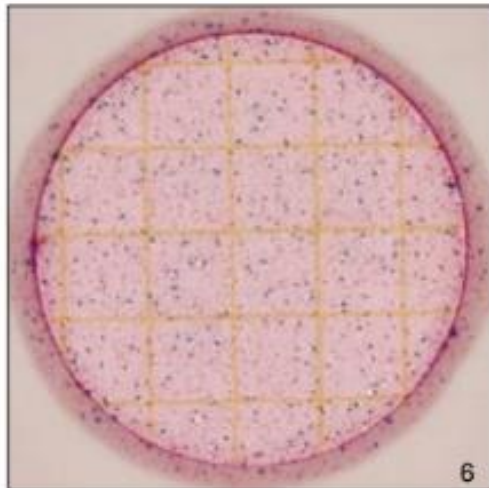


Recuento de *E. coli* = 17

Recuento total estimado de coliformes = 150

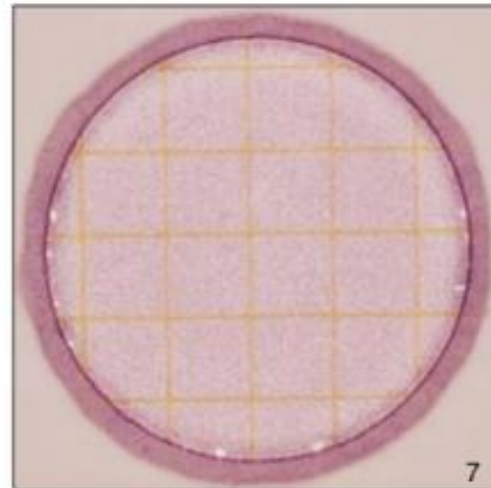
El área circular de crecimiento es de aproximadamente 20 cm². El recuento estimado se puede hacer en las placas que contienen más de 150 colonias, al contar el número de colonias en uno o más de los cuadrados representativos y al determinar el promedio por cuadrado. Multiplique el número promedio por 20 y determine el conteo estimado por placa.

MNPC (Muy Numerosas Para Contar): para obtener un recuento más preciso, diluya más la muestra



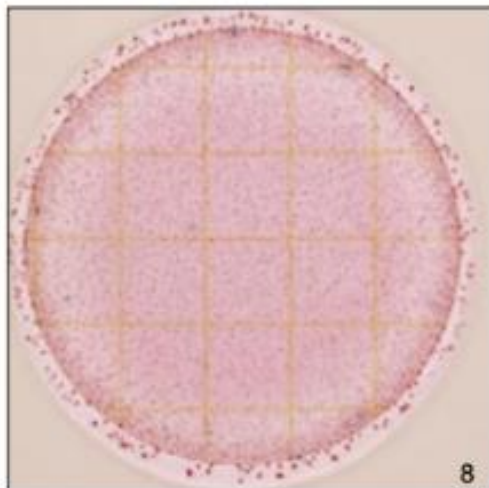
Recuento actual aprox. $\sim 10^8$

Las Placas Petrifilm EC con colonias que son MNPC, tienen una o más de las siguientes características: Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas y el oscurecimiento del gel de un color rojo a un azul púrpura.



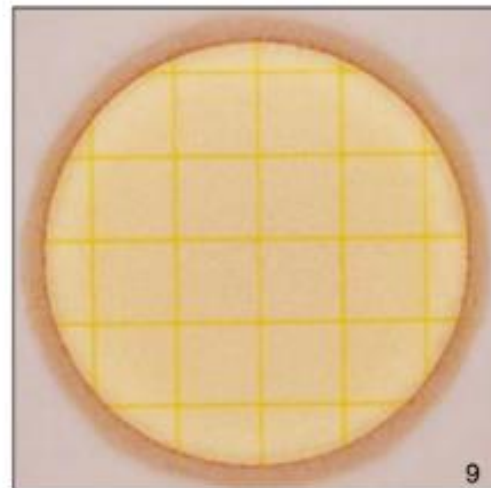
Recuento actual aprox. $\sim 10^8$

Una alta concentración de *E. coli* puede causar que el área de crecimiento se haga azul púrpura.



Recuento presuntivo de *E. coli* ~ 8

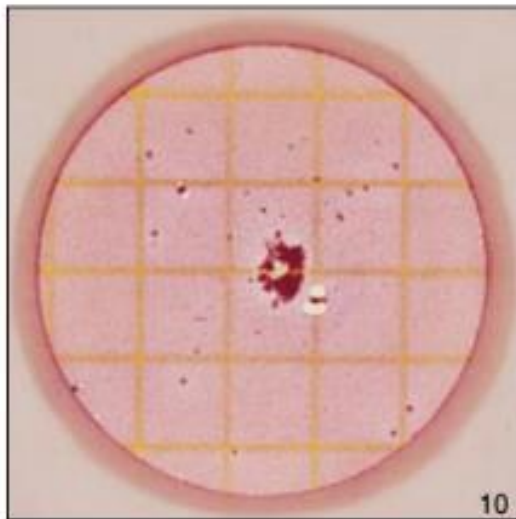
Recuento total estimado de coliformes aprox. $\sim 10^8$
Cuando existen cifras altas de coliformes (10^8), algunos tipos de *E. coli* presuntiva pueden producir menos gas y las colonias azules pueden ser menos definitivas. Cuento todas las colonias azules sin gas y/o zonas azules como *E. coli*. Si es necesaria la confirmación, aisle las colonias azules con gas para su posterior identificación.



Recuento actual aprox. de $\sim 10^8$

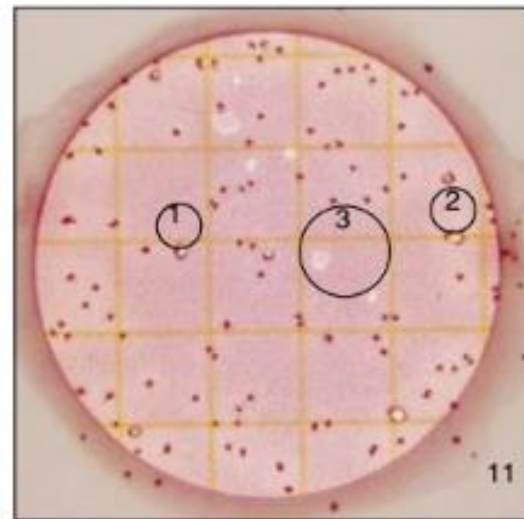
Cuando un número alto de organismos no-coliformes, como las *Pseudomonas*, estén presentes en las Placas Petrifilm EC, el gel puede volverse amarillo.

Burbujas



Recuento total de coliformes = 3

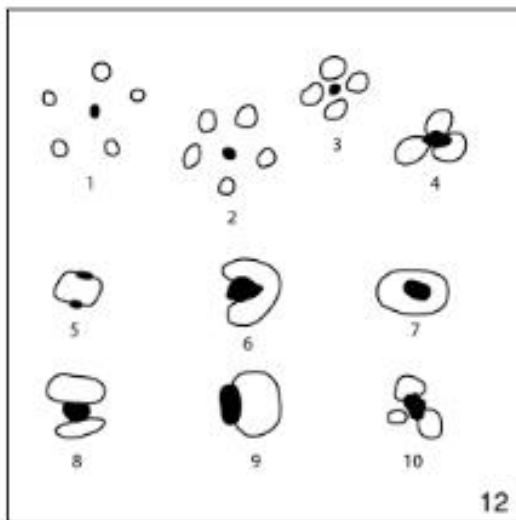
Las partículas de alimento tienen forma irregular y no tienen burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 78

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 forma irregular y no se asocian con una colonia. Vea el círculo 3.



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

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli / 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.

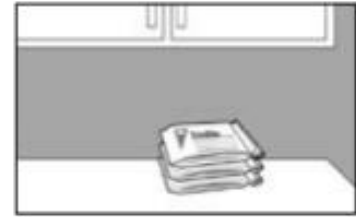
Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\pm 8^{\circ}\text{C}$ ($\pm 46^{\circ}\text{F}$). 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 sellelo 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 $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ($\pm 77^{\circ}\text{F}$) y una humedad relativa $\pm 50\%$. 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 pipete 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 Buterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 , y con pH ajustado a 7.2); agua de peptonas al 0.1%; diluyente de sal peptonada (método ISO 6887); buffer de agua peptonada (método ISO 6579); solución salina (0.85 a 0.90%); caldo letheen libre de bisulfito o agua destilada.

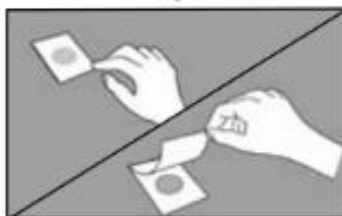
No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento.



6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.5 y 7.2:
• Para productos ácidos: use solución 1N de NaOH.
• Para productos básicos: use solución 1N de HCl.

Inoculación



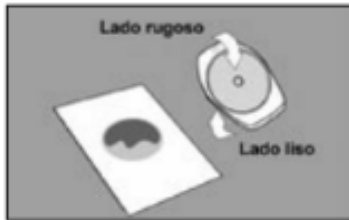
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



8 Con la Pipeta Electrónica 3M®, o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior.



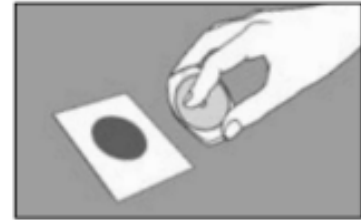
9 Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.



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

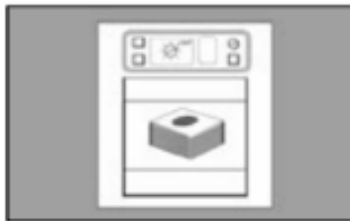


11 Presione suavemente el dispensador para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire ni deslice el dispensador.



12 Levante el dispensador. 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 humedecer el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con 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.

Los métodos aprobados más conocidos son:

- **AOAC método oficial 991.14**
Para coliformes:
Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.
Para *E. coli*:
Incubar 48 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.
- **AOAC método oficial 998.08**
Para *E. coli* (carnes, aves, marinos):
Incubar 24 h \pm 2 h a 35 °C \pm 1 °C.
- **Método NMKL (147.1993)**
Para coliformes:
Incubar 24 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C.
Para *E. coli*:
Incubar 48 h \pm 2 h a 37 °C \pm 1 °C.

Comentarios adicionales

- Nota: Recuerde inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.
- Para contactar localmente a 3M Microbiología en Latinoamérica, visítenos en nuestra página de internet: www.3M.com/microbiology
- Para servicio técnico en Latinoamérica, contacte la dirección serviciotecnomicro@mmm.com o llame al 5255-5270-2223.



3M Microbiology
3M Center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3M.com/microbiology

3M México
Av. Santa Fe 190
Col. Santa Fe, C.P. 01210
México, D.F.
Tel. (55-52) 5270-0454
01 800-712-2527
microbiologiamx@mmm.com

3M Argentina
Olga Cossetini 1031
Buenos Aires,
CP C1107CEA
Argentina
Tel. (54-11) 4339-2400
microbiologia-ar@mmm.com

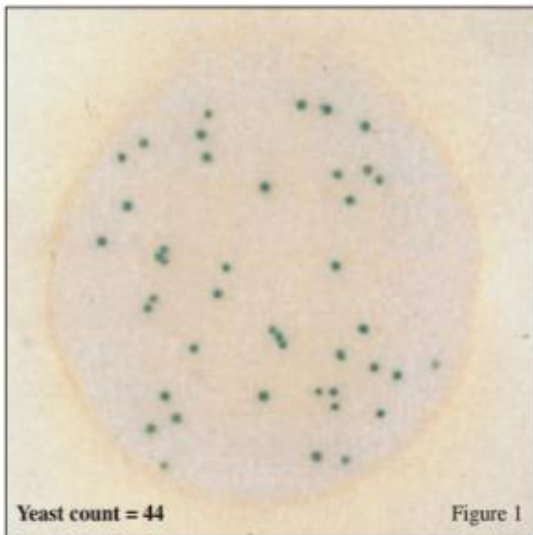
PetriFilm es una marca registrada de 3M.
Impreso en México.
Revisión: 2006-01
Referencia: 70-2008-8105-3.



Petrifilm™

Levaduras y Mohos

Guía de Interpretación



Hacer un recuento con placas Petrifilm Levaduras y Mohos es fácil. Contienen un indicador colorante para levaduras y mohos para proporcionar contraste y facilitar el recuento.

Para diferenciar las colonias de levaduras y mohos en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos, buscar una o más de las siguientes características típicas:

LEVADURAS

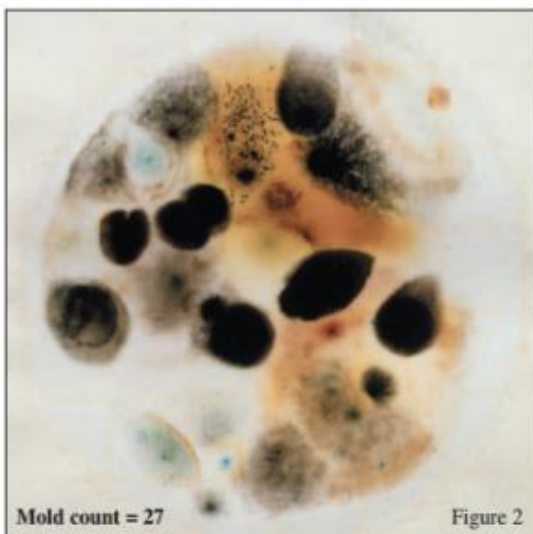
- Colonias pequeñas
- Las colonias tienen bordes definidos
- De color rosa-tostado a azul-verdoso
- Las colonias pueden aparecer alzadas ("3D")
- Generalmente no tienen un foco (centro negro) en el centro de la colonia

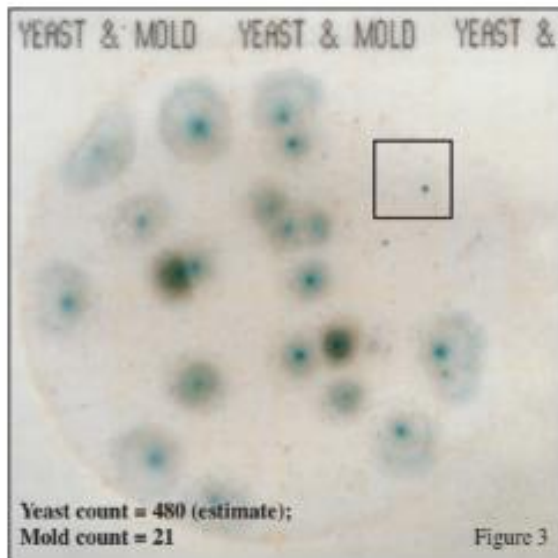
MOHOS

- Colonias grandes
- Las colonias tienen bordes difusos
- Color variable (los mohos pueden producir sus propios pigmentos)
- Las colonias son planas
- Generalmente con un foco en el centro de la colonia

Las colonias en la figura 1 son ejemplos de levaduras características: colonias pequeñas, de color azul-verdoso, con bordes definidos y sin foco (**Recuento de levaduras = 44**).

Las colonias de la figura 2 son ejemplos de mohos característicos: grandes, colonias de color variable, con bordes difusos y un foco en el centro (**Recuento de mohos = 27**).





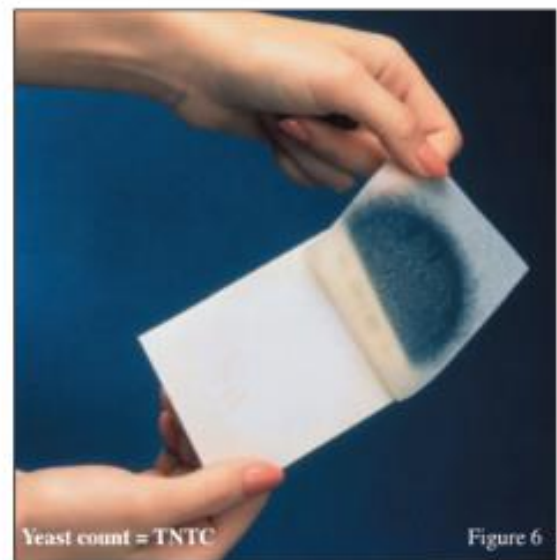
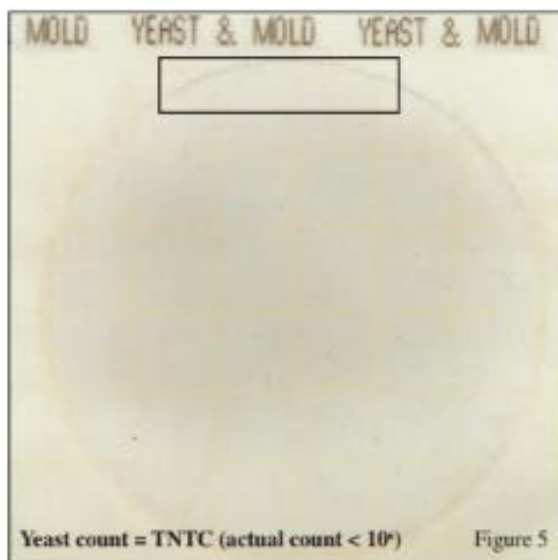
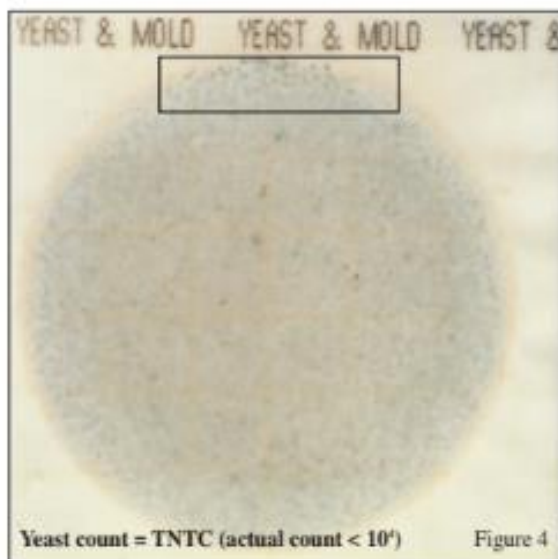
Levaduras

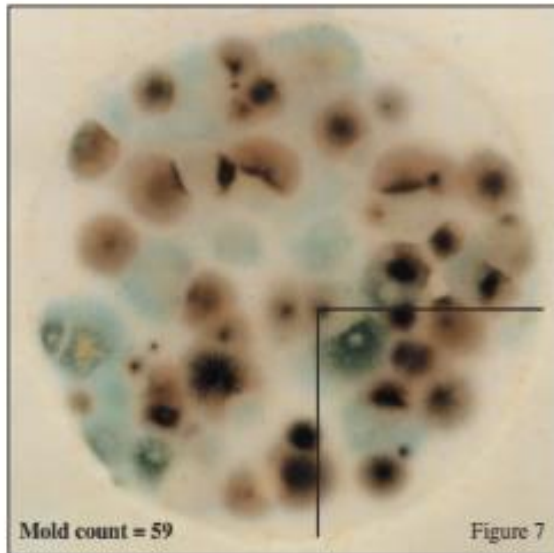
La placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 3 contiene un número fácilmente contable de mohos, (colonias grandes, verdes, con bordes difusos y un foco central) y un gran número de colonias de levaduras. Las colonias de levaduras son pequeñas, de color tostado, con bordes definidos y sin foco. Cuando el número de colonias es más de ISO, se debe hacer una estimación: determinar el número medio de colonias en un cuadrado (1 cm²) y multiplicar por 30 para obtener el recuento total por placa. El área inoculada de una placa Petrifilm Levaduras y Mohos es de aproximadamente 30 cm² (**Recuento de levaduras = 480 (estimado) ; Recuento de mohos = 21**).

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 4 contiene un elevado número de colonias de levaduras, demasiado numeroso para ser contado (TNTC). Las colonias pequeñas y azules en el borde de la placa la diferencian de una placa de mohos TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10⁶**).

Algunas veces las placas Petrifilm Levaduras y Mohos con un número alto de colonias de levaduras pueden parecer que tengan un crecimiento azul sólo en los bordes (figura 5). También es un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC, recuento actual >10⁶**).

Si las placas Petrifilm Levaduras y Mohos parecen no tener crecimiento, levantar el film superior (figura 6). Si hay presentes muchas levaduras, se verán colonias blancas en el gel. Se anota como un recuento de levaduras TNTC (**Recuento de levaduras = TNTC**).





Mohos

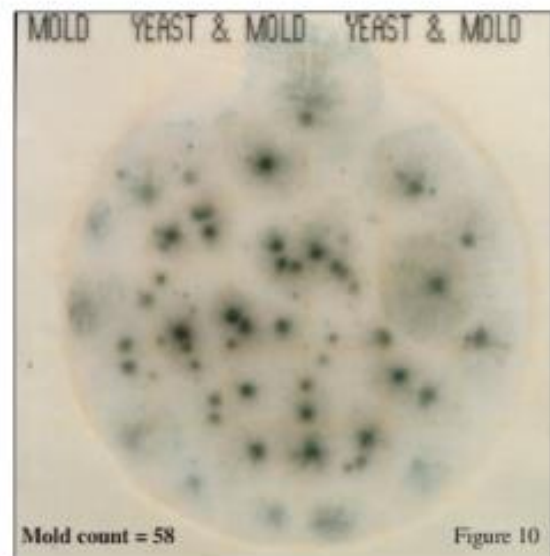
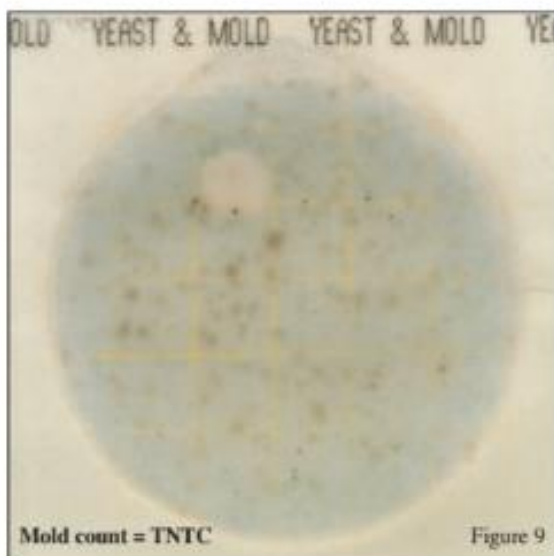
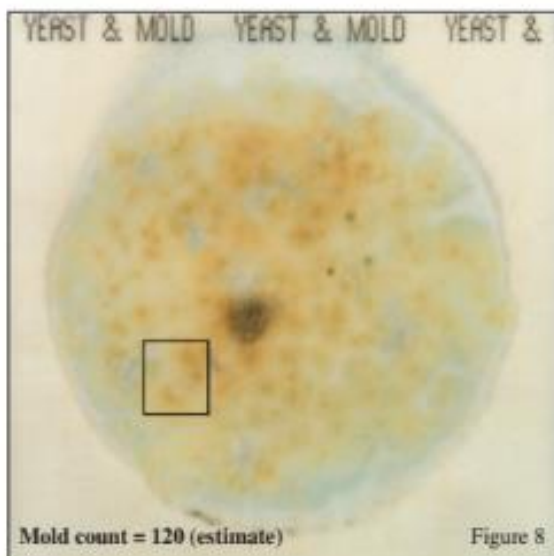
Las colonias de mohos en la placa Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 7 son colonias de pigmentación variable, con bordes difusos y un foco central. Son grandes, empezando a esporular y superponerse entre sí en la placa. Para facilitar el recuento dividir la placa en secciones y buscar focos que permitan distinguir colonias individuales. El recuadro muestra 15 mohos (**Recuento de mohos = 59**).

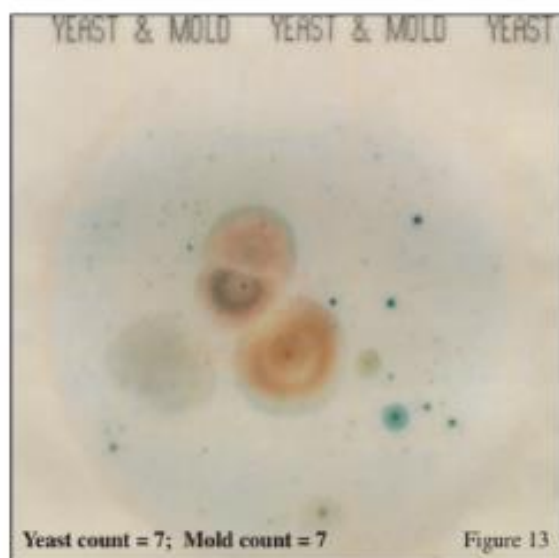
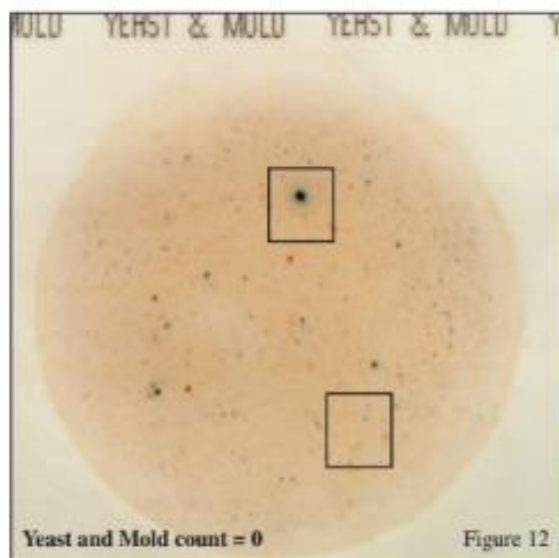
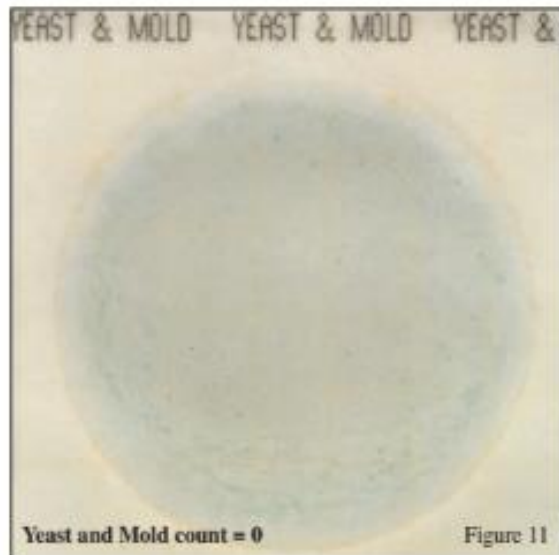
Notar la pigmentación variable con bordes vellosos en la placa de la figura 8, causado por el elevado número de colonias de mohos y la esporulación que ha tenido lugar. Estimar el número contando los focos. En el cuadrado que se muestra hay 4 colonias (**Recuento de mohos = 120 (estimado)**).

Igual que con todos los métodos de recuento en placas, las placas con muchas colonias pueden mostrar características de colonias atípicas. Es importante hacer una correcta dilución para asegurar un recuento exacto.

Las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 9 y 10 son diluciones 1:10 y 1:100, respectivamente, del mismo producto. Las colonias de la figura 9 son pequeñas, pálidas y numerosas, haciendo el contaje difícil de estimar. Hay una burbuja como artefacto (**Recuento de mohos = TNTC**).

La dilución del producto para obtener un recuento de colonias en el margen deseado (15-150 colonias) facilita el recuento. Los mohos de la figura 10 son grandes, con bordes difusos y focos centrales (**Recuento de mohos = 58**). El apilamiento de las colonias de la placa en la figura 9 impide su crecimiento típico.





Reacción de la fosfatasa

Todas las células vivas contienen el enzima fosfatasa. En presencia de la fosfatasa el indicador de las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos se activa y las colonias de levaduras y mohos se colorean de azul.

Algunos alimentos crudos o procesados que contienen células vivas (y por tanto, fosfatasa) pueden dar reacción a color azul. A veces pueden observarse 2 tipos diferentes de reacciones de color de los productos: un color azul uniforme del medio o puntos azules intensos (se ven a menudo en especias o productos granulados).

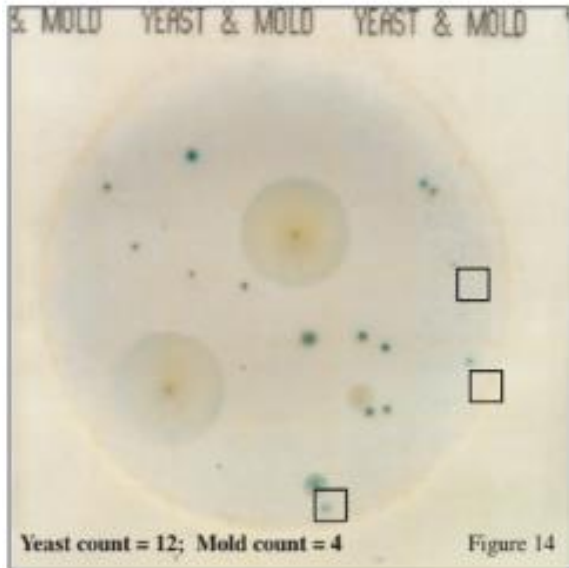
La reacción de color por la fosfatasa natural en un producto se puede distinguir de las colonias de levaduras y mohos mediante una o varias de las siguientes técnicas:

- 1) **DILUCION** : Si es posible, una mayor dilución eliminará el color azul del medio, o reducirá el número de puntos azules.
- 2) **SOBRENADANTE DE LA PLACA**: Mezclar la muestra y dejar reposar 3-5 minutos para eliminar partículas grandes del producto que pueden a menudo causar las reacciones de color de tipo puntiforme.
- 3) **TEMPERATURA DE INCUBACION** : Incubar las placas a la temperatura apropiada: $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Las reacciones enzimáticas (fosfatasa) ocurren más rápidas al incrementar la temperatura.
- 4) **CONTROL**: Leer las placas Petrifilm Levaduras y Mohos tras 24-28 horas. Observar cualquier cambio de color que pueda ser de ayuda en la interpretación final.

La placa de Petrifilm Levaduras y Mohos de la figura 11 es un ejemplo de una placa con un color uniforme del medio causado por la "fosfatasa natural" presente en la muestra analizada. El aspecto "granuloso", se debe a las partículas de producto que se hallan en la dilución inoculada. Para distinguirlo de un recuento de levaduras o mohos TNTC, observar los bordes de la placa (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

La figura 12 es un ejemplo de reacción con puntos azules, que se pueden ver con la "fosfatasa natural" en algunos alimentos. Observar su forma: pequeñas, puntiformes o irregulares y el color azul intenso, que a menudo colorea los bordes de algunas de las partículas más grandes (**Recuento de levaduras y mohos = 0**).

Otro ejemplo de reacciones que dan puntos de color azul se muestra en la figura 13. Los puntos son muy brillantes, pequeños y de forma irregular. Las colonias de levaduras son pequeñas, azul-verdosas, con bordes definidos. Las colonias de mohos son grandes, de pigmentación variable, con bordes difusos y foco en el centro (**Recuento de levaduras = 7 ; Recuento de mohos = 7**).



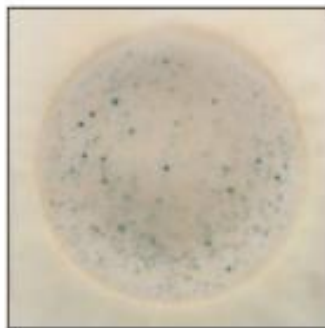
La figura 14 tiene el mismo producto que el de la figura 13, inoculado tras dejar reposar 3-5 minutos las partículas del producto. Todavía hay algunas manchas puntiformes (encuadradas) causadas por las partículas del producto, pero la mayor parte de la interferencia del producto se ha eliminado (**Recuento de levaduras = 12 ; Recuento de mohos = 4**).

Tiempo y temperatura

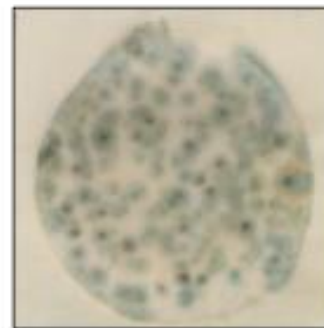
El tiempo y temperatura adecuada de incubación es importante para asegurar el crecimiento de los tipos de levaduras y mohos que pueden causar alteraciones. Estas levaduras y mohos crecen generalmente despacio, y son sensibles a altas temperaturas, sin tener en cuenta el método usado.

Para asegurar un crecimiento adecuado, incubar las placas de Petrifilm Levaduras y Mohos a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, y leer las placas a los **3 y 5 días**. Como que las colonias de mohos crecen entre los films, la lectura de las placas Petrifilm no originará colonias adicionales a partir de nuevas esporas. La incubación de las placas Levaduras y Mohos a una

temperatura más alta no implica un resultado más rápido, sino que puede significar un resultado inexacto como se muestra en las placas Petrifilm Levaduras y Mohos de las figuras 15 y 16. Son placas duplicadas con el mismo producto y dilución, pero incubadas a diferentes tiempos y temperaturas.



Recuento de levaduras = TNTC
Incubado 3 días a 35°C



Recuento de levaduras = TNTC
(recuento actual $\geq 10^7$)
Recuento de mohos = 120 (estimado)
Incubado 5 días a temperatura ambiente



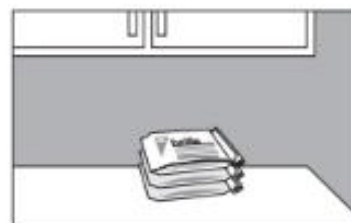
Almacenamiento



1 Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.



2 Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.



3 Mantener las bolsas cerradas de nuevo a $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$, a $<50\%$ HR. No refrigerar las bolsas abiertas. Usar las placas Petrifilm en 1 mes desde su apertura.

Preparación



4 Preparar una dilución del producto alimenticio a 1:10 o superior. Pesar o pipetear la muestra en una bolsa Whirlpac, bolsa Stomacher, botella de dilución, o cualquier otro contenedor estéril apropiado.

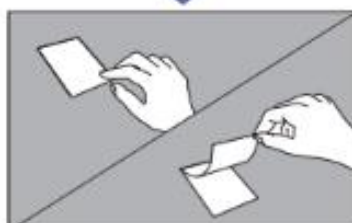


5 Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Pueden ser los métodos standard de tampón fosfato, agua peptonada al 0,1 %, triptona sal, agua destilada, solución salina fosfato tamponada o tampón de Butterfield. No utilizar tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.



6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos usuales. Si se requiere una sensibilidad mayor con productos lácteos o zumos consultar el folleto para Petrifilm en productos lácteos y zumos.

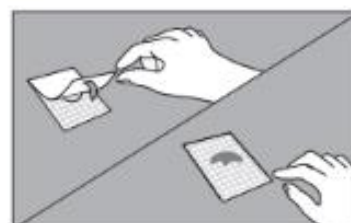
Inoculación



7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior.



8 Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 ml. de muestra en el centro del film inferior.



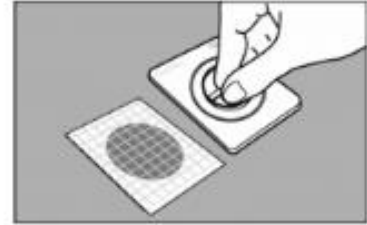
9 Dejar caer el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire.



10 Sujetando el aplicador por la barra de soporte, colocar el aplicador para Petrifilm levaduras y mohos sobre la placa Petrifilm.



11 Ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



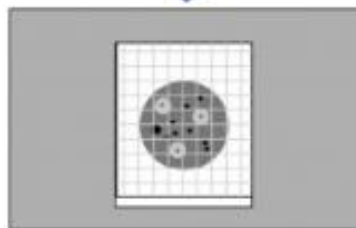
12 Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

Incubación



13 Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas a temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 3-5 días.

Interpretación



14 Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias standard tipo Quebec o una fuente de luz con aumento. Para leer los resultados consultar la Guía de Interpretación.

Comentarios adicionales

- los pasos 9 y 10 son únicos para las placas Petrifilm levaduras y Mohos.
- Nota: recordar inocular y poner el aplicador antes de pasar a la siguiente placa.

Date	Version
Février 2004	1.0

3M

Microbiology Products
Laboratoires 3M Santé

Boulevard de l'Oise
F - 95029 Cergy Pontoise Cedex
Tél. 01 30 31 85 77

For Europe, please contact :
Laboratoires 3M Santé
Tél. : (33) 1 30 31 85 71
Fax : (33) 1 30 31 85 78



Anexo 20. Fotografías del experimento.



Recepción de (nibs, cascarilla y almendra)



Selección (nibs, cascarilla y almendra)



Tostado (nibs, cascarilla y almendra)



Molido de (nibs, cascarilla y almendra)



Pasta de (nibs, cascarilla y almendra)



Extracción de grasa



Esterilización de materiales



Preparación de materiales



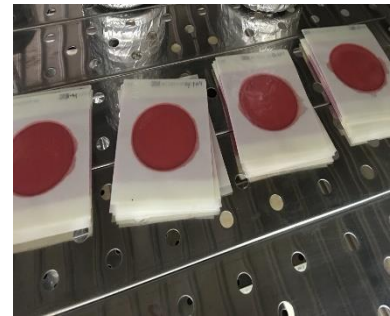
Preparación de placas petrifilm



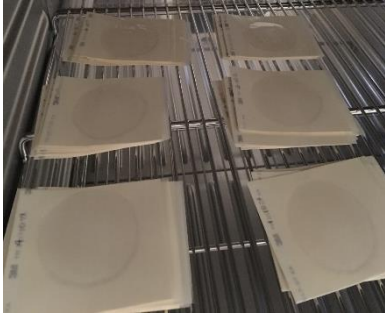
Siembra en placas petrifilm



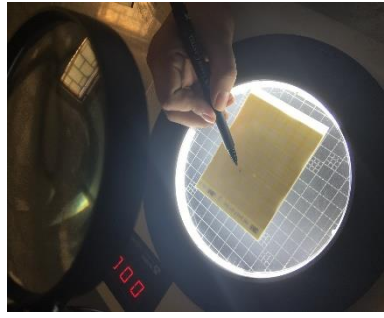
Siembra en placas petrifilm



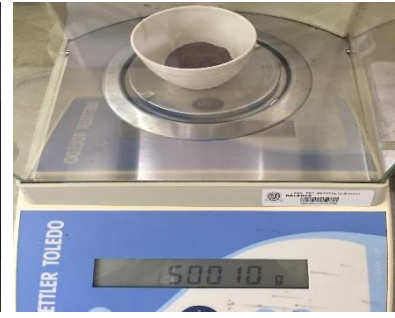
Incubación placas petrifilm



Incubación placas
petrifilm



Recuento de placas
petrifilm



Pesar las muestras de
polvo soluble



Determinación de
humedad y cenizas total-
insoluble



Determinación de
humedad y cenizas total-
insoluble



Determinación de grasa



Determinación de grasa



Análisis sensorial