



Tesis final-Granja2.docx

Scanned on: 20:46 February 15, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found











Total Words in Text

Identical Words	180
Words with Minor Changes	25
Paraphrased Words	196
Omitted Words	3395

Results

The results contain any sources we have found that include words with identical, minor changes, and paraphrased text in your submitted document.

 0381 https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/381.pdf	0%
 MENDOZA LAGOS GIAN MANUEL https://pt.slideshare.net/prototypems2/mendoza-lagos-gian-manuel	0%
 documento de trabajo de titulacion http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/22282/1/T-ESPESD-00305...	0%
 Aislamiento_QuevedoOlaya_Karol.pdf?sequence=1&isAllow... https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/7752/Aisl...	0%
 UPS-QT13597.pdf https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16555/4/UPS-QT13597.pdf	0%
 C2_en construccion.pdf https://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_en%20construcci...	0%
 ADRIAN FABRICIO FERRIN GILER - ppt descargar https://slideplayer.es/slide/14666480/	0%
 (PDF) Control del deterioro microbiológico de filetes de tilap... https://www.researchgate.net/publication/334554285_Control_del_deterio...	0%

IDENTICAL

Identical matches are one to one exact wording in the text.

MINOR CHANGES

Nearly identical with different form, ie "slow" becomes "slowly".








PARAPHRASED

Close meaning but different words used to convey the same message.

Unsure about your report?

The results have been found after comparing your submitted text to online sources, open databases and the Copyleaks internal database. For any questions about the report contact us on support@copyleaks.com

[Learn more about different kinds of plagiarism here](#)

 ANEJO I_1517253331217425624832368996180.pdf?sequence=3 https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/98744/ANEJO%20I_1517253...	0%
 A173_ES.pdf https://www.itwreagents.com/uploads/20180122/A173_ES.pdf	0%
 Palacios_Pedro y Sisa Bayron_2019.pdf?sequence=1 https://ridum.umanizales.edu.co/xmlui/bitstream/handle/20.500.12746/4...	0%
 Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas a pa... https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1161&context=zo...	0%
 Grasas y ácidos grasos en nutrición humana https://www.fao.org/3/i1953s/i1953s.pdf	0%
 T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-111.pdf http://201.159.223.180/bitstream/3317/7706/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-11...	0%
 Estudio del efecto de las concentraciones de cloruro de sodi... http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/25973	0%

Scanned Text

Your text is highlighted according to the matched content in the results above.

● IDENTICAL ● MINOR CHANGES ● PARAPHRASED

Dedicatoria
Agradecimiento
Resumen
Abstract
Capítulo I
Introducción
ObjetivosObjetivo general
Objetivos específicos

HipótesisHipótesis para el Factor A (Especies de tilapia)
Hipótesis para el Factor B (Concentraciones de cloruro de sodio + BAL)

Capítulo II
Revisión de LiteraturaCacaoGeneralidades
Taxonomía
Variedades
Composición del fruto del cacao
Mucílago de cacao
Fermentación del mucilago de cacao

Bacterias Acido lácticasGeneralidades
Taxonomía y Características
Capacidad antimicrobiana
Identificación molecular
Efecto de las BAL como conservante en productos alimenticios

TilapiaClasificación Taxonómica
Produccion de la tilapia
Causas y efectos del deterioro en pescado fresco
Composición química
Efecto del pH en el pescado

Bioconservación
Cloruro de sodio

Capítulo III

Metodología Ubicación del área de investigación Ubicación política
Ubicación Ecológica
Ubicación Geográfica

Materiales Determinación de pH
Determinación de Acidez
Determinación de Sólidos Solubles
Aislamiento e identificación de las bacterias ácido lácticas
Tinción Gram
Ensayo de catalasa
Enriquecimiento selectivo de las bacterias ácido lácticas
Bioconservación de la carne de tilapia
Recuento de poblaciones microbianas
Determinación de proteína bruta
Determinación de humedad
Determinación de grasas totales
Determinación de cenizas

Métodos Obtención de la materia prima
Fermentación del mucílago de cacao
Siembra y Aislamiento de las bacterias ácido lácticas
Identificación microbiana Tinción Gram.
Prueba de catalasa.
Secuenciación y análisis filogenético.

Bioconservación de las carnes de tilapia Solución bacteriana.
Preparación de la muestra.

Análisis Sensorial

Diseño Experimental Factores del experimento
Tratamientos a comparar
Tipo de diseño
Repeticiones
Análisis Estadístico
Análisis funcional
Variables evaluadas pH
Acidez Titulable
Sólidos Solubles
Proteína bruta
Humedad
Grasa total
Cenizas
Recuento de poblaciones microbianas

Capítulo IV
Resultados Caracterización físico-química del mucílago de cacao
Identificación de las BAL aisladas del mucílago de cacao fermentado
Análisis de varianza Análisis de varianza para la variable pH
Análisis de varianza para la variable acidez titulable
Análisis de varianza para la variable humedad
Análisis de varianza para la variable grasa total
Análisis de varianza para la variable cenizas
Análisis de varianza para la variable proteína bruta

Prueba de significancia de Tukey para los factores de estudio Resultados del estudio para las especies de tilapia (Factor A)
Resultados del estudio para las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL (Factor B)

Prueba de Tukey para la interacción significativa en la bioconservación Análisis de Tukey en la interacción A*B

(Tilapia+Concentración de NaCl con BAL)

Parámetro microbiológico de las carnes de tilapia Recuento de bacterias aerobias
Recuento de Enterobacterias, mohos y levaduras

Análisis de conglomerados
Análisis de componentes principales
Análisis sensorial

Capítulo V

Discusión Respecto a las especies de tilapia (Factor A)
Respecto a las distintas concentraciones de cloruro de sodio con las bacterias ácido lácticas (Factor B)
Respecto a la interacción A*B (Especie de Tilapia + Concentración de cloruro de sodio con BAL)
Calidad microbiológica

Capítulo VI

Conclusiones Factor A (Especie de tilapia)
Factor B (Concentración de cloruro de sodio con BAL)
Interacción A*B (Especie de tilapia + Concentración de NaCl con BAL)

Recomendaciones

Capítulo VII

Bibliografía

1

Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (Mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de carne de dos especies de tilapia: Negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) considerando distintas concentraciones de cloruro de sodio

Granja Cedeño, Angie Mishell

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

07 de febrero del 2022

Santo Domingo – Ecuador

2

3

4

5

6

Dedicatoria

7

Agradecimiento

8

Índice de Contenido

Caratula.....1

.....1

Reporte de verificación de contenido

..... 2

Certificación

.....

..... 3

Responsabilidad de auditoría

..... 4

Autorización de publicación

.....

5

Dedicatoria.....6

Agradecimiento.....7

Resumen..... 17

Abstract.....18

Capítulo I..... 19

Introducción.....19

Objetivos.....21

Objetivo general.....21

Objetivos específicos.....21

Hipótesis.....22

Hipótesis para el Factor A (Especies de tilapia).....22

Hipótesis para el Factor B (Concentraciones de cloruro de sodio + BAL)...22

Capítulo II.....23

Revisión de Literatura.....23

Cacao..... 23

<i>Generalidades</i>	23
<i>Taxonomía</i>	23
<i>Variedades</i>	24
<i>Composición del fruto del cacao</i>	26
<i>Mucílago de cacao</i>	26
<i>Fermentación del mucilago de cacao</i>	27
<i>Bacterias Acido lácticas</i>	28
<i>Generalidades</i>	28
<i>Taxonomía y Características</i>	29
<i>Capacidad antimicrobiana</i>	31
<i>Identificación molecular</i>	32
<i>Efecto de las BAL como conservante en productos alimenticios</i>	32
<i>Tilapia</i>	33
<i>Clasificación Taxonómica</i>	33
<i>Producción de la tilapia</i>	34
<i>Causas y efectos del deterioro en pescado fresco</i>	35
<i>Composición química</i>	35
<i>Efecto del pH en el pescado</i>	36
<i>Bioconservación</i>	37
<i>Cloruro de sodio</i>	38
<i>Capítulo III</i>	39
<i>Metodología</i>	39
<i>Ubicación del área de investigación</i>	39
<i>Ubicación política</i>	39
<i>Ubicación Ecológica</i>	39
<i>Ubicación Geográfica</i>	40
<i>Materiales</i>	41

<i>Determinación de pH</i>	41
<i>Determinación de Acidez</i>	41
<i>Determinación de Sólidos Solubles</i>	42
<i>Aislamiento e identificación de las bacterias ácido lácticas</i>	42
<i>Tinción Gram</i>	43
<i>Ensayo de catalasa</i>	43
<i>Enriquecimiento selectivo de las bacterias ácido lácticas</i>	44
<i>Bioconservación de la carne de tilapia</i>	44
<i>Recuento de poblaciones microbianas</i>	45
<i>Determinación de proteína bruta</i>	45
<i>Determinación de humedad</i>	46
<i>Determinación de grasas totales</i>	47
<i>Determinación de cenizas</i>	47
<i>Métodos</i>	48
<i>Obtención de la materia prima</i>	48
<i>Fermentación del mucilago de cacao</i>	48
<i>Siembra y Aislamiento de las bacterias ácido lácticas</i>	48
<i>Identificación microbiana</i>	49
<i>Tinción Gram</i>	49
<i>Prueba de catalasa</i>	49
<i>Secuenciación y análisis filogenético</i>	49
<i>Bioconservación de las carnes de tilapia</i>	50
<i>Solución bacteriana</i>	50
<i>Preparación de la muestra</i>	50
<i>Análisis Sensorial</i>	51
<i>Diseño Experimental</i>	52
<i>Factores del experimento</i>	52

<i>Tratamientos a comparar</i>	52
<i>Tipo de diseño</i>	53
<i>Repeticiones</i>	53
<i>Análisis Estadístico</i>	53
<i>Análisis funcional</i>	54
<i>Variables evaluadas</i>	54
<i>pH</i>	54
<i>Acidez Titulable</i>	54
<i>Sólidos Solubles</i>	56
<i>Proteína bruta</i>	56
<i>Humedad</i>	57
<i>Grasa total</i>	58
<i>Cenizas</i>	59
<i>Recuento de poblaciones microbianas</i>	60
<i>Capítulo IV</i>	61
<i>Resultados</i>	61
<i>Caracterización físico-química del mucílago de cacao</i>	61
<i>Identificación de las BAL aisladas del mucílago de caco fermentado</i>	63
<i>Análisis de varianza</i>	66
<i>Análisis de varianza para la variable pH</i>	66
<i>Análisis de varianza para la variable acidez titulable</i>	68
<i>Análisis de varianza para la variable humedad</i>	70
<i>Análisis de varianza para la variable grasa total</i>	71
<i>Análisis de varianza para la variable cenizas</i>	73
<i>Análisis de varianza para la variable proteína bruta</i>	74
<i>Prueba de significancia de Tukey para los factores de estudio</i>	76
<i>Resultados del estudio para las especies de tilapia (Factor A)</i>	76

<i>Resultados del estudio para las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL (Factor B).....</i>	<i>79</i>
<i>Prueba de Tukey para la interacción significativa en la bioconservación...82</i>	<i>82</i>
<i>Análisis de Tukey en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL).....</i>	<i>82</i>
<i>Parámetro microbiológico de las carnes de tilapia.....</i>	<i>89</i>
<i>Recuento de bacterias aerobias.....</i>	<i>89</i>
<i>Recuento de Enterobacterias, mohos y levaduras.....</i>	<i>90</i>
<i>Análisis de conglomerados.....</i>	<i>91</i>
<i>Análisis de componentes principales.....</i>	<i>92</i>
<i>Análisis sensorial.....</i>	<i>96</i>
<i>Capítulo V.....</i>	<i>98</i>
<i>Discusión.....</i>	<i>98</i>
<i>Respecto a las especies de tilapia (Factor A).....</i>	<i>99</i>
<i>Respecto a las distintas concentraciones de cloruro de sodio con las bacterias ácido lácticas (Factor B).....</i>	<i>100</i>
<i>Respecto a la interacción A*B (Especie de Tilapia + Concentración de cloruro de sodio con BAL).....</i>	<i>102</i>
<i>Calidad microbiológica.....</i>	<i>104</i>
<i>Capítulo VI.....</i>	<i>106</i>
<i>Conclusiones.....</i>	<i>106</i>
<i>Factor A (Especie de tilapia).....</i>	<i>106</i>
<i>Factor B (Concentración de cloruro de sodio con BAL).....</i>	<i>107</i>
<i>Interacción A*B (Especie de tilapia + Concentración de NaCl con BAL). . .</i>	<i>108</i>
<i>Recomendaciones.....</i>	<i>109</i>
<i>Capítulo VII.....</i>	<i>110</i>
<i>Bibliografía.....</i>	<i>110</i>

Índice de Tablas

<i>Tabla 1. Taxonomía del Cacao (Theobroma cacao L.).....</i>	<i>24</i>
<i>Tabla 2. Taxonomía de la tilapia.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabla 3. Composición química de la carne de la tilapia.....</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 4. Recursos necesarios para la determinación de pH.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 5. Recursos necesarios para la determinación de acidez.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 6. Recursos necesarios para la determinación de sólidos solubles.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 7. Recursos necesarios para el aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas presentes en el mucilago de cacao fermentado.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 8. Recursos necesarios para la tinción Gram.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 9. Recursos necesarios para el ensayo de catalasa.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 10. Recursos necesarios para el enriquecimiento de las BAL.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 11. Recursos necesarios para la preparación de la solución probiótica.</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 12. Recursos necesarios para el recuento microbiológico.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 13. Recursos necesarios para la determinación de proteína bruta en las carnes de tilapia.....</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 14. Recursos necesarios para la determinación de humedad en las carnes de tilapia.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 15. Recursos necesarios para la determinación de grasa total en las carnes de tilapia.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 16. Recursos necesarios para la determinación de ceniza en las carnes de tilapia.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 17. Factores y Niveles a probar en el estudio de la bioconservación de carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas provenientes de mucilago de cacao y distintas concentraciones de cloruro de sodio.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 18. Tratamientos a comparar en el estudio de la bioconservación de carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas provenientes de mucilago de cacao y distintas concentraciones de cloruro de sodio.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 19. Esquema de análisis de varianza (ANOVA) para el estudio de la bioconservación de las carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas</i>	

<i>provenientes de mucilago de cacao y diferentes concentraciones de cloruro de sodio.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 20. Caracterización físico-química del mucilago de cacao fresco y fermentado.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 21. Resultados de las pruebas microbiológicas de identificación bacteriana.....</i>	<i>63</i>
<i>Tabla 22. Análisis de varianza para la variable pH en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla 23. Análisis de varianza para la variable pH en el día 5 de la bioconservación.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 24. Análisis de varianza para la variable pH en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>67</i>
<i>Tabla 25. Análisis de varianza para la variable acidez titulable en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>68</i>
<i>Tabla 26. Análisis de varianza para la variable acidez titulable en el día 5 de la bioconservación.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 27. Análisis de varianza para la variable acidez titulable en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla 28. Análisis de varianza para la variable humedad en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>70</i>
<i>Tabla 29. Análisis de varianza para la variable humedad en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 30. Análisis de varianza para la variable grasa total en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabla 31. Análisis de varianza para la variable grasa total en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabla 32. Análisis de varianza para la variable cenizas en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla 33. Análisis de varianza para la variable cenizas en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 34. Análisis de varianza para la variable proteína bruta en el día 0 de la bioconservación.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 35. Análisis de varianza para la variable proteína bruta en el día 10 de la bioconservación.....</i>	<i>75</i>

<i>Tabla 36. Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor A en las variables físico-químicas.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 37. Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor A en las variables bromatológicas.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 38. Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor B en las variables físico-químicas.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabla 39. Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor B en las variables bromatológicas.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabla 40. Resultados del análisis de la prueba Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 41. Resultados del análisis de la prueba Tukey para la interacción A*B en las variables bromatológicas.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 42. Recuento de Enterobacterias, mohos y levaduras en el día 10 de bioconservación de las carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas en distintas concentraciones de cloruro de sodio.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 43. Matriz de correlación de componentes principales.....</i>	<i>92</i>
<i>Tabla 44. Matriz de componentes.....</i>	<i>93</i>
<i>Tabla 45. Porcentajes de varianza total explica.....</i>	<i>93</i>
<i>Tabla 46. Análisis sensoriales de las carnes de tilapia (O. mossambicus y O. niloticus) bioconservadas con cloruro de sodio y BAL, durante 10 días.....</i>	<i>96</i>

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa de la ubicación geográfica del área de investigación.....	40
Figura 2. Árbol filogenético basado en las secuencias 16S ARNr de las BAL.	64
Figura 3. Estudio del efecto de las especies de tilapia (Factor A) en las variables de estudio.....	77
Figura 4. Estudio del efecto de las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL (Factor B) en las variables de estudio.....	80
Figura 5. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable pH.....	83
Figura 6. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable acidez titulable.....	84
Figura 7. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable humedad.	85
Figura 8. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable grasa total.	86
Figura 9. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable cenizas.. .	87
Figura 10. Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable proteína bruta.....	88
Figura 11. Recuento de bacterias aerobias durante el tiempo de bioconservación de las carnes de tilapia con bacterias lácticas en distintas concentraciones de cloruro de sodio.....	89
Figura 12. Dendograma para los factores en estudio.....	91
Figura 13. Gráfica de sedimentación.....	94
Figura 14. Gráfica de componentes principales.....	95

Resumen

En el presente estudio tuvo la finalidad de aislar y caracterizar las bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (Mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de carne de dos especies de tilapia: Negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) considerando

distintas concentraciones de cloruro de sodio, siendo una idea innovadora para extender la vida útil del pescado que son afectas por microorganismos no deseados. La investigación fue realizada en los laboratorios de la **Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE** sede Santo Domingo. El aislamiento de las bacterias ácido lácticas se realizó del mucílago fermentado del cacao durante 72 horas, y luego se cultivó en un medio MRS agar y caldo MRS, suspendiéndolas en una solución ácido cítrico-citrato de sodio. El diseño experimental se basó en un modelo bifactorial (Especies de Tilapia: *O. mossambicus* y *O. niloticus*; Concentraciones de cloruro de sodio con bacterias lácticas: 10, 15 y 20%) en un diseño de bloques completamente al

18

azar, con 6 **tratamientos y 3 repeticiones; para la** separación de medias se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0.05$). **Las bacterias ácido lácticas obtenidas** pertenecieron a la especie *Lactobacillus plantarum*. Además, los resultados de los análisis físico-químicos (pH, acidez, humedad, grasa, ceniza y proteína) y microbiológico evaluados en la tilapia presentaron diferencias significativas. Al bioconservarlas en refrigeración por 10 días, se logró extender su vida útil. Los tratamientos en la especie *O. niloticus* presentaron mayor acidez, humedad, grasa, ceniza y proteína, en comparación a la especie *O. mossambicus* que obtuvo mayor pH. Además, no se presentó crecimiento de hongos, levaduras y enterobacterias por la presencia de las bacterias ácido lácticas.

Palabras claves:

BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS

BIOCONSERVACIÓN

CLORURO DE SODIO

MUCÍLAGO

TILAPIA

Abstract

In the present study it had the purpose of isolating and characterizing lactic acid bacteria in two varieties of cocoa (Mucilage), National and CCN-51, for the bioconservation of meat of two species of tilapia: Black (*Oreochromis mossambicus*) and red (*Oreochromis niloticus*) considering different concentrations of sodium chloride, being an innovative idea to extend the shelf life of fish that are affected by unwanted microorganisms. The research was carried out in the laboratories of the University of the Armed Forces ESPE headquarters Santo Domingo. The isolation of the lactic acid bacteria was performed from the fermented mucilage of cocoa for 72 hours, and then grown in an MRS agar medium and MRS broth, suspending them in a citric

19

acid-sodium citrate solution. The experimental design was based on a bifactorial model (Tilapia species: *O. mossambicus* and *O. niloticus*; Sodium chloride concentrations with lactic acid bacteria: 10, 15 and 20%) in a completely random block design, with 6 treatments and 3 repetitions; for the separation of means, the Tukey ($p < 0.05$) test was applied. The lactic acid bacteria obtained belonged to the species *Lactobacillus plantarum*. In addition, the results of the physico-chemical analyses (pH, acidity, humidity, fat, ash and protein) and microbiological analyses evaluated in tilapia presented significant differences. By bioconserving them in refrigeration for 10 days, it was possible to extend their useful life. The treatments in the species *O. niloticus* presented greater acidity, humidity, fat, ash and protein, compared to the species *O. mossambicus* that obtained higher pH. In

addition, there was no growth of fungi, yeasts and enterobacteria due to the presence of lactic acid bacteria.

Keywords:

LACTIC ACID BACTERIA

BIOPRESERVATION

SODIUM CHLORIDE

MUCILAGE

TILAPIA

Capítulo I

Introducción

La producción piscícola en el Ecuador presenta una gran importancia económica, su incidencia en la historia como un país dedicado a la actividad acuícola, entre los cuales destaca el cultivo de tilapia y camarón, induce a un incremento competitivo a nivel nacional. Los procedimientos de manipulación y conservación se basan en la refrigeración o congelación demostrando ser

20

muy eficaces debido que permiten la conservación de la carne por un tiempo prolongado; a pesar de ello, sus ventas directas al consumidor comúnmente son realizados en mercados populares y a menudo se encuentran en condiciones precarias y exhibidas a la contaminación microbiana alterando sus propiedades organolépticas (Mera, 2015). El abordar este sector pesquero como desarrollo sostenible del país y su alta demanda de consumo, exige cumplir con varios parámetros de calidad que garanticen la seguridad y calidad del producto (Capelo, 2021).

El pescado es uno de los alimentos más inestables, debido que sus tejidos se degradan rápidamente. Algunas técnicas que tienen lugar durante la pesca, incluso antes, favorecen su descomposición; la cual continúa con la muerte y los procesos bioquímicos del músculo que podrían ser alterados por condiciones biofísicas. Existen pocas investigaciones técnicas sobre la aplicación de agentes antimicrobianos en la conservación de productos perecederos, y sobre todo en la conservación de pescado (Mera, 2015). Actualmente, en Ecuador utilizan algunos métodos capaces de prolongar la conservación de alimentos, los métodos principalmente empleados son térmicos y conservantes químicos, estas técnicas pueden intervenir en las características sensoriales de la carne y tienen menor aceptación por los efectos adversos que causan en el entorno y en la salud humana. Por esta razón se han implementado alternativas, como el uso de bioconservantes para la conservación de carnes, en otros países este método ya tiene mayor aceptación por parte del consumidor, debido a que controlan las propiedades organolépticas de los alimentos y garantizan la salud del

21

consumidor inhibiendo el crecimiento de microorganismos indeseables (Mera, 2015).

Entre las alternativas de origen natural, se encuentran las bacterias ácido láctico (BAL) que permite prevenir el deterioro de los alimentos, mantener una buena calidad de carne, reducir e inhibir la acción de importantes patógenos, a través de sus capacidades de producir compuestos antimicrobianos, incluido bacteriocinas (Agriopoulou et al. 2020). Además, las BAL son seguras de consumir y durante el almacenamiento en frío o en un ambiente con una concentración elevada de dióxido de carbono, se convierten en la población dominante y conservan el alimento (Dhundale et al. 2018).

Las BAL se encuentran en alimentos para humanos y productos fermentados. Uno de esos productos es el mucílago de cacao fermentado, el cual a menudo es desperdiciado y no tiene aplicación en el campo industrial en Ecuador (Vallejo et al. 2016). La diversidad de especies de BAL obtenidas de la fermentación del mucilago cacao es bastante limitada, debido a que aparecen en las fases media y tardía del proceso de fermentación, encontrando principalmente *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus fermentum* por las capacidades de utilizar la glucosa, fructosa y ácido cítrico (De Vuyst y Leroy, 2020).

22

Objetivos

Objetivo general

Aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (Mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de carne de dos especies de tilapia: Negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) considerando distintas concentraciones de cloruro de sodio.

Objetivos específicos

Aislar bacterias ácido lácticas presentes en la fermentación de dos variedades de mucílago de cacao.

Evaluar la diferencia entre la carne de tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Evaluar el efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas con distintas concentraciones de cloruro de sodio al 10%, 15% y 20% para la bioconservación de la carne de tilapia.

Determinar mediante análisis físico-químicos y microbiológicos la influencia del bioconservante aplicado en las características en la carne de tilapia.

23

Hipótesis

Hipótesis para el Factor A (Especies de tilapia)

Ho: La especie de tilapia no influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Ha: La especie de tilapia influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Hipótesis para el Factor B (Concentraciones de cloruro de sodio + BAL)

Ho: La aplicación de las bacterias ácido lácticas con distintas concentraciones de cloruro de sodio no influyen en la bioconservación de la carne de tilapia.

Ha: La aplicación de las bacterias ácido lácticas con distintas concentraciones de cloruro de sodio influyen en la bioconservación de la carne de tilapia.

24

Cacao

Generalidades

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta tropical perteneciente al orden Malvales, a la familia Sterculiaceas, genero *Theobroma*, y especie cacao. La especie proviene de los bosques húmedos tropicales de Suramérica, en las regiones de Amazonas y Orinoco. La siembra desde la semilla hasta la primera flor se produce dos años después de la germinación, según el genotipo. Los frutos tardan de 4 a 7 meses en madurar y oscilan entre cero a 200 frutos por árbol debido al porcentaje de frutos que florecen varía entre el 0,5% y el 5%, donde los insectos proporcionan la polinización natural (Batista, 2009).

Su fruto es una mazorca cuya forma y color varían según su fenotipo y genotipo. Cada uno contiene de 20 a 60 semillas de forma de almendras incrustadas en una pulpa blanca, una epidermis pigmentada, un epicarpio grueso de dureza variable, un mesocarpio leñoso delgado y duro y un endocarpio. El endocarpio consta de grandes células tubulares con espacios

25

intercelulares que hacen que las semillas maduras colapsen y formen pulpa (Cerri et al. 2019).

Taxonomía

La taxonomía es una rama de la ciencia en la que permite clasificar diferencias entre distintos grupos de organismos. La taxonomía del cacao se detalla más adelante en la tabla 1.

Tabla 1

Taxonomía del Cacao (*Theobroma cacao* L.)

Reino Plantae

Subreino Tracheobionta

División Magnoliophyta

Filo Spermatophyta

Subfilo Angiospermae

Clase Magnoliopsida

Subclase Dilleniidae

Orden Malvales

Familia Malvaceae

Subfamilia Sterculioideae

Genero *Theobroma*

Especie cacao L.

Fuente: Dostert et al. 2017.

26

Variedades

El cacao representa una gran variedad genética, aproximadamente más de 14 000 variedades. Las principales variedades de cacao utilizados comercialmente para la producción de chocolate son: Forastero, Nacional, Trinitario y el Criollo; que se diferencian por sus propiedades morfológicas (Aprotosoai et al. 2016).

Forastero. La variedad Forastero es de origen de la Amazonía, siendo cultivado en Brasil, África Occidental y el Sureste Asiático y, debido a su alta variabilidad genética en la producción, representa el 95% de la producción mundial de cacao, que es más vigorosa y menos susceptible a enfermedades y plagas, en comparación con la variedad Criollo. Sus frutos son duros, amarillos y redondos y contienen más de 30 semillas, que varían en color

desde el violeta claro al violeta oscuro (Bhattacharjee y Akoroda, 2018). Nacional. El Nacional es originario de Ecuador, posee diferentes propiedades de sabor y aroma, sus mazorcas son amelonadas, semillas medianamente gruesas y de color violeta claro a morado, sus árboles son robusto y altos. Actualmente, esta variedad se encuentra en peligro de extinción debido a la introducción de un externo germoplasma no relacionado por lo cual quedan pocas plantaciones en estado puro por lo tanto se han realizado plantaciones híbridas (Nacional y Trinitarios) para mantenerlos en comercialización (Bhattacharjee y Akoroda, 2018).

Trinitario. La variedad Trinitario es un híbrido de las variedades Forastero y Criollo, obteniendo un gran rendimiento y menor susceptibilidad

27

a enfermedades. Es originaria de la cuenca baja del Amazonas y se cultiva en las Indias Occidentales, Sudamérica y Centroamérica. Las mazorcas son duras y de color variable, y generalmente contienen más de 30 semillas (Bhattacharjee y Akoroda, 2018).

El cacao CCN-51 (Colección Castro Naranja) pertenece a la variedad Trinitario y se cultiva ampliamente en Ecuador. El CCN-51 es un híbrido con una productividad mayor en comparación con las otras variedades. Además, posee alta calidad de fermentación, mayor cantidad de grasas, peso, homogeneidad (Del Águila Flores y Zegarra, 2016).

Criollo. La variedad Criollo fue domesticado por la civilización maya en América central. En la actualidad, se encuentran en Venezuela, Madagascar, centro América, Samoa y Sri Lanka debido a su productividad baja y susceptibilidad alta a enfermedades, plagas y estrés. Las plántulas de esta variedad jóvenes presentan cotiledones verdes y tallos de las hojas con orientaciones horizontales opuestas. Su fruto contiene una cascara suave y fina con una superficie texturizada y una ligera pigmentación rojiza. Las semillas, por otro lado, son redondas con cotiledones de color blanco pálido o púrpura claro (Bhattacharjee y Akoroda, 2018).

Composición del fruto del cacao

El fruto del cacao está conformado por una cascara dura y la placenta que sobra cuando se rompe el fruto para la extracción de los granos, que representan menos del 75% del peso total de las mazorcas descartadas, es decir, como máximo el 21% de lo cosechado. El producto se deriva de

28

semillas o granos extraídos utilizados con fines de lucro. Actualmente, la producción de cacao se centra principalmente en el uso y comercialización del cacao en grano, sin tener en cuenta el alto valor nutricional de la pulpa que contiene (Yugcha y Largo, 2016).

Mucílago de cacao

El mucílago de cacao es la pulpa mucilaginoso de aspecto líquido viscoso de color amarillo pálido que se usa, generalmente, para la producción de jalea y bebidas alcohólicas, y cuenta con un alto valor nutricional. El mucílago se encuentra rodeando las semillas de cacao y está compuesta principalmente por parénquima, 82-88% de agua, 10-15% de azúcar, 1-2% de ácido cítrico y 1% de pectina. Asimismo, tiene minerales, aminoácidos libres, vitaminas y proteínas. Además, el mucílago es un medio enriquecido para el crecimiento bacteriano, pero al estar dentro de las mazorcas son microbiológicamente estériles (Sánchez et al. 2019).

El mucílago de cacao es necesario para la fermentación, por lo general hay más mucílago de lo necesario. Por lo cual el exceso de mucílago ha sido

utilizado para hacer diversos productos como vinagre, jalea de cacao, nata y pulpa procesada. Generalmente, 20 litros de mucílago de cacao se puede obtener aproximadamente 400 kilos de semillas frescas de cacao (Torres et al. 2016).

Fermentación del mucilago de cacao

La fermentación del mucílago de cacao es un proceso microbiológico que ocurre en la pulpa que recubre a la semilla, la cual es rica en glucosa,

29

fructosa y sacarosa. Su pH inicial se debe a la alta concentración de ácido cítrico (1 a 3%), la cual está bajo de 3.2 a 4. Los microorganismos que inician la fermentación son las levaduras debido al alto contenido de azúcar, bajo valor de pH y limitación de oxígeno del mucílago (López et al. 2019).

Las levaduras en el proceso de fermentación tienen la función de producir etanol a partir de carbohidratos, absorber ácido cítrico y romper la pectina para generar CO₂, lo que favorece las condiciones anaeróbicas en el desarrollo de las BAL, rompe el azúcar y produce ácido láctico, manitol y ácido acético, y consumir ácido cítrico. Las bacterias anaeróbicas cuando no hay mucha presencia de oxígeno o buena aireación producen una fermentación butírica generando una putrefacción de las semillas (López et al. 2019).

De acuerdo con Aprotosoie et al. (2016), la fermentación dura de 48 a 96 horas y provoca el desarrollo de bacterias del ácido láctico.

Posteriormente, estas bacterias son reemplazadas por bacterias acéticas (BAA), que permiten la oxidación del etanol producido por la levadura en ácido acético, eliminando el sabor amargo de las semillas al mezclar polifenoles y las membranas lipídicas de las vacuolas celulares. por diversas reacciones enzimáticas y el contenido celular se mezcla (López et al. 2019).

Varios factores influyen en la fermentación, como la técnica, el tiempo, la velocidad, la conservación de la mazorca y el genotipo del cacao, lo que genera diferencias en la calidad del cacao. Los métodos de fermentación más utilizados son plataformas, cestas, montones, bandejas y cajas. Las BALs se asocian sistemáticamente con la fermentación de los granos de cacao,

30

umentando las poblaciones microbianas de 10⁶ a 10⁸ UFC / g durante las primeras 35-49 horas del proceso. Entre la diversidad de especies de BAL, se aislaron de estos ecosistemas *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus fermentum*, que son las dominantes con mayor frecuencia (Aprotosoie et al. 2016).

Las actividades metabólicas y las posibles funciones de las BAL en la fermentación del cacao se deben a tres principales actividades: fermentación de los azúcares (glucosa y fructosa) en ácido láctico y, en menor medida, en alcohol etílico y ácido acético; usando el ácido cítrico de la pulpa para producir ácido acético, ácido láctico, diacetilo, acetaldehído, 2,3-butanodiol y acetoína; además algunas de las BAL pueden disminuir la fructosa del mucilago a manitol (Ho et al. 2015).

Bacterias Ácido lácticas

Generalidades

Las bacterias ácido láctico (BAL) se utilizan en la industria de alimentos como cultivos iniciales para obtener productos fermentados, y sus metabolitos se han utilizado como bioconservantes naturales, ya que pueden controlar el crecimiento de bacterias patógenas en los alimentos. Entre sus metabolitos incluyen bacteriocinas, que son estables a pH bajo, sensibles a la

proteasa y péptidos antimicrobianos de bajo peso molecular termoestables. Son precisamente estas propiedades las que los caracterizan como compuestos ideales para suplantar parcialmente el uso de principios activos químicos en los alimentos (Ramirez et al. 2011).

31

La principal función de las BAL es la producción de ácido láctico (acidificación de los alimentos) y contribuyen a la textura, al sabor y al valor nutricional de los alimentos fermentados a través de componentes de sabor, producción o descomposición de lípidos, exopolisacáridos y proteínas, produciendo nutrientes como cultivos funcionales y tienen un efecto terapéutico, inhibiendo el deterioro y los microorganismos patógenos. Vieco et al. (2019) menciona que los mecanismos de inhibición a microorganismos patógenos por bacterias probióticas del ácido láctico implican la elaboración de compuestos inhibidores, prevención de la adhesión de patógenos, competencia por nutrientes, modulación del sistema inmunológico del huésped, mejorar la digestibilidad de nutrientes, conversión de alimentos, y la reducción de la biodisponibilidad de toxinas (Vieco et al. 2019).

Taxonomía y Características

Las BAL son perteneciente al filo Firmicutes y a la clase Bacilli, son bacterias, generalmente, Gram-positivas pertenecientes a un grupo heterogéneo que comprende aproximadamente 20 géneros, que incluyen *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Carnobacterium* y *Aerococcus*; las cuales estas son los más influyentes en la alimentación. Tienen un bajo contenido de citosina + guanina, son tolerantes a los ácidos, no esporulantes, generalmente inmóviles, tienen forma de bacilos o cocos de longitud variable y grosor de 0,5-0,8 μm . Además, constituyen un grupo de bacterias anaerobias facultativas o microaerofílicas fisiológicamente uniformes y no

32

tienen actividad respiratoria debido a la ausencia de la enzima citocromo catalasa, si bien son tolerantes al oxígeno (Parra, 2010).

Las BAL tienen características metabólicas y ecológicas importantes en la economía y en la tecnología en los alimentos, se clasifican en base a la morfología, los métodos de fermentación de la glucosa, su desarrollo a diversas temperaturas y la configuración del ácido láctico producido. Debido a las características de estos microorganismos, cuando se procesan y propagan para uso en grupo, forman un caldo de bacterias productoras y fermentadoras de ácido láctico, función para la cual se utilizan en la industria alimentaria, permitiendo características únicas a varios alimentos, además, los protege contra la actividad de algunos patógenos (Londoño et al. 2015).

Las BAL han sido empleadas para la fermentación o para crear cultivos de alimentos en los últimos años. El uso más común de las BAL es en la industria láctea, se utilizan en productos como queso, yogur, nata y mantequilla. Sin embargo, sin comprender la base científica detrás de los efectos de estas bacterias, muchos pueblos antiguos utilizaron estas bacterias para producir alimentos modificados que tenían una vida útil mucho más larga debido a los efectos de estas bacterias y que estaban dotados de sabor, textura y calidad únicas que estas bacterias proporcionaron al producto original. La actividad de estas bacterias conduce a un proceso microbiano en el que lactosa se convierte en ácido láctico. El enriquecimiento con ácido láctico modifica la estructura de las proteínas de la leche, lo mismo ocurre con la consistencia del producto, también existen otras variables: la

composición de la leche y la temperatura, que intervienen en las propiedades particulares de los productos lácteos (Londoño et al. 2015).

33

Las BAL presenta varios factores que modifican su crecimiento en medio de fermentación, tales como: temperatura (mesófila y termófila), condiciones ambientales y requerimientos nutricionales al crecer en medios complejos. Estos tipos necesitan aminoácidos, carbohidratos fermentables, vitaminas del grupo B y alcoholes como fuente de energía para la formación de ácido láctico, ya que se dividen en homofermentativos (capacidad de producir el ácido láctico) y heterofermentativos (capacidad de producir el ácido láctico, ácido acético, ácido propiónico, CO₂ y etanol) (Parra, 2010).

Capacidad antimicrobiana

Las BAL tiene la capacidad de producir compuestos antimicrobianos además de ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno y compuestos de diacetilo de una proteína o péptido. Los péptidos antimicrobianos son sustancias multifacéticas con mecanismos de acción complejos, pero similares a las hormonas de los animales, ya que interactúan a través de su membrana con células patógenas o con dianas internas vinculadas a la síntesis de ADN, ARN o proteínas (Lopez, 2021).

Existen distintos modelos de los mecanismos de acción de los péptidos antimicrobianos en el metabolismo de las BAL, incluida la interacción inicial entre los péptidos antimicrobianos y la célula microbiana, a causa a la atracción entre el péptido catiónico y la envoltura bacteriana cargada negativamente que forma los poros de la membrana; o la inhibición de la síntesis de macromoléculas por un efecto sinérgico con los mecanismos inmunes innatos del huésped. Por lo tanto, los compuestos antimicrobianos

34

no actúan de forma aislada, por esta razón, las estrategias multifactoriales son más efectivas en la conservación de alimentos (Linares et al. 2018).

Identificación molecular

La amplificación y secuenciación del gen del ARN ribosómico 16S (ARNr 16S) se usa ampliamente para la taxonomía y filogenia bacteriana, lo que lo convierte en el "*temporizador molecular definitivo*". De hecho, está presente en todas las bacterias y existe en forma de familia multigénica o de operón. Su función también era inmutable, por lo que es probable que los cambios aleatorios en la secuencia reflejen un cambio microbiano evolutivo (filogenia); y el gen de ARNr 16S es bastante grande, alrededor de 1 500 pb para propósitos computacionales (Idris et al. 2020).

La identificación genotípica de las BAL permite la determinación de forma precisa y fiable su identidad. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis filogenético basado en la secuencia del gen del ARNr 16S se utilizaron para identificar aislamientos de varios productos fermentados. Este enfoque molecular, por lo tanto, permite la identificación confiable de especies de *Lactobacillus* (Lawalata et al. 2020).

Efecto de las BAL como conservante en productos alimenticios

Las BAL tienen la capacidad de producir una gran variedad de compuestos antimicrobianos, tales como ácidos orgánicos (ácido cítrico, fumárico, málico, acético y láctico), CO₂, amoníaco, acetaldehídos, diacetilo, acetoína, etanol, reuterina, diacetilo, bacteriocinas, y otros metabolitos, que

cuentan con una fuerte actividad antagónica contra muchos microorganismos patógenos (Agriopoulou et al., 2020).

Actualmente, las BAL son aplicadas para la bioconservación de productos alimenticios, como frutos, carnes y pescados, que han ayudado a controlar la producción de microorganismos patógenos, de manera que afirma la liberación segura y gradual de las bacteriocinas presentes en los alimentos. Esto evita la inactivación de todo ello por la interacción que se produce entre los componentes del alimento (Guerra et al., 2005). Las bacteriocinas producidas por las BAL se caracterizan por su gran potencial para ser aplicadas en procesos de bioconservación, debido a su capacidad antimicrobiana inhibiendo la producción de microorganismos no deseados, del mismo modo, por su falta de toxicidad al ser consumido (Alvarez et al., 2016).

Tilapia

La tilapia es un tipo de pez de origen africano, perteneciente a la familia Cichlidae y al género *Oreochromis*, y consta de varias especies, algunas con fines económicos. Este tipo de pez presenta varias propiedades aptas para la domesticación y reproducción. Esto incluye la buena calidad y el sabor de su carne, su alta tolerancia a diversos ambientes, y la resistencia a varias enfermedades comunes de los peces. En Ecuador, las tilapias son la más representativa de los cultivos acuícolas de agua dulce (Mera, 2015).

Clasificación Taxonómica

Tabla 2

Taxonomía de la tilapia

Reino Animalia

Filo Chordata

Clase Actinopterygij

Orden Perciformes

Familia Cichlidae

Subfamilia Pseudocrenilabrinae

Género *Oreochromis*

Existen una gran variedad de especies de tilapia que abarcan varios géneros, tales como: *Oreochromis*, *Iranocichla*, *Alcolapia*, *Steatocranus* y *Danakilia*. Las especies más conocidas y utilizadas en la acuicultura son pertenecientes al género *Oreochromis*. De estas podemos destacar la tilapia roja y la tilapia negra cuyo nombre científico es *Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*, respectivamente (Wang y Lu, 2016).

La tilapia roja es el resultado del cruzamiento de cuatro especies del género *Oreochromis* (*O. mossambica*, *O. aureus*, *O. homnorum*, y *O. niloticus*), tres de ellas son de origen africano y una de israelita. Por otro lado, la tilapia negra o también conocida como tilapia del Nilo, es originaria del norte de África e Israel, habita en cuerpos de agua lacustres, estanques y ríos. Esta especie es capaz de superar el tamaño de sus parientes lo que la convierte en una especie muy atractiva para su cultivo (Mera, 2015).

Produccion de la tilapia

En Ecuador se ha logrado alcanzar una posición muy importante como

uno de los principales productores y exportadores de tilapia roja del mundo y ocupa el primer lugar en América Latina. Los principales clientes son Estados Unidos, pero la demanda está aumentando en los países europeos (Mera, 2015). Según un estudio de Corpei, 2001, cada año se producen más de 18 millones de toneladas, lo que corresponde al 20% de la demanda mundial de pescado.

Causas y efectos del deterioro en pescado fresco

El pescado fresco es aquel que no ha sufrido ninguna medida de conservación desde su captura, salvo la adición de hielo picado, puro o mezclado con sal. El descabezado, el desangrado, eviscerado y el mantenimiento en refrigeración no se considera un proceso conservante. Los elementos notorios de deterioro en el pescado incluyen: detección de sabores y olores desagradables, producción de gases, formación de exudados, pérdida de color y cambios en la textura (Salazar et al. 2011). Existen dos tipos principales de deterioro en el pescado fresco: microbiológico y no microbiológico. Su pérdida inicial de frescura en su estado natural, en refrigeración o no, es debido a los cambios autolíticos, mientras que el deterioro es provocado principalmente por bacterias (Mera, 2015).

38

Composición química

La composición química de los peces cambia notoriamente entre especies, e incluso entre individuos de la misma especie, dependiendo del sexo, edad, ambiente y estación. Como muchos otros productos animales, el pescado y los productos pesqueros contienen agua, proteínas y otros compuestos nitrogenados, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales. Los lípidos o grasas y las proteínas son los componentes principales del pescado. Los micronutrientes y minerales esenciales en el pescado que carecen de alimentos básicos son las vitaminas B, las vitaminas A y D, el fósforo, el calcio, el hierro, el magnesio y el selenio, y el yodo en el pescado marino (FAO, 2001).

Tabla 3

Composición química de la carne de la tilapia

Contenido (g/100g)

Mínimo Máximo

Proteína total 18 21

Grasa total 0,4 2,0

Cenizas 1,0 1,5

Humedad 72,3 76,9

Fuente: FAO, 2001; Perea et al. 2015.

39

Hasta el 40% de los lípidos del pescado son ácidos grasos de cadena larga altamente insaturados que, si bien son buenos para la salud, plantean un problema técnico porque se degradan rápidamente. Todas las proteínas de pescado están compuestas por proteínas sarcoplásmicas, estructurales y del tejido conectivo, que contienen aminoácidos esenciales y son excelentes fuentes de lisina, cisteína y metionina. Varios procesos químicos y biológicos importantes tienen lugar en peces muertos y, si no se capturan con las medidas adecuadas, pueden descomponerse (FAO, 2001).

Efecto del pH en el pescado

El pH es definido como el logaritmo negativo de la concentración de

iones de hidrógeno. El pH de un alimento es un elemento esencial que permite determinar la supervivencia de los microorganismos. La carne de pescado es ligeramente ácida en su estado natural. Tras la muerte del animal, el glucógeno se transforma en ácido láctico, lo que causa una disminución del valor de pH, que desciende a valores de 6.7, lo que conduce a una tendencia al cambio, este valor de pH no permite la inhibición de la proliferación bacteriana. La carne de tilapia tiene un valor de pH aproximadamente 6,126 (Mera, 2015).

La levadura, los hongos y las bacterias pueden vivir a niveles máximos de pH similares. Además, las levaduras y hongos, generalmente, pueden crecer a valores de pH mucho más bajos a comparación de las bacterias ($\text{pH} < 4$). Por otro lado, el ácido libre o acidez titulable representa los ácidos orgánicos libremente presentes en una muestra; el ácido láctico predomina en el pescado. Estos factores son importantes debido a que indican el nivel

40

de calidad o deterioro de un producto. La acidez de la carne de cachama (*Piaractus brachyomus*) es aproximadamente 0.39% de ácido láctico (Asap, 2015).

Bioconservación

La bioconservación es una aplicación biotecnológica que permite el aumento de la vida útil y seguridad de un alimento debido a la acción de una microbiota natural y controlada, y sus compuestos antimicrobianos (Cortés et al. 2018). Durante el almacenamiento y transporte de alimentos, la calidad sensorial y nutricional suelen disminuir debido al alto contenido de humedad, el crecimiento microbiano, las influencias ambientales, la madurez y el envejecimiento; debido a que tienen una vida útil corta, requieren cuidados especiales (Linares et al. 2018).

Los métodos más comunes de la conservación dependen del control de la transpiración, la respiración y el deterioro microbiano, pero los métodos tradicionales son generalmente vulnerables (Linares et al. 2018). Por lo tanto, las BAL es una alternativa ecológica que, por su consumo seguro, tiene un gran potencial de uso en los procesos de producción y bioconservación de alimentos, pudiendo contribuir a las propiedades organolépticas (textura, aroma y sabor) y valor nutricional (Cortés et al. 2018).

41

Cloruro de sodio

El cloruro de sodio (NaCl) es un excelente agente osmótico, su bajo peso molecular (58,44 g/gmol) permite una gran pérdida de agua del producto y una alta solubilidad, además provoca un alto índice de impregnación en el tejido animal. El NaCl no solo es un agente osmótico, sino también un agente antimicrobiano (conservante), en gran parte debido a su efecto amortiguador sobre la actividad del agua. Los alimentos con 0,7 a 5% de sal añadida requieren un método de almacenamiento diferente para garantizar la estabilidad microbiológica. El NaCl se ha utilizado para estabilizar ciertos alimentos, incluido el pescado, con 0,7 a 3% de sal en su fase acuosa (Mera, 2015).

42

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Ubicación política

País: Ecuador

Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas

Cantón: Santo Domingo

Parroquia: Luz de América

Sector: Vía Quevedo, Km 24

Ubicación Ecológica

Zona de vida: Bosque húmedo tropical

Altitud: 224 msnm

Temperatura media: 24.6 o C

Precipitación: 2860 mm/año

Humedad relativa: 85%

Heliofanía: 680 horas luz/año

Suelo: Francos Arenoso

Fuente: Estación Agro-meteorológica "Puerto Ila", Vía Quevedo Km 34.

43

Ubicación Geográfica

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de Bromatología y Microbiología de los Alimentos de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Extensión Santo Domingo, ubicado en la Vía Santo Domingo - Quevedo Km. 24, en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Latitud: 00° 24' 36"

Longitud: 79° 18' 43"

Altitud: 270 msnm

Figura 1

Mapa de la ubicación geográfica del área de investigación

44

Materiales

Determinación de pH

Tabla 4

Recursos necesarios para la determinación de pH

Equipos Materiales/Insumos Reactivos Muestras

Potenciómetro

Balanza

analítica

Vaso de precipitación

(250mL)

Probeta (100mL)

Pipeta (10mL)

Varilla de vidrio

Mortero y pistilo

Agua

destilada

Mucilago de

cacao

Carne de

tilapia

Determinación de Acidez

Tabla 5

Recursos necesarios para la determinación de acidez

Equipos Materiales/Insumos Reactivos Muestras

Balanza

analítica

Potenciómetro

Vaso de precipitación

(250mL)

Agitador de vidrio

Hidróxido de

Sodio (NaOH) 0.1

N

Mucilago de

cacao

Soporte universal Fenolftaleína Carne de

tilapia

Bureta graduada

(25mL)

Agua destilada

45

Probeta (100mL)

Determinación de Sólidos Solubles

Tabla 6

Recursos necesarios para la determinación de sólidos solubles

Equipos Materiales/Insumos Reactivos Muestras

Refractómetro Vaso de precipitación

(250mL)

Agua

destilada

Mucilago de

cacao

Aislamiento e identificación de las bacterias ácido lácticas

Tabla 7

Recursos necesarios para el aislamiento e identificación de bacterias ácido

lácticas presentes en el mucilago de cacao fermentado

Equipos Materiales/

Insumos

Reactivos Muestra

s

Incubadora Tubos de ensayo MRS Agar Mucilago

de cacao

fermenta

do

Cámara de flujo

laminar

Mechero de alcohol Aceite de

inversión

Autoclave Asa drigalski Agua peptona

Microscopio Asa bacteriológica Agua destilada

Balanza analítica Placas Petri Alcohol potable

96%

Plancha térmica

magnética

Portaobjetos

46

Frascos para

medios

Tinción Gram

Tabla 8

Recursos necesarios para la tinción Gram

Equipos Materiales/Insumos Reactivos

Microscopio óptico Portaobjetos Agua destilada

Asa bacteriológica Cristal Violeta

Mechero de alcohol Lugol

Vaso de precipitación (100

mL)

Alcohol acetona

Safranina

Z Aceite de

inmersión

Ensayo de catalasa

Tabla 9

Recursos necesarios para el ensayo de catalasa.

Materiales/Insumos Reactivos

Vaso de precipitado Peróxido de hidrogeno al

30%

47

Portaobjetos

Gotero

Asa bacteriológica

Vaso de precipitación (50 mL)

Enriquecimiento selectivo de las bacterias ácido lácticas

Tabla 10

Recursos necesarios para el enriquecimiento de las BAL

Equipos Materiales/

Insumos Reactivos Muestras

Incubadora Tubos de ensayo Caldo MRS Bacterias

aisladas

Cámara de flujo

laminar Asa bacteriológica

Autoclave Micropipeta

Balanza Matraz Erlenmeyer

(500 mL)

Frasco autoclavable

Bioconservación de la carne de tilapia

Tabla 11

Recursos necesarios para la preparación de la solución probiótica

Equipos

Materiales/

Insumos

Reactivos Muestras

Incubadora Tubos de ensayo Caldo MRS Aislamiento

48

o de las

BAL

Cámara de flujo

laminar

Mechero de alcohol Ácido cítrico

Autoclave Asa bacteriológica Citrato de sodio

Balanza analítica Frascos para

medios

Alcohol potable

96%

Potenciómetro Micropipeta

Centrífuga Vaso de

precipitación

Espectrofotómetro Probeta

Recuento de poblaciones microbianas

Tabla 12

Recursos necesarios para el recuento microbiológico

Equipos Materiales/

Insumos

Reactivos Muestras

Incubadora Tubos de ensayo Agua de peptona Carne de

Cámara de flujo

laminar

Mechero de alcohol

Micropipeta

Láminas de

Petrifilm

Tilapia

Autoclave Matraz Erlenmeyer Alcohol potable

96%

Cultivo de

Balanza analítica Vaso de

precipitación

BAL

Vortex

49

Contador de

colonias

Probeta

Determinación de proteína bruta

Tabla 13

Recursos necesarios para la determinación de proteína bruta en las carnes de

tilapia

Equipos Materiales/

Insumos

Reactivos Muestra

s

Balanza analítica Tubos de destilación

(100mL)

Ácido sulfúrico

concentrado 96%
Carne de
pescado
Unidad digestora Matraz Erlenmeyer
(250mL)
Solución de
Hidróxido de Sodio
al 40%
Sorbona o
colector /extractor
de humos
Gotero Solución de Ácido
Bórico al 2%
Unidad de
Destilación
Bureta graduada Solución de Ácido
Clorhídrico 0. 1N
Plancha de
calentamiento con
agitador magnético
Espátula Tabletas
Catalizadoras
Termómetro Gradilla Indicador Kjeldahl
Equipo de titulación Mortero Agua destilada

50

Determinación de humedad

Tabla 14

Recursos necesarios para la determinación de humedad en las carnes de
tilapia

Equipos Materiales/Insumos Muestras

Balanza analítica Crisoles de porcelana Carne de
pescado

Estufa Espátula

Desecador Pinzas

Guantes

Determinación de grasas totales

Tabla 15

Recursos necesarios para la determinación de grasa total en las carnes de
tilapia

Equipos Materiales/Insumos Reactivos Muestras

Balanza analítica Vasos Beacker para

grasa

Éter de

Petróleo

Carne de

pescado

51

Aparato Golfish Dedales de

Extracción

Estufa Portadedales

Desecador Vasos para

recuperación del

solvente

Espátula

Pinza Universal

Algodón Liofilizado e

Hidrolizados

Determinación de cenizas

Tabla 16

Recursos necesarios para la determinación de ceniza en las carnes de tilapia.

Equipos Materiales/

Insumos

Muestras

Balanza analítica Crisoles de

porcelana

Carne de

pescado

Estufa Espátula

Desecador Pinzas

Mufla Guantes

Métodos

Obtención de la materia prima

Para la obtención del mucilago de cacao, de la variedad Nacional y

52

CCN-51 se recolectó mazorcas de cacao maduras sin enfermedades y libres de agentes extraños en la Estación Experimental Tropical Pichilingue del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) ubicado en el Km 5 vía a El Empalme – Quevedo, cantón Mocache, Provincia Los Ríos.

Por otro lado, las tilapias fueron obtenidas de la Hacienda “*El encanto*” ubicado en el recinto el Manantial en la parroquia Alluriquín – Santo Domingo, Ecuador.

Fermentación del mucilago de cacao

Para la fermentación, se desinfectó previamente las mazorcas de cacao mediante agua clorada (100 ppm) y luego con agua potable. Se retiró manualmente las almendras de cacao de la cáscara para posteriormente extraer el mucilago mediante un lienzo para filtrar.

Se fermentó 1000 mL del mucilago obtenido de la variedad CCN-51 y Nacional en una botella de plástico, cubierto con una funda negra y tapándolo con un globo, a temperatura ambiente en un periodo de 72 horas (Lopez, 2021).

Siembra y Aislamiento de las bacterias ácido lácticas

Se realizó diluciones seriadas hasta 10⁻⁶, utilizando 1 mL del mucilago de cacao fermentado en tubos de ensayo con 9 mL de agua peptona (1,5%) y posteriormente se sembró 0,1 mL de cada dilución (10⁻⁴, 10⁻⁵ y 10⁻⁶) en un medio MRS agar mediante el método de extensión, por duplicado, inoculando a una temperatura de 35°C - 37°C en un periodo de 48 horas (Lopez, 2021).

53

Las colonias formadas, se aislaron en un nuevo medio de MRS agar y se sembró mediante el método de estrías para la obtención de colonias puras (Lopez, 2021).

Identificación microbiana

Tinción Gram.

Se recogió una pequeña muestra de las colonias bacterianas obtenidas con un asa bacteriológica condiciones asépticas y se colocó en un portaobjeto con una gota de agua, posteriormente se fijó la muestra con calor (flameando 2-3 veces).

Luego se añadió el colorante cristal violeta durante 1 minuto, después lugol durante 30 segundos, luego una o dos de alcohol acetona durante 15 segundos, y safranina durante 1 minuto. Después de cada tinción, se retiró el exceso con agua destilada. Finalmente, se ocupó lente y aceite de inmersión para su observación en el microscopio óptico (Salazar, 2017).

Prueba de catalasa.

Se recogió una colonia bacteriana con un asa bacteriológica y se colocó en un portaobjeto estéril con una gota de peróxido de hidrógeno (3% de solución) y luego se extendió la muestra. Posteriormente, se observó la reacción.

En el caso que se detecte formación de burbujas antes de los 20 segundos este indicaría positivo a la prueba (Salazar, 2017).

54

Secuenciación y análisis filogenético.

Las bacterias aisladas en la caja Petri con medio de agar MRS se enviaron a la compañía MacroGen Inc. de Corea del Sur para la realización de la secuencia del ARNr 16S. Las secuencias realizadas se compararon con el programa BLASTn.

Se realizó un análisis filogenético en el programa MEGA X, luego se realizó un alineamiento de las secuencias obtenidas con el algoritmo ClustalW, además, se elaboró un árbol filogenético mediante el método de Neighbor-Joining utilizando la distancia genética de Tamura-Nei basada en 1000 réplicas Bootstrap. La bacteria *Bacillus aerius* se utilizó como un grupo externo del árbol filogenético (Lopez, 2021).

Bioconservación de las carnes de tilapia

Solución bacteriana.

Se añadió 55,15 gramos de caldo MRS en 1 litro de agua destilada para inocular las colonias bacterias aisladas a 37 °C durante 24 horas, y luego se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (Lopez, 2021).

Posteriormente, se realizó un lavado a la solución bacteriana con tampón de ácido cítrico – citrato de sodio (0,1M; pH 3,8) mediante centrifugación a 5 000 rpm durante 15 minutos, este proceso se repitió hasta obtener el sobrenadante claro, aproximadamente 2-3 veces). Finalmente, se

55

resuspendió las baterías lavadas en el mismo tampón de ácido cítrico – citrato de sodio (1:1 v/v) (Russo et al. 2014).

Preparación de la muestra.

Los filetes de tilapia, lavadas previamente, se rociaron con la solución bacteriana con diferentes concentraciones de cloruro de sodio (10%, 15%, 20%), que fueron preparadas con agua destilada. Se conservaron en fundas herméticas y en refrigeración a 4-5°C durante 10 días.

Análisis Sensorial

Para este tipo de análisis, se realizó un panel de 10 jurados no expertos mediante una prueba hedónica, donde se evaluaron los siguientes parámetros: color, olor, y textura, a la carne de pescado según la norma del Codex alimentario CPE INEN-CODEX CAC/GL 31.

56

Diseño Experimental

Factores del experimento

Tabla 17

Factores y Niveles a probar en el estudio de la bioconservación de carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas provenientes de mucilago de cacao y distintas concentraciones de cloruro de sodio

Factores

Simbolog

ía

Niveles

Especies de tilapia (A) a0

a1

O. mossambicus

O. niloticus

Concentraciones de cloruro de sodio con bacterias ácido

lácticas (B)

b0

b1

b2

10% + BAL

15% + BAL

20% + BAL

Tratamientos a comparar

Tabla 18

Tratamientos a comparar en el estudio de la bioconservación de carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas provenientes de mucilago de cacao y distintas concentraciones de cloruro de sodio

Nº Interacciones Unidades experimentales

T1 a0b0O. mossambicus con 10% + BAL

57

T2 a0b1O. mossambicus con 15% + BAL

T3 a0b2O. mossambicus con 20% + BAL

T4 a1b0O. niloticus con 10% + BAL

T5 a1b1O. niloticus con 15% + BAL

T6 a1b2O. niloticus con 20% + BAL

Tipo de diseño

Para el análisis estadístico de este estudio, se aplicó un ANOVA DBCA con arreglo factorial AXB, donde el factor A corresponde a las especies de tilapia utilizadas y el factor B a las concentraciones de cloruro de sodio con BAL.

Repeticiones

El diseño del experimento se realizó con 3 repeticiones por cada tratamiento, con un total de 18 unidades experimentales.

Análisis Estadístico

Tabla 19

Esquema de análisis de varianza (ANOVA) para el estudio de la bioconservación de las carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas provenientes de mucilago de cacao y diferentes concentraciones de cloruro de sodio

Fuente de variación

58

Concentraciones de NaCl + BAL b-1 2

Especie de tilapia x concentraciones

de NaCl + BAL

(a-1)(b-1) 2

Replicas r-1 2

Error Experimental 10

Total 17

Análisis funcional

Se aplicó una prueba de significancia de Tukey ($p < 0.05$) para las variables evaluadas con resultados significativos en el análisis de varianza.

Variables evaluadas

La determinación de cada variable se realizó por triplicado sobre la misma muestra preparada.

pH

Para la determinación de pH del mucilago de cacao, se basó en el procedimiento de la norma INEN 389 (1985):

Se añadió 10 mL de la muestra preparada en un vaso de precipitación con 100 mL de agua destilada, y se mezcló la muestra. Luego, se filtró la muestra para retirar cualquier partícula en suspensión.

Para la muestra cárnica, se realizó basándose en el procedimiento de la norma INEN 183 (2013):

Se pesó 10 gramos de la muestra preparada y se añadió 100 mL de agua destilada, posteriormente se licuó durante 1 minuto. Luego, se filtró la

59

mezcla con un lienzo para la eliminación del tejido conectivo. Finalmente, se procedió con la medición con el potenciómetro.

Acidez Titulable

Para los productos líquidos se realizó mediante el procedimiento de la norma INEN 0381 (1985):

Se añadió 25 mL de la muestra preparada en un matraz de 250 mL y se disolvió a volumen con agua destilada, mezclando la solución.

Posteriormente, se colocó 25 mL de la solución en vaso de precipitación y se midió el pH. Se tituló la solución lentamente con hidróxido de sodio al 0,1N, hasta llegar a un pH de 7, luego se siguió titulando hasta llegar un pH de 8,3 aproximadamente. Se registró el volumen del hidróxido de sodio ocupado y el pH obtenido después de cada adición. Después, se estableció el volumen exacto de solución con el hidróxido de sodio añadido mediante por interpolación, a un pH de 8,1.

En cambio, para productos cárnicos, se pesó 10 gramos de la muestra preparada y se licuó con 50 mL de agua destilada. Posteriormente, se añadió 5 gotas de fenolftaleína y se tituló con solución de hidróxido de sodio al 0,1N. Finalmente, se registró el volumen consumido de la solución.

La acidez titulable se determinó mediante la siguiente ecuación:

A=

(

V1N1M

)

10

V2

Siendo:

60

A = Valor de la acidez en gramos.

V1 = mL de NaOH ocupados en la titulación.

N1 = Normalidad del NaOH.

M = Masa molar expresada en g/mmol. Para el ácido láctico = 0.090.

V2 = Volumen en mL o masa en gramos de la muestra tomada para el análisis.

Sólidos Solubles

Se añadió unas gotas de la muestra sobre el prisma del refractómetro y se leyó la cantidad de sólidos solubles totales en grados Brix.

Proteína bruta

La determinación de proteína bruta fue realizada según la norma INEN 781 (1985), mediante el método de Kjeldahl:

Digestión

Se pesó aproximadamente 0,3 gramos de la muestra prepara en un papel exento de nitrógeno y se colocó en un microtubo digestor. Luego, se añadió una tableta catalizadora y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado al microtubo. Se colocó los tubos de digestión con la muestra en el block-digest con el colector de humos. Se realizó la digestión a 350 oC a 400 oC durante 1-2 horas. Después, se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente. El líquido obtenido varía entre un color verde o azul transparente según el catalizador utilizado.

61

Destilación

Se adicionó 15 mL de agua destilada en cada microtubo y 50 mL de ácido bórico al 2% en un matraz. Luego, se colocó el microtubo y el matraz en el sistema de destilación kjeltec. Se adicionó 30 mL de hidróxido de sodio al 40% al sistema, cuidando que no exista un flujo anormal de agua.

Posteriormente, se recogió aproximadamente 200 mL de destilado.

Titulación

Del destilado recogido se colocó 3 gotas de indicador, y se tituló con ácido clorhídrico al 0,1N utilizando un agitador mecánico. Finalmente, se registró el volumen consumido de ácido clorhídrico.

La cantidad de proteína bruta se determinó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\%N = (V_{\text{HCl}} - V_b) \times 14,0067 \times N_{\text{HCl}} \times 100$$

$$\%PB = \%N \times 100$$

16

Donde:

VHCl = Volumen en mL del ácido clorhídrico

Vb = Volumen del blanco en mL (0,3)

NHCl = Normalidad de ácido clorhídrico (0,1N)
g = Peso de la muestra en gramos

62

14,0067 = Peso atómico del nitrógeno

Humedad

Para la determinación de humedad, se basó en el procedimiento de la norma INEN 777 (1985):

Se calentó el crisol de porcelana en la estufa durante 30 minutos, posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó. La muestra preparada se secó en la estufa a 105 oC durante 12 horas. Luego, se dejó enfriar la muestra en el desecador por 30 minutos, y se pesó en la balanza analítica.

Para la determinación de humedad se aplicó la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

W0

x100

Donde:

%H = Porcentaje de humedad

W0 = Peso de la muestra (gr.)

W1 = Peso del crisol con la muestra después del secado

W2 = Peso del crisol con la muestra antes del secado

Grasa total

Para la determinación de la grasa total, se basó en el procedimiento de la norma INEN 778 (1985):

63

Se secó los vasos beakers en una estufa a 100 oC durante 60 minutos.

Luego, se transfirió al desecador y se dejó secar a temperatura ambiente. Se pesó los vasos con aproximación al 0,1 mg.

Se pesó 2 gramos de la muestra preparada sobre un papel filtro y se colocó en la parte interna del dedal, luego se taponó con algodón hidrófilo, posteriormente se introdujo en el portadedal. Se colocó el dedal y la muestra en el vaso beaker, y se llevó a los ganchos metálicos del aparato de Golfish. Después, se adicionó 40 mL de solvente en el vaso beaker. Se colocó el anillo en el vaso y se llevó a la hornilla del aparato Golfish, y se ajustó al tubo refrigerante del equipo. Terminada la extracción mediante el aparato de Golfish, se retiró los beaker con el residuo de la grasa, con la precaución adecuada. El vaso con la grasa se lo llevó a la estufa a 105 oC durante 30 minutos hasta obtener una completa evaporación del solvente. Luego, se dejó enfriar los vasos a temperatura ambiente en el desecador. Finalmente, se pesó los vasos con la grasa y se registró.

El contenido de grasa total de la muestra se determinó mediante la siguiente ecuación:

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

W0

Donde:

W0 = Peso de la muestra

W1 = Peso del vaso beaker vacío
W2 = Peso del vaso más la grasa

64

Cenizas

Para la determinación de cenizas, se basó en el procedimiento de la norma INEN 786 (1985):

Se secó el crisol de porcelana limpia en la estufa a 100 °C durante 30 minutos, posteriormente se dejó enfriar en el desecador y se pesó con aproximación al 0,1 mg. Sobre el crisol se pesó con 2 gramos de la muestra preparada y se calentó durante algunos minutos, hasta obtener la muestra quemada. Después, se introdujo el crisol en la mufla a 550 °C hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (durante 8 horas aproximadamente). Se secó el crisol con las cenizas, y se dejó enfriar en el desecador, después se pesó con precisión.

El contenido de cenizas de la muestra se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$C = W_2 - W_1$$

W0

Donde:

W0 = Peso de la muestra

W1 = Peso del crisol vacío

W2 = Peso del crisol más la muestra calcinada

65

Recuento de poblaciones microbianas

Para la determinación de las unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL) se desarrolló basándose en la norma INEN 1529-5 (2006):

Se homogenizó 5 gramos de agua de peptona en 1000 mL de agua destilada. Luego, se colocó 9 mL de la solución en tubos de ensayos para la preparación de las diluciones seriadas, hasta 10⁻⁸. Posteriormente, se esterilizó los tubos con la solución en la autoclave. Después, en la cámara de flujo laminar, se preparó las diluciones con 1 gramo de la muestra, y se inoculó 1 mL de la dilución cuidadosamente, evitando la presencia de burbujas de aire, en el centro de la película cuadrículada inferior de las láminas de Petrifilm.

Los Petrifilm de bacterias se incubaron a una temperatura de 37-38°C durante 48 horas y los Petrifilm de mohos y levaduras durante 72 horas a temperatura ambiente. Luego, el conteo se realizó con el contador de colonias Colony Counter ISOLAB, y se determinó mediante el empleo de la siguiente ecuación:

Recuento

(
UFC
ml
)

= Número de colonias * Inverso del factor de dilución

Volumen inoculado

66

Capítulo IV

Resultados

Caracterización físico-química del mucílago de cacao

Tabla 20

Caracterización físico-química del mucilago de cacao fresco y fermentado

Parámetros

analizados

Unida

dFresco Fermentado

Naciona

ICCN-51 Nacional CCN-51

pH 3,63 3,52 4,02 3,97

Acidez

titulable

% 1,11 1,24 1,84 1,57

Sólidos

solubles

°Brix 17 19,5 12,5 15,5

Bacterias

aerobias

UFC/

mL

-- 1,48E+0

8

1,19E+0

8

Hongos/

levaduras

UFC/

mL

-- 5,2E+05 4,1E+05

En la tabla 20, se demuestra que hubo diferencia significativa en la caracterización físico-química del mucílago de cacao entre las dos variedades, antes y después de las 72 horas de fermentación. El pH del mucílago aumentó durante la fermentación, pasando de 3,63 a 4,02 para la variedad Nacional y de 3,52 a 3,97 para la variedad CCN-51. Este comportamiento es debido al consumo del ácido cítrico por parte de los microorganismos presentes en el mucílago (Gonzalez et al. 2019). Según Vallejo et al. (2016) y Lopez, J. (2021) demuestran en sus estudios que el pH

67

del mucílago del cacao Nacional es similar a 3,69, y de la variedad CCN-51 es superior a 3,52.

Asimismo, el porcentaje de acidez titulable del mucílago aumentó durante la fermentación, cambiando de 1,11% a 1,84% para la variedad Nacional y de 1,24% a 1,57% para la variedad CCN-51. Este cambio de acidez se debe al efecto de la formación de ácidos orgánicos, como el ácido láctico producido por las BAL y el ácido acético por las BAA (Gonzalez et al. 2019). Estos valores obtenidos son similares a los que presentó el estudio de Lopez, J. (2021), teniendo 1,86% en la variedad Nacional y 1,16% en la variedad CCN-51.

En cambio, el contenido de sólidos solubles disminuyó durante la

fermentación: de 17°Brix a 12,5°Brix en la variedad Nacional y 19,5°Brix a 15,5°Brix en la variedad CCN-51. Esta disminución se debe a la producción de ácido acético en la fase de fermentación (Otárola, 2018). De igual manera, en el estudio de Vallejo et al. (2016), los datos obtenidos de sólidos solubles de las dos variedades de cacao fueron inferiores a lo obtenido, 15°Brix en la variedad Nacional y 16°Brix en la variedad CCN-51.

Con respecto a la población bacteriana del mucílago fermentado, se obtuvo 1,48E+08 UFC/mL en la variedad Nacional y 1,19E+08 UFC/mL en la variedad CCN-51. En cuanto a la población de levaduras y hongos, se obtuvo 5,2E+05 UFC/mL en la variedad Nacional y 4,1E+05 UFC/mL en la variedad CCN-51.

68

Identificación de las BAL aisladas del mucílago de cacao fermentado

Tabla 21

Resultados de las pruebas microbiológicas de identificación bacteriana

Muestra Características Tinción Gram

Cacao Nacional (cepa

1)

Gram positivo

Bacilo

Catalasa negativa

Cacao Nacional (cepa

2)

Gram positivo

Bacilo

Catalasa negativa

Cacao CCN-51 (cepa

1)

Gram positivo

Bacilo

69

Catalasa negativa

Cacao CCN-51 (cepa

2)

Gram positivo

Bacilo

Catalasa negativa

Figura 2

Árbol filogenético basado en las secuencias 16S ARNr de las BAL

Nota. Árbol filogenético de las BAL aisladas del mucílago fermentado de las

70

dos variedades, Nacional y CCN-51, de cacao; con la Bacteria *Bacillus aerius* como grupo externo.

Los resultados presentados en la tabla 21, corresponden a las bacterias aisladas del medio selectivo (MRS agar) resultantes de la fermentación del

mucílago de las dos variedades cacao, las cuales resultaron ser bacilos, gram positivos y catalasa negativos. Según en el estudio de Huang et al. (2018), la mayoría de los *Lactobacillus* son bacterias gram-positivas, con forma de bacilo, negativas a la catalasa, anaeróbicas facultativas o microaerófilas, no formadoras de esporas y tolerantes a los ácidos, como el ácido cítrico. En la figura 2, se muestra el árbol filogenético de las 2 muestras enviadas a secuenciar (BAL Cacao Nacional y BAL Cacao CCN51), en el cual, se formó un clado para las bacterias aisladas con el *Lactobacillus pentosus* y *Lactobacillus plantarum*, con un valor de Bootstrap de 85% y 79%, respectivamente. Según De Vuyst y Leroy (2020), la especie *L. plantarum* junto con otras bacterias fructófilas se encuentran presentes en las primeras fases de la fermentación del mucílago de cacao, mientras que en la fase media y tardía prevalecen algunas especies de BAL heterofermentativas, como la bacteria *Lactobacillus fermentum*. Por lo tanto, las BAL presentes en el mucílago de cacao fermentado tienen una similitud al *L. plantarum*, debido que son bacilos con extremos redondos y rectos entre 0,9-1,2 μm de ancho y de 3-8 μm de largo, presentándose en pares, en cadenas cortas o en forma lineal (Lopez, 2021), coincidiendo con los resultados de la tabla 21.

71

Análisis de varianza

Análisis de varianza para la variable pH

Tabla 22

Análisis de varianza para el pH en el día 0 de la bioconservación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl Cuadrado	Medio Cuadrado	Razón-F	Valor-P	EFFECTOS PRINCIPALES
A:Tilapia	0,062	1	0,062	497,168	0,0000	
B:Concentracion de NaCl+BAL	0,001	2	0,000	2,699	0,116	
C:Repetición	0,000	2	0,000	0,841	0,460	
INTERACCIONES						
A*B	0,001	2	0,000	2,699	0,116	
RESIDUOS	0,001	10	0,000			
TOTAL	0,065	17				

En la tabla 22, se muestra el análisis de varianza del pH en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencia significativa en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de NaCl+BAL), interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL) y en las

72

repeticiones no presentaron diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 23

Análisis de varianza para el pH en el día 5 de la bioconservación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl Cuadrado	Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tilapia	0,130	1	0,130	1648,52	1
B:Concentracion de NaCl+BAL	0,035	2	0,018	224,225	0,0000
C:Repetición	0,001	2	0,000	3,451	0,073
INTERACCIONES					
A*B	0,011	2	0,005	68,451	0,000
RESIDUOS	0,001	10	7,889E-5		
TOTAL	0,178	17			

En la tabla 23, se muestra el análisis de varianza del pH en el día 5 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), factor B (Concentración de NaCl+BAL) y la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL). Mientras que en las

73

repeticiones no presentaron diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 24

Análisis de varianza para el pH en el día 10 de la bioconservación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl Cuadrado	Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tilapia	0,236	1	0,236	2020,76	2
B:Concentracion de NaCl+BAL	0,069	2	0,035	296,714	0,000
C:Repetición	0,001	2	0,000	3,571	0,068
INTERACCIONES					
A*B	0,002	2	0,001	9,476	0,005
RESIDUOS	0,001	10	0,000		
TOTAL	0,309	17			

En la tabla 24, se muestra el análisis de varianza del pH en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), factor B (Concentración de NaCl+BAL) y la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL). Mientras que en las repeticiones no presentaron diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para la variable acidez titulable

Tabla 25

Análisis de varianza para la acidez titulable en el día 0 de la bioconservación

Fuente Suma de GI Cuadrado Razón- Valor-P

74

Cuadrados Medio F

EFFECTOS PRINCIPALES

A:Tilapia 0,009 1 0,009 115,942 0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,000 2 0,000 2,609 0,123

C:Repetición 3,333E-5 2 1,667E-5 0,217 0,808

INTERACCIONES

A*B 0,000 2 0,000 2,029 0,182

RESIDUOS 0,001 10 7,667E-5

TOTAL 0,010 17

En la tabla 25, se muestra el análisis de varianza de la acidez titulable en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de NaCl+BAL), interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL) y en las repeticiones no presentaron diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 26

Análisis de varianza para la acidez titulable en el día 5 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

GI Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 0,008 1 0,008 166,951 0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,005 2 0,002 52,073 0,000

C:Repetición 7,778E-5 2 3,889E-5 0,854 0,455

INTERACCIONES

A*B 0,001 2 0,001 15,488 0,001

RESIDUOS 0,000 10 4,556E-5

TOTAL 0,014 17

75

En la tabla 26, se muestra el análisis de varianza de la acidez titulable en el día 5 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia*Concentración de NaCl+BAL), excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 27

Análisis de varianza para la acidez titulable en el día 10 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 0,007 1 0,007 93,913 0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,005 2 0,005 31,957 0,000

C:Repetición 3,33E-5 2 1,667E-5 0,217 0,808

INTERACCIONES

A*B 0,001 2 0,001 8,478 0,007

RESIDUOS 0,001 10 7,667E-5

TOTAL 0,014 17

En la tabla 27, se muestra el análisis de varianza de la acidez titulable en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se observó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia*Concentración de NaCl+BAL), excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

76

Análisis de varianza para la variable humedad

Tabla 28

Análisis de varianza para la humedad en el día 0 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 5,046 1 5,046 151,768 0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,271 2 0,135 4,072 0,051

C:Repetición 0,049 2 0,025 0,742 0,501

INTERACCIONES

A*B 0,084 2 0,042 1,263 0,324

RESIDUOS 0,332 10 0,033

TOTAL 5,782 17

En la tabla 28, se muestra el análisis de varianza de la humedad en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de NaCl+BAL), en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL) y en las repeticiones no presentaron diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 29

Análisis de varianza para la humedad en el día 10 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado
Medio
Razón-
F
Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES
A: Tilapia 9,527 1 9,527 318,571 0,000
B:Concentracion de
NaCl+BAL
7,789 2 3,894 130,229 0,000
C:Repetición 0,147 2 0,074 2,465 0,135
INTERACCIONES
A*B 1,783 2 0,891 29,806 0,000

77

RESIDUOS 0,299 10 0,030
TOTAL 19,545 17

En la tabla 29, se muestra el análisis de varianza de la humedad en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL), excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para la variable grasa total

Tabla 30

Análisis de varianza para la grasa total en el día 0 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

EFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 3,920 1 3,920 117,365 0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,270 2 0,135 4,043 0,052

C:Repetición 0,048 2 0,024 0,725 0,508

INTERACCIONES

A*B 0,088 2 0,044 1,322 0,309

RESIDUOS 0,334 10 0,033

TOTAL 4,661 17

En la tabla 30, se muestra el análisis de varianza de la humedad en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se observó diferencias significativas en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de NaCl+BAL), en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL) y

78

en las repeticiones no se observó diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 31

Análisis de varianza para la grasa total en el día 10 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 4,550 1 4,550 1518,40

0

0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

1,057 2 0,529 176,368 0,000

C:Repetición 0,007 2 0,004 1,174 0,348

INTERACCIONES

A*B 0,168 2 0,084 28,044 0,020

RESIDUOS 0,030 10 0,003

TOTAL 5,812 17

En la tabla 31, se muestra el análisis de varianza de grasa total en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL). Excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para la variable cenizas

Tabla 32

Análisis de varianza para la variable cenizas en el día 0 de la bioconservación

Fuente Suma de

Cuadrados

Gl Cuadrado

Medio

Razón-

F

Valor-P

79

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 0,052 1 0,052 15,631 0,003

B:Concentracion de

NaCl+BAL

0,019 2 0,009 2,833 0,106

C:Repetición 0,002 2 0,001 0,320 0,733

INTERACCIONES

A*B 0,021 2 0,011 3,228 0,083

RESIDUOS 0,033 10 0,003

TOTAL 0,127 17

En la tabla 32, se muestra el análisis de varianza de cenizas en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se observó diferencias significativas en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de NaCl+BAL), en la interacción A*B (Tilapia*Concentración de NaCl+BAL) y en las repeticiones no se observó diferencias significativas, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 33

Análisis de varianza para la variable cenizas en el día 10 de la
bioconservación
Fuente Suma de
Cuadrados
Gl Cuadrado
Medio
Razón-
F
Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES

80
A: Tilapia 0,285 1 0,285 289,598 0,000
B:Concentracion de
NaCl+BAL
0,547 2 0,274 277,938 0,000
C:Repetición 0,002 2 0,001 1,224 0,335
INTERACCIONES
A*B 0,039 2 0,020 20,055 0,000
RESIDUOS 0,010 10 0,001
TOTAL 0,884 17

En la tabla 33, se muestra el análisis de varianza de cenizas en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL), excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para la variable proteína bruta

Tabla 34

Análisis de varianza para la proteína bruta en el día 0 de la bioconservación

Fuente Suma de
Cuadrados
Gl Cuadrado
Medio
Razón-
F
Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES
A: Tilapia 6,414 16,414 182,311 0,000
B:Concentracion de
NaCl+BAL
0,227 20,113 3,224 0,083
C:Repetición 0,005 20,002 0,065 0,938
INTERACCIONES
A*B 0,285 2 0,143 4,057 0,051
RESIDUOS 0,352 10 0,035
TOTAL 7,283 17

En la tabla 34, se muestra el análisis de varianza de proteína bruta en el día 0 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia). Mientras que en el factor B (Concentración de

NaCl+BAL), en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL) y en las repeticiones no se presentó diferencia significativa, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Tabla 35

Análisis de varianza para la proteína bruta en el día 10 de la bioconservación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl Cuadrado	Medio	Razón-F	Valor-P
--------	-------------------	-------------	-------	---------	---------

EFFECTOS PRINCIPALES

A: Tilapia 33,293 133,293 13607,41

1

0,000

B:Concentracion de

NaCl+BAL

47,958 2 23,979 9800,717 0,000

C:Repetición 0,002 20,001 0,436 0,658

INTERACCIONES

A*B 0,511 2 0,255 104,423 0,000

RESIDUOS 0,024 10 0,002

TOTAL 81,789 17

En la tabla 35, se muestra el análisis de varianza de proteína bruta en el día 10 de la bioconservación de las carnes de tilapia con BAL en diferentes concentraciones de cloruro de sodio; se presentó diferencias significativas en el factor A (Tilapia), en el factor B (Concentración de NaCl+BAL) y en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL), excepto en las repeticiones, mostrando normalidad en la toma de resultados.

Prueba de significancia de Tukey para los factores de estudio

Resultados del estudio para las especies de tilapia (Factor A)

Tabla 36

Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor A en las variables físico-químicas

Factor A

(Tilapia)

pH

Acidez

titulab

le

pH

Acidez

titulab

le

pH

Acidez

titulab

le

Día 0 Día 5 Día 10

O. mossambicus 6,43A0,20B6,33A0,26B6,28

A0,36B

O. niloticus 6,32B0,24A6,20B0,29A6,07

B0,39A

Tabla 37

Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor A en las variables

bromatológicas

Factor A

(Tilapia)

Humed

ad

Grasa

total

Cenizas

Proteín

a bruta

Humed

ad

Grasa

total

Cenizas

Proteín

a bruta

Día 0 Día 10

O.

mossambicus

73,55

A

2,57B0,97

B

16,60

B

75,08

A

3,23B1,02

B

18,46

B

O. niloticus 72,44

B

3,42A1,06

A

17,81

A

73,88

B

4,24A1,35

A

21,16

A

83

Figura 3

Estudio del efecto de las especies de tilapia (Factor A) en las variables de estudio

pH Acidez titulable (%)

Humedad (%) Grasa total (%)

Cenizas (%) Proteína bruta (%)

84

En la tabla 36 y 37, se observa que la especie *O. mossambicus* presentó mayor valor de pH y humedad, mientras que la especie *O. niloticus* presentó mayor valor en acidez, grasa total, cenizas y proteína bruta en el día 0, 5 y 10 de bioconservación.

En el pH, las dos especies de tilapia *O. mossambicus* y *O. niloticus* disminuyeron en los tres tiempos de bioconservación, desde un pH de 6,43 a 6,33 en el día 5 y 6,28 en el día 10, y de 6,32 a 6,20 en el día 5 y 6,07 en el día 10 de la bioconservación, respectivamente.

Para la acidez, en ambas especies de tilapia *O. mossambicus* y *O. niloticus* aumentaron en los tres tiempos de bioconservación. Con la especie *O. mossambicus*, la acidez aumentó de 0,20% a 0,26% en el día 5 y 0,36% en el día 10, y con la especie *O. niloticus* aumentó de 0,24% a 0,29% en el día 5 y 0,39% en el día 10 de bioconservación.

En la humedad, la especie *O. mossambicus* aumentó desde 73,55% a 75,08% en el día 10 de la bioconservación. En la especie *O. niloticus* sucede

85

lo mismo, hubo un incremento desde 72,44% a 73,88% en el día 10 de la bioconservación.

En la grasa total, en ambas especies *O. mossambicus* y *O. niloticus* se observó un incremento desde 2,57% a 3,23% y 3,42% a 4,24%, respectivamente, en el día 10 de bioconservación.

En cenizas, en la especie *O. mossambicus* y *O. niloticus* se observó un incremento desde 0,97% a 1,02% y 1,06% a 1,35%, respectivamente, en los 10 días de bioconservación.

En la proteína bruta, la especie *O. mossambicus* aumentó desde 16,60% a 18,46% en el día 10 de la bioconservación, y en la especie *O. niloticus* hubo un incremento desde 17,81% a 21,16% en el día 10 de la bioconservación.

Resultados del estudio para las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL (Factor B)

Tabla 38

Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor B en las variables físico-químicas

Factor B

(Concentración de

NaCl+BAL)

pH

Acidez

titulab

le

pH

Acidez

titulab

le

Día 5 Día 10

10% de NaCl+BAL 6,19B0,24B6,09

C

0,34C

15% de NaCl+BAL 6,28A0,28A6,17 0,37B

86

B

20% de NaCl+BAL 6,29A0,29A6,23

A

0,39A

Tabla 39

Resultados del análisis de la prueba Tukey para el factor B en las variables bromatológicas

Factor B

(Concentración de

NaCl+BAL)

Humedad

ad

Grasa

total

Cenizas

Proteína

bruta

Día 10

10% de NaCl+BAL 75,51A3,46C1,06

C

18,43C

15% de NaCl+BAL 74,47B3,73B1,19

B

19,80B

20% de NaCl+BAL 74,09C4,04A1,45

A

22,34A

Figura 4

Estudio del efecto de las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL (Factor B) en las variables de estudio

pH Acidez titulable (%)

87

Humedad (%) Grasa total (%)

Cenizas (%) Proteína bruta (%)

En la tabla 38 y 39, se observa que la mayor concentración de cloruro de sodio (20%) con BAL presentó mayor valor de pH, acidez, grasa total, cenizas y proteína bruta en el día 10 de bioconservación, mientras que la

88

menor concentración de cloruro de sodio (10%) con BAL presentó mayor valor en humedad.

En el pH, los tratamientos tratados con 10, 15 y 20% de cloruro de sodio con BAL presentaron una disminución de pH, desde 6,38 a 6,19 en el día 5 y a 6,09 en el día 10, de 6,38 a 6,28 en el día 5 y a 6,17 en el día 10, y de 6,37 a 6,29 en el día 5 y a 6,23 en el día 10 de bioconservación, respectivamente.

En la acidez, los tratamientos con 10%, 15% y 20% de cloruro de sodio con BAL presentaron un aumento de 0,22% a 0,24% en el día 5 y a 0,34% en el día 10, de 0,22% a 0,28% en el día 5 y a 0,37% en el día 10, y de 0,22% a 0,29% en el día 5 y a 0,39% en el día 10, respectivamente.

En la humedad, se observó un aumento con el tiempo en las tres concentraciones de cloruro de sodio con BAL. A 10% de cloruro de sodio con BAL presentó desde 73,16% a 75,51%, a 15% desde 72,94% a 74,47% y a 20% desde 72,75% a 74,09%.

En la grasa total se observó, de igual manera, un aumento con el tiempo en las tres concentraciones de cloruro de sodio con BAL. A 10% de cloruro de sodio con BAL presentó desde 2,93% a 3,46%, a 15% desde 3,15% a 3,73% y a 20% desde 3,13% a 4,04%.

En cenizas, se observó un incremento con el tiempo en las tres concentraciones de cloruro de sodio con BAL. A 10% de cloruro de sodio con BAL presentó desde 1,01% a 1,06%, a 15% desde 1,04% a 1,19% y a 20% desde 1,04% a 1,45%.

En la proteína bruta, se observó un aumento con el tiempo en las tres concentraciones de cloruro de sodio con BAL. A 10% de cloruro de sodio con

89

BAL presentó desde 17,20% a 18,43%, a 15% desde 17,23% a 19,80% y a 20% desde 17,02% a 22,34%.

Prueba de Tukey para la interacción significativa en la bioconservación

Análisis de Tukey en la interacción A*B (Tilapia+Concentración de NaCl con BAL)

Tabla 40

Resultados del análisis de la prueba Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas

Factor A

(Tilapia)

Factor B

(Concentración de NaCl+BAL)

pH

Acidez

titulabl

e

pH Acidez

titulable

Día 5 Día 10

O.

mossambicus

10% de NaCl+BAL 6,30

C

0,22D6,20C0,32D

O.

mossambicus

15% de NaCl+BAL 6,33

B

0,26C6,28B0,35C

O.

mossambicus

20% de

NaCl+BAL

6,37

A

0,28B6,37A0,37B

O. niloticus 10% de NaCl+BAL 6,07

E

0,28B5,98F0,37B

O. niloticus 15% de NaCl+BAL 6,22

D

0,30A6,07E0,39A

O. niloticus 20% de

NaCl+BAL

6,20

D

0,30A6,11D0,40A

Tabla 41

Resultados del análisis de la prueba Tukey para la interacción A*B en las variables bromatológicas

90

Factor A

(Tilapia)

Factor B

(Concentración

de NaCl+BAL)

Humedad

Grasa

total

Cenizas

Proteína

bruta

Día 10

O.

mossambicus

10% de NaCl+BAL 76,74

A

2,83F0,88

E

17,26F

O.

mossambicus

15% de NaCl+BAL 75,08

B

3,23E1,02

D

18,46E

O.

mossambicus

20% de NaCl+BAL 74,44

C

3,66D1,39

B

20,79C

O. niloticus 10% de NaCl+BAL 74,45

C

4,07C1,18

C

19,57D

O. niloticus 15% de NaCl+BAL 73,79

D

4,24B1,35

B

21,16B

O. niloticus 20% de NaCl+BAL 73,66

D

4,43A1,51

A

23,93A

Figura 5

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable pH

Día 5

91

Día 10

En la figura 5, se observa que en la interacción A*B del pH existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* bioconservada con 20% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao, presentó valores mayores de pH en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* con 10% de cloruro de sodio y BAL.

Figura 6

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable acidez titulable

Día 5

92

Día 10

En la figura 6, se observa que en la interacción A*B de la acidez titulable existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* bioconservada con 20% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao,

93

presentó valores mayores de acidez en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* con 10% de cloruro de sodio y BAL.

Figura 7

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable humedad

Día 10

En la figura 7, se observa que en la interacción A*B de la humedad existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* bioconservada con 10% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao, presentó valores mayores de humedad en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* con 20% de cloruro de sodio y BAL.

Figura 8

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable grasa total

94

Día 10

En la figura 8, se observa que en la interacción A*B de la grasa total existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* bioconservada con 20% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao, presentó valores mayores de grasa total en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* con 10% de cloruro de sodio y BAL.

Figura 9

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable cenizas

Día 10

95

En la figura 9, se observa que en la interacción A*B de cenizas existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* bioconservada con 20% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao, presentó valores mayores de cenizas en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* con 10% de cloruro de sodio y BAL.

Figura 10

Estudio del efecto de la interacción A*B en la variable proteína bruta

96

Día 10

En la figura 10, se observa que en la interacción A*B de proteína bruta existe diferencia respecto a las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en el cual, la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* bioconservada con 20% de cloruro de sodio y BAL proveniente de la fermentación del mucílago de ambas variedades de cacao, presentó valores mayores de proteína en comparación a la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* con 10% de cloruro de sodio y BAL.

Parámetro microbiológico de las carnes de tilapia

Recuento de bacterias aerobias

Figura 11

97

Recuento de bacterias aerobias durante el tiempo de bioconservación de las

carnes de tilapia con bacterias lácticas en distintas concentraciones de cloruro de sodio

0 5 10

0.00E+00

1.00E+07

2.00E+07

3.00E+07

4.00E+07

5.00E+07

6.00E+07

Bacterias aerobias

O. mossambicus con 10% +

BAL

O. mossambicus con 15% +

BAL

O. mossambicus con 20% +

BAL

O. niloticus con 10% + BAL

O. niloticus con 15% + BAL

O. niloticus con 20% + BAL

Tiempo (Días)

UFC/mL

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 11, se demuestra la curva de crecimiento de las bacterias aerobias presentes en las carnes de tilapia bioconservadas con BAL y cloruro de sodio. En el día 0 se observa un valor máximo de $1,10E+07$ UFC/mL en la carne de tilapia de la especie *O. mossambicus* con 10% de NaCl con BAL, mientras tanto, en la carne de tilapia de la especie *O. niloticus* con 20% de NaCl con BAL presentó un valor mínimo de bacterias aerobias ($6,0E+06$ UFC/mL). En el día 5, se determinó un mayor crecimiento de bacterias en los tratamientos tratados con 10% de NaCl+BAL, con un valor de superior de $3,5E+07$ UFC/mL, en comparación de los tratamientos tratados con 15% y 20% de NaCl+BAL. Y en el día 10, se observó un crecimiento ligero de las bacterias aerobias, en donde el tratamiento tratado con 10% de NaCl+ BAL en la carne de tilapia *O. mossambicus* presentó el valor mayor de bacterias

98

($4,9E+07$ UFC/mL), en tanto el tratamiento con carne de tilapia *O. niloticus* tratada con 20% de cloruro de sodio presentó el valor mínimo de bacterias ($3,1E+07$).

Recuento de Enterobacterias, mohos y levaduras

Tabla 42

Recuento de Enterobacterias, mohos y levaduras en el día 10 de bioconservación de las carnes de tilapia con bacterias ácido lácticas en distintas concentraciones de cloruro de sodio

Tratamientos Enterobacterias Mohos y

levaduras

O. mossambicus con 10% +

BAL

$2,0E+03$ 0

O. mossambicus con 15% +

BAL

0 0

O. mossambicus con 20% +

BAL

0 0

O. niloticus con 10% + BAL 1,0E+03 0

O. niloticus con 15% + BAL 0 0

O. niloticus con 20% + BAL 0 0

En la tabla 41, se demuestra el conteo de enterobacterias, mohos y levaduras de los diferentes tratamientos estudiados en el día 10 de bioconservación, en la cual se encontró un ligero crecimiento de enterobacterias en los tratamientos tratados con 10% de cloruro de sodio con BAL, con un valor de 1,0E+03 UFC/mL en la especie O. niloticus y 2,0E+03

99

UFC/mL en la especie O. mossambicus, mientras que no se observó crecimiento de mohos y levaduras en los mismos tratamientos.

Análisis de conglomerados

Figura 12

Dendograma para los factores en estudio

En la figura 12, se presenta un dendograma de grupos de vecinos más cercanos aplicados en los tratamientos de estudio con las variables físico-

100

químicas y bromatológicas (pH, acidez, humedad, grasa total, cenizas y proteína bruta), en el cual se observa grupos formados según la especie de pescado bioconservada con BAL. Existe una estrecha similitud entre el tratamiento O. mossambicus + 20% NaCl con BAL y O. niloticus + 15% NaCl con BAL. Por otro lado, los tratamientos con menor relación son O. niloticus + 20% NaCl con BAL y O. mossambicus + 10% NaCl con BAL.

Análisis de componentes principales

Tabla 43

Matriz de correlación de componentes principales

pH

Día 0

pH Día

5

pH Día

10

acidez

Día 0

acidez

Día 5

acidez

Día 10

Humedad

Día 0

Humedad

Día 10

Grasa

Día 0

Grasa

Día 10

Cenizas

Día 0

Cenizas

Dia 10

Proteína

Dia 0

Proteína

Dia 10

Correlacion

pH (Dia 0) 1,000 ,835 ,840 -,941 -,715 -,710 ,921 ,690 -,905 -,881 -,664 -,583 -,904 -,683
pH (Dia 5) ,835 1,000 ,946 -,735 -,414 -,416 ,681 ,367 -,698 -,600 -,444 -,182 -,854 -,249
pH (Dia 10) ,840 ,946 1,000 -,734 -,345 -,321 ,723 ,295 -,696 -,560 -,391 -,116 -,913 -,209
acidez (Dia 0) -,941 -,735 -,734 1,000 ,779 ,782 -,841 -,752 ,912 ,874 ,768 ,608 ,850 ,712
acidez (Dia 5) -,715 -,414 -,345 ,779 1,000 ,962 -,763 -,976 ,786 ,923 ,670 ,874 ,536 ,839
acidez (Dia 10) -,710 -,416 -,321 ,782 ,962 1,000 -,763 -,950 ,757 ,920 ,723 ,877 ,540 ,862
Humedad (Dia 0) ,921 ,681 ,723 -,841 -,763 -,763 1,000 ,748 -,860 -,916 -,575 -,710 -,867 -,763
Humedad (Dia 10) ,690 ,367 ,295 -,752 -,976 -,950 ,748 1,000 -,795 -,923 -,725 -,886 -,479 -,857
Grasa (Dia 0) -,905 -,698 -,696 ,912 ,786 ,757 -,860 -,795 1,000 ,909 ,798 ,672 ,808 ,762
Grasa (Dia 10) -,881 -,600 -,560 ,874 ,923 ,920 -,916 -,923 ,909 1,000 ,734 ,867 ,718 ,874
Cenizas (Dia 0) -,664 -,444 -,391 ,768 ,670 ,723 -,575 -,725 ,798 ,734 1,000 ,538 ,510 ,650
Cenizas (Dia 10) -,583 -,182 -,116 ,608 ,874 ,877 -,710 -,886 ,672 ,867 ,538 1,000 ,360 ,950
Proteína (Dia 0) -,904 -,854 -,913 ,850 ,536 ,540 -,867 -,479 ,808 ,718 ,510 ,360 1,000 ,480
Proteína (Dia 10) -,683 -,249 -,209 ,712 ,839 ,862 -,763 -,857 ,762 ,874 ,650 ,950 ,480 1,000

En la tabla 43, se puede observar una matriz de correlacion de los componentes principales, donde la variable pH en los tres tiempos de bioconservación están correlacionados entre sí, con más de 0,84, y la variable proteína esta correlacionado con la variable cenizas con un valor de

101

0,95 en el día 10 de bioconservación. Además, la variable acidez tiene una correlacion con la grasa total en el día 10 con un valor de 0,92. Con respecto a la humedad, se puede observar una correlación baja con el pH en el día 10 de bioconservación (0,295).

Tabla 44

Matriz de componentes

No

Componente

123

1 pH (Dia 0) -,937 ,298 ,047

2 pH (Dia 5) -,689 ,658 -,009

3 pH (Dia 10) -,661 ,741 ,054

4 acidez (Dia 0) ,941 -,170 ,131

5 acidez (Dia 5) ,893 ,350 -,034

6 acidez (Dia 10) ,892 ,361 ,016

7

Humedad(Dia

0)

-,930 ,127 ,259

8

Humedad(Dia

10)

-,882 -,405 -,042

9 Grasa(Dia 0) ,948 -,100 ,133

10 Grasa(Dia 10) ,981 ,134 -,066

11 Cenizas(Dia 0) ,769 ,110 ,607

12

Cenizas(Dia

10)

,783 ,557 -,222

13 Proteína(Dia 0) ,811 -,519 -,113

14

Proteína(Dia

10)

,837 ,447 -,110

Tabla 45

Porcentajes de varianza total explica

Varianza total explicada

102

Componente

Autovalores iniciales

Sumas de cargas al

cuadrado de la

extracción

Total

% de

varian

za

%

acumula

do

Total

% de

varian

za

%

acumula

do

110,33

673,829 73,829 10,3

36

73,82

973,829

2 2,351 16,794 90,623 2,35

1

16,79

490,623

3 ,557 3,981 94,604 ,557 3,981 94,604

4 ,304 2,172 96,776

5 ,133 ,950 97,726

6 ,109 ,782 98,508

7 ,097 ,692 99,200

8 ,058 ,413 99,613

9 ,026 ,183 99,796

1

0,013 ,093 99,889

1

1,008 ,061 99,950

1

2,004 ,031 99,981

1

3,002 ,017 99,998

1

4,000 ,002 100,000

Figura 13

Gráfica de sedimentación

103

En la figura 13, se presenta el gráfico de sedimentación donde se evaluó las 14 variables, de las cuales, según la varianza total explicada se identificó 4 componentes con mayor porcentaje de varianza (>1%). El pH en el día 0 (componente 1) obtuvo mayor porcentaje (73,83%) a comparación de las otras variables. En cambio, el pH del día 5 (componente 2), el pH del día 10 (componente 3) y la acidez del día 0 (componente 4), el porcentaje de varianza fue de 16,79%, 3,98% y 2,17% respectivamente. Con respecto a los demás componentes, sus porcentajes de varianza son inferiores a 1, siendo probablemente menos relevantes en el estudio.

Por lo general, los factores principales que influyen en la conservación de alimentos es el pH y la acidez, sin embargo, algunos expertos en la conservación de alimentos determinan la acidez en función al pH (Rushing, 2010), debido que influyen en el crecimiento microbiano, con un pH óptimo de 8,5 para los hongos y levaduras y 6-8 para bacterias (Cervantes et al.

104

2017). No obstante, ciertas bacterias crecen en rangos de pH más bajos como las BAL, que crecen en la mayoría de alimentos, bajando el pH a 3 para impedir el crecimiento de competidores (Bordons et al. 2018).

Figura 14

Gráfica de componentes principales

En la figura 14, se muestra los resultados de componentes principales de las 14 variables de estudio, donde el componente 2 se obtuvo dos grupos relacionados, el pH del día 5 y día 10 y el otro grupo de pH y humedad del día 0 de bioconservación. En el componente 3 se formaron cuatro grupos relacionados, siendo el más grande con correlación alta, el de cenizas, proteína en el día 10 de bioconservación, en este mismo componente se correlaciona la acidez del día 5, grasa total y acidez del día 10, y esta a su

105

vez se correlaciona con la grasa total del día 0 de bioconservación.

Finalmente, la acidez del día 0 se correlaciona con la proteína del día 0.

Análisis sensorial

Tabla 46

Análisis sensoriales de las carnes de tilapia (*O. mossambicus* y *O. niloticus*) bioconservadas con cloruro de sodio y BAL, durante 10 días

Atributo Tratamiento Día 10

Color *O. mossambicus*+10%

NaCl+BAL

2,04D

O. mossambicus+15%

NaCl+BAL

2,54D

O. mossambicus+20%

NaCl+BAL

3,50B

O. niloticus+10% NaCl+BAL 2,93C
O. niloticus+15% NaCl+BAL 2,82C
O. niloticus+20% NaCl+BAL 3,79A
Aroma O. mossambicus+10%
NaCl+BAL
2,85B
O. mossambicus+15%
NaCl+BAL
2,89B
O. mossambicus+20%
NaCl+BAL
3,68A
O. niloticus+10% NaCl+BAL 3B
O. niloticus+15% NaCl+BAL 3,21A
O. niloticus+20% NaCl+BAL 3,71A
Textura O. mossambicus+10%
NaCl+BAL
2,57B
O. mossambicus+15%
NaCl+BAL
2,75B
O. mossambicus+20% 3,36A

106

NaCl+BAL

O. niloticus+10% NaCl+BAL 2,75B

O. niloticus+15% NaCl+BAL 3,29A

O. niloticus+20% NaCl+BAL 3,65A

Nota: La escala de valores establecida fue 4 Excelente, 3 Bueno, 2 Regular, 1 Malo.

En la Tabla 46, se muestra los resultados del análisis sensorial donde se puede determinar que el mejor tratamiento de las carnes de tilapia bioconservadas con cloruro de sodio y BAL durante los 10 días a 3-4°C es O. niloticus+20% NaCl+BAL, debido que obtuvo mayor puntaje en los tres atributos establecido (valores mayores a 3). Además, se puede incidir que a mayor concentración de cloruro de sodio con BAL se obtuvo mejores resultados (superior a 3). Aunque es importante destacar que los valores reportados por parte de los catadores siempre estuvieron por encima del valor mínimo de aceptabilidad establecido para el presente estudio que fue superior a 2. Sin embargo, los tratamientos con 10 y 15% de NaCl + BAL en la carne de tilapia de la especie O. mossambicus, por lo general, tuvieron menor aceptación.

107

Capítulo V

Discusión

Las bacterias del ácido láctico, especialmente *L. plantarum*, provenientes del mucílago fermentado de las dos variedades de cacao (Nacional y CCN-51), tienen un gran potencial para su uso en la bioconservación de alimentos, debido que son seguras para el consumo, y durante la conservación dominan de forma natural la microflora de muchos alimentos (De Vuyst y Leroy, 2020). ZEn carnes y pescados crudos que se

conservan en frío, las bacterias del ácido láctico se convierten en la población dominante y conservan la carne en un perfecto estado (Barcenilla et al. 2022). Sin embargo, en la actualidad el uso de estas bacterias como agentes de bioconservación todavía están subutilizados a pesar de los prometedores resultados antes mencionados.

Según Kim et al. (2020), mencionan que las bacterias ácido lácticas tienen un gran potencial antimicrobiano que inhibe o retrasa el crecimiento de microorganismos patógenos en productos cárnicos y en frutos, como E. coli, Salmonella, Listeria, Klebsiella spp., Enterobacter, entre otros. Asimismo,

108

en el trabajo de Barcenilla et al. (2022), mencionan que la utilización de bacterias ácido lácticas como estrategia biológica en la conservación para los productos cárnicos controlan la proliferación de microorganismos indeseables debido a sus metabolitos antimicrobianos, logrando una vida útil más larga o inhibiendo el deterioro y las bacterias patógenas, en especial cuando se combinan con otras aplicaciones tecnológicas para lograr un efecto sinérgico.

Respecto a las especies de tilapia (Factor A)

Con respecto a los resultados físico-químicos y bromatológicos de las carnes de tilapia, se observó valores de pH entre 6,05 a 6,44 los cuales están acorde a lo establecido por la norma técnica ecuatoriana INEN 183. Las carnes de tilapia conservadas con BAL y cloruro de sodio presentaron una disminución de pH al transcurrir el tiempo, tanto en la especie *O. niloticus* como en la especie *O. mossambicus*, este resultado es consistente al estudio reportado por Talledo et al. (2020). Además, Vásquez et al. (2009) mencionan que la disminución de pH en productos cárnicos tratados con las bacterias ácido lácticas, se debe a la producción de ácidos orgánicos por las mismas bacterias.

En cuanto a la acidez, se observó valores de 0,20% a 0,36% en la especie *O. mossambicus* y 0,24% a 0,39% en la especie *O. niloticus*, presentando un incremento de acidez con el transcurso de tiempo, estos valores son similares al estudio de Mera (2015). Según Cao et al. (2015) el aumento de la acidez se debe a la formación de ácido láctico y ácido acético

109

por las bacterias lácticas, favoreciendo el crecimiento de las BAL y a la vez impidiendo el crecimiento de microorganismos indeseables que afectan a la calidad del pescado.

En la humedad, se obtuvo 73,55% a 75,08% en la especie *O. mossambicus* y 72,44% a 73,88% en la especie *O. niloticus*, estos valores se encuentran dentro de los parámetros (67-80%) reportados por Valls (2007).

Por otra parte, Silva et al. (2017), establecen que estos porcentajes de humedad permiten conservar la calidad del pescado y sus propiedades nutricionales, impidiendo a su vez el deterioro proteolítico del músculo.

En cenizas, se obtuvo 0,97% a 1,02% en la especie *O. mossambicus* y 1,06% a 1,35% en la especie *O. niloticus*, estos valores se encuentran dentro del parámetro (1,10-1,5%) establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2001).

En grasa total, se observó valores de 2,57% a 3,23% en la especie *O. mossambicus* y 3,42% a 4,24% en la especie *O. niloticus*, los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,2-25%) establecido por Valls (2007).

En proteína, se obtuvo 16,60% a 18,46% en la especie *O. mossambicus* y 17,81% a 21,16% en la especie *O. niloticus*, estos valores se encuentran

dentro del rango de valores (15-27%) reportado por Valls (2007). De acuerdo con el estudio de Talledo et al. (2020) el incremento de algunas variables bromatológicas, como la proteína, a lo largo del tiempo de conservación se deben influenciadas por la interrelación de las bacteriocinas de las bacterias ácido lácticas y las bacterias propias del pescado.

110

Respecto a las distintas concentraciones de cloruro de sodio con las bacterias ácido lácticas (Factor B)

En el factor B, se analizó el efecto de las distintas concentraciones de cloruro de sodio con las bacterias ácido lácticas en la bioconservación de la carne de pescado, analizando cada parámetro físico-químico y microbiológicos aplicados.

En la variable pH, la mayor concentración (20%) de cloruro de sodio con BAL presentó un valor mayor a comparación de las dos inferiores (10 y 15%), sin embargo, se presentó una ligera disminución de 6,38 a 6,23, estos resultados se encuentran dentro de los valores reportados por Mera (2015) y por la norma técnica ecuatoriana (NTE INEN 183, 2013).

En cuanto a la acidez, la mayor concentración (20%) de cloruro de sodio con BAL presentó un valor mayor a comparación de las dos inferiores (10 y 15%), el cual aumenta de 0,22% a 0,39%, siendo resultados inferiores al estudio de Suárez et al. (2008) que obtuvieron 0,39-0,41%. Según Cao et al. (2015) el aumento de la acidez se explica por la formación de ácido láctico y ácido acético por las bacterias lácticas, impidiendo el crecimiento de bacterias indeseables que afectan a la calidad del pescado. De acuerdo con el estudio de Rodríguez et al. (2009), la determinación de acidez o del pH permite determinar el grado de deterioro del pescado, a menor acidez mayor racidéz.

Con respecto a la humedad, el 10% de cloruro de sodio con BAL presentó un valor mayor (75,59%) a las otras dos (15-20%) concentraciones

111

de cloruro de sodio (74,43 y 74,05%, respectivamente). Estos valores se encuentran en el rango establecido por Perea et al. (2015) donde menciona que estos valores representa buena calidad del pescado. Además, estos resultados concuerdan con los valores reportados por Rodríguez et al. (2009) en el estudio de evaluación física y química de filetes de bagre salados en salmuera, donde menciona que a menor concentración de cloruro de sodio se obtiene mayor contenido de humedad.

En grasa total, se obtuvo mayor valor a mayor concentración presentando un valor de 4,04% de grasa a 20% de cloruro de sodio con BAL, mientras que a 10% y 15% presentó 3,45% y 3,73%, respectivamente. Estos valores se encuentran dentro de los parámetros establecido por Valls (2007) que va de 0,2% a 25% de grasa, indicando un valor nutritivo aceptable del pescado.

En la variable cenizas, se presentó valores de 1,03 a 1,45%, siendo valores que se encuentran en el rango establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2001) que va de 1,02 a 1,5%. De acuerdo al estudio de Rodríguez et al. (2009), el incremento de cenizas se debe al aumento de cloruro de sodio en el músculo del pescado, ya que el compuesto inorgánico del NaCl se ve cuantificado en la determinación de cenizas. Esto coincide también con lo reportado por Martínez y Gómez (2006).

Con respecto a la proteína bruta, se obtuvo valores de 18,41% a

22,36%, estos resultados son superiores al rango de valor (16,5-18,4%) reportado por Contreras y Cardiles (2013), sin embargo, se encuentra dentro

112

del parámetro establecido por Valls (2007) que va de 15% a 27%, indicando los valores aceptables de proteína bruta en los filetes de pescado. Además, Perez (2013) menciona que la adición de NaCl activa y solubiliza las proteínas miofibrilares de la carne. Al disminuir la concentración de NaCl podrían afectar la solubilidad y funcionalidad de estas proteínas en el sistema cárnico de la tilapia, afectando su calidad.

Respecto a la interacción A*B (Especie de Tilapia + Concentración de cloruro de sodio con BAL)

La bioconservación de las carnes de pescado con bacterias ácido lácticas provenientes de la fermentación del mucilago de cacao en distintas concentraciones de cloruro de sodio presentó diferencias significativas entre las especies de tilapia y en las distintas concentraciones de cloruro de sodio, debido a que la carne de la especie *O. niloticus* se caracteriza por ser más ácida que la especie *O. mossambicus* (Mera, 2015).

Con respecto al pH, los tratamientos *O. mossambicus*+20% de NaCl+BAL y *O. mossambicus*+15% de NaCl+BAL, registraron valores mayores, con 6,43 en el día 0 a 6,37 en el día 10, y 6,45 en el día 0 a 6,37 en el día 10 de bioconservación, respectivamente. En cambio, las interacciones *O. niloticus*+10% de NaCl+BAL y *O. niloticus*+15% de NaCl+BAL obtuvieron pH menores de 6,3 en el día 0 a 5,98 en el día 10, y 6,33 en el día 0 a 6,07 en el día 10, respectivamente. Según Sulistiani y Handayani (2018), la disminución de pH tratados con las bacterias ácido lácticas en el transcurso de tiempo, se debe a la producción de ácido láctico de las BAL en la carne de

113

pescado, este ácido se disocia en el citoplasma celular, permitiendo la disminución de pH del citoplasma en la célula diana. Por consiguiente, se demuestra, mediante la gráfica de sedimentación (figura 13), que el pH es un componente principal que influye en la bioconservación del pescado.

En base a la acidez titulable, la interacción de *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL y *O. niloticus*+15% de NaCl+BAL obtuvieron mayor porcentaje de acidez con 0,26% en el día 0 a 0,40% en el día 10, y 0,24% en el día 0 a 0,39% en el día 10, respectivamente. En cambio, en las interacciones que involucran a la especie *O. mossambicus* presentaron el menor porcentaje de acidez, teniendo entre 0,26-0,21% en el día 0 a 0,3-0,36% en el día 10.

Según Parra (2010), el aumento de acidez se debe a la formación de ácido orgánicos, como el ácido láctico y el ácido acético por parte de las BAL. De igual forma, en el trabajo de Mera (2015), presentó resultados similares donde obtuvo 0,36% en la especie *O. niloticus* y 0,28% en la especie *O. mossambicus*.

En los resultados de humedad, se observaron un ligero incremento con el avance de los días de bioconservación. El tratamiento *O. mossambicus*+10% de NaCl+BAL presentó mayor humedad con 73,49% en el día 0 y 76,74% en el día 10, en comparación a los tratamientos de *O. niloticus*+15% de NaCl+BAL con 72,5% en el día 0 a 73,79% y *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL con 72,32% en el día 0 a 73,66% en el día 10. De igual forma, en el trabajo de Mera (2015) presentó resultados similares a los obtenidos de hasta 76,09% en la especie *O. mossambicus* y 74,20% en la especie *O. niloticus*.

En la variable de grasa total, el tratamiento *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL presentó el porcentaje más alto de grasa con 3,56 en el día 0 a 4,43% en el día 10 y el tratamiento *O. mossambicus*+10% de NaCl+BAL obtuvo el porcentaje menor de grasa con 2,57% en el día 0 a 2,83% en el día 10. Estos resultados son superiores a los valores obtenidos en el trabajo de Cesar (2015), sin embargo, se encuentran dentro de rango aceptable por Contreras y Cardiles (2013) donde evalúa la calidad de los filetes de tilapia. Con respecto a la ceniza, el tratamiento *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL presentó el porcentaje más alto con 1,2% en el día 0 a 1,51% en el día 10, y el tratamiento *O. mossambicus*+10% de NaCl+BAL obtuvo el porcentaje menor con 0,8% en el día 0 a 0,88% en el día 10. Estos resultados se encuentran dentro de rango aceptable por Cesar (2015) y Contreras et al. (2013).

En cuanto a la proteína, el tratamiento *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL presentó el porcentaje más alto con 17,94% en el día 0 a 23,93% en el día 10, y el tratamiento *O. mossambicus*+10% de NaCl+BAL obtuvo el porcentaje menor con 16,98% en el día 0 a 17,26% en el día 10 de bioconservación. Estos resultados se encuentran, de igual manera, dentro del rango aceptable en los trabajos de Cesar (2015) y Contreras, et al. (2013), por lo que se puede aumentar los días de conservación con las bacterias ácido lácticas (Talledo et al. 2020).

Calidad microbiológica

Con respecto al crecimiento de las bacterias aerobias, el tratamiento *O. mossambicus* + 10% de NaCl + BAL presentó mayor población bacteriana

(4,8E+07UFC/mL) en comparación al tratamiento *O. niloticus* + 20% de NaCl + BAL que obtuvo una población microbiana menor (3,1E+07UFC/mL), estos resultados son similares a los valores reportados por Mera (2015) donde obtuvo 4,6E+06 UFC/mL en la especie *O. mossambicus* y 3E+06 UFC/mL en la especie *O. niloticus*. Además, no se presenció población de mohos y levaduras. Esto indica que las bacterias de ácido láctico tienen una alta capacidad antifúngica (Rather et al. 2014). En cuanto a las enterobacterias, se observó un ligero crecimiento (1,5E+03UFC/mL) en la especie *O. mossambicus*. Estos resultados son similares a los reportados por Mera (2015) y Castillo et al. (2017), donde observaron mayor recuento de bacterias aerobias en la especie *O. mossambicus* y menor recuento en la especie *O. niloticus*, y ninguna presencia de mohos y levaduras. Los filetes frescos de tilapia contienen una gran diversidad de comunidad bacteriana, como *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* y *Vibrios*. Esto puede verse influida por varios factores, según Talledo et al. (2020), la población microbiana en los filetes de tilapia se debe al período estacional, a la manipulación antes de su conservación, es decir las prácticas pesqueras, condiciones de pesca, procesamiento y almacenamiento, debido que pueden favorecer el crecimiento de microorganismos de descomposición. De tal motivo Cao et al. (2015), indican que el uso de las BAL por su efecto inhibitorio contra estas bacterias no desadas, incluida *E. coli* y *Salmonella*. Con respecto a las bacterias de deterioro, como *Pseudomonas*, las bacterias lácticas solo puede tener una actividad antibacteriana muy limitada.

116

Capítulo VI

Conclusiones

Factor A (Especie de tilapia)

Con respecto a los resultados físico-químicos y bromatológicos de las carnes de tilapia, se concluye que en la especie *O. mossambicus* y *O. niloticus* presentaron valores acordes a lo establecido por la norma técnica ecuatoriana INEN 183.

Las carnes de tilapia conservadas con BAL y cloruro de sodio presentaron una disminución de pH al transcurrir el tiempo, tanto en la especie *O. niloticus* como en la especie *O. mossambicus*. En cuanto a los resultados de acidez, humedad, grasa, cenizas y proteína, presentaron un aumento en las dos especies de tilapia, desde el día 0 al día 10 de bioconservación.

117

En la especie *O. mossambicus* presentó valores mayores de pH, humedad y crecimiento de bacterias aerobias. Mientras que en la especie *O. niloticus* presentó valores mayores de acidez, grasa, cenizas y proteína.

Por lo tanto, teniendo en consideración que entre las especies de tilapia donde se encontraron diferencias significativas en las variables analizadas, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el uso de las BAL si influyen en la bioconservación de las carnes de tilapia.

Factor B (Concentración de cloruro de sodio con BAL)

En base a los resultados físico-químico y bromatológicos, se concluye que se presentó diferencias significativas en las distintas concentraciones de cloruro de sodio con BAL, presentando una disminución en el pH y un aumento en la acidez, humedad, cenizas, grasa, proteína y la población bacteriana en el transcurso del tiempo.

La bioconservación a 20 y 15% de cloruro de sodio presentaron valores más alto en pH, acidez, grasa, cenizas y proteína, a comparación al 10% de cloruro de sodio con BAL. Sin embargo, la concentración que presentó mayor valor de humedad fue el de 10% de cloruro de sodio.

La bioconservación a 20% influye menos en el pH y humedad, mientras que a 10% influye menos en la acidez, cenizas y proteína en las carnes de tilapia en el proceso de bioconservación.

118

Con respecto al conteo de microorganismos, las concentraciones 15 y 20% de cloruro de sodio no presentaron población de enterobacterias a comparación de la concentración 10%. Mientras que a 10% de cloruro de sodio presentó mayor población bacteriana.

Por lo tanto, considerando los datos obtenidos se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que la aplicación de las bacterias ácido lácticas con distintas concentraciones de cloruro de sodio influye en la bioconservación de la carne de tilapia.

Interacción A*B (Especie de tilapia + Concentración de NaCl con BAL)

Considerando los datos obtenidos de las variables analizadas, se concluye los tratamientos *O. niloticus*+20% de NaCl+BAL y *O. niloticus*+15% de NaCl+BAL presentaron resultados mayores en cuanto a la acidez, grasa, cenizas y proteína. Mientras que el tratamiento *O. mossambicus*+20% de NaCl+BAL obtuvo resultados mayores en cuanto al pH y el tratamiento *O.*

mossambicus+10% de NaCl+BAL en humedad y crecimiento bacteriano. El tratamiento O. niloticus+10% de NaCl+BAL presentó resultados menores de pH, mientras que el tratamiento O. mossambicus+10% de NaCl+BAL presentó resultados menores en la acidez, grasa, cenizas y proteína, y los tratamientos O. niloticus+15% de NaCl+BAL y O.

119

niloticus+20% de NaCl+BAL en la humedad, al día 10 de finalizar la bioconservación.

Con respecto al conteo de microorganismos, el tratamiento O. mossambicus+10% de NaCl+BAL presentó mayor población de bacterias aerobias. Mientras que en los tratamientos O. mossambicus+10% de NaCl+BAL y O. niloticus+10% de NaCl+BAL presentaron una pequeña población de Enterobacterias, a diferencia de los demás tratamientos que no hubo presencia de las mismas.

Recomendaciones

Con respecto a la utilización de las especies de tilapia, en relación al contenido de pH, acidez, humedad, proteína bruta, y UFC aerobios y de Enterobacterias, se recomienda el empleo de la especie O. niloticus. En cuanto al contenido de grasa total y cenizas se recomienda utilizar la especie O. mossambicus.

En referente a las concentraciones de cloruro de sodio con BAL, en relación al contenido del pH y humedad, se recomienda emplear la mayor concentración (20%), debido que no hay mucha influencia en sus valores. En

120

cuanto al acidez, cenizas y proteína se recomienda la utilización de la concentración del 10% de NaCl. En cuanto al contenido de grasa total se recomienda el empleo de las tres concentraciones de (10, 15 o 20%) de NaCl. Mientras que la inhibición de UFC de enterobacterias se recomienda el empleo de la concentración de 15 y 20% de NaCl con BAL.

A partir de los resultados, se recomienda a futuras investigaciones en alimentos la bioconservación con las bacterias ácido lácticas en las carnes de tilapia con cloruro de sodio, debido a que los valores obtenidos se encuentran entre los parámetros de calidad del pescado, al igual que el crecimiento de patógenos microbianos. También de aumentar el tiempo de bioconservación para estimar la vida útil del pescado en base a los parámetros de calidad del pescado.

Capítulo VII

Bibliografía

Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn, M., & Varzakas, T. (2020). *Lactic acid bacteria as antibacterial agents to extend the shelf life of fresh and minimally processed fruits and vegetables: Quality and safety aspects. Microorganisms, 8(6), 1–23.*
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>.

121

Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., & Kuipers, O. P. (2016). *Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. Applied Microbiology and Biotechnology, 100(7), 2939–2951.*

<https://doi.org/10.1007/s00253-016-7343-9>

Aprotosoia, A., Luca, S., & Miron, A. (2016). *Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products—An Overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>.

Asap. (2015). *Asap Laboratorio*: <http://www.asaplaboratorio.com>.

Barcenilla, C., Ducic, M., López, M., Prieto, M., & Álvarez, A. (2022).

Application of lactic acid bacteria for the biopreservation of meat products: A systematic review. Meat Science, 183, 108661.

doi:10.1016/j.meatsci.2021.108661.

Batista, L. (2009). *El cultivo de cacao. Santo Domingo.: Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal.*

Bhattacharjee, R., & Akoroda, M. (2018). *Taxonomy and classification of cacao. In Achieving sustainable cultivation of cacao., (Issue August, pp. 3–18). Burleigh Dodds Science Publishing.*

<https://doi.org/10.19103/as.2017.0021.01>.

Bordons, A., Bautista-Gallego, J., Portillo, M. C., & Mas, A. (2018). *Nuevas tendencias en microbiología de alimentos: XXI Congreso Nacional de Microbiología de Alimentos (SEM). Tarragona: Publicacions Universitat Rovira i Virgili.*

122

Cao, R., Liu, Q., Chen, S., Yang, X., & Li, L. (2015). *Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in freshness keeping of tilapia fillets as sashimi. Journal of Ocean University of China*, 14(4), 675–680. doi:10.1007/s11802-015-2682-1.

Capelo, J. (2021). *Análisis de producción y económico de camarón Penaeus vannamei y Tilapia Oreochromis spp. en Ecuador, 2009-2018. Santa Elena, Ecuador: Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena.*

Castillo, A., Montalvo, C., Ramirez, C., & Bolívar, G. (2017). *Control Microbiological Deterioration of Tilapia Fillets by the Application of Lactic Acid Bacteria. ORINOQUIA*, vol. 21, núm. 2, pp. 30-37.

Cerri, M., Reale, L., & Zadra, C. (2019). *Metabolite Storage in Theobroma cacao L. Seed: Cyto-Histological and Phytochemical Analyses. Frontiers in Plant Science*, 10, (1–11). Obtenido de

<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01599>.

Cervantes, J., Orihuela, R., & Rutiaga, J. (2017). *Acerca del Desarrollo y Control de Microorganismos en la Fabricación de Papel. Conciencia Tecnológica*, 54, 54–58.

<https://www.redalyc.org/jatsRepo/944/94454631001/html/index.html>.

Contreras, O., & Cardiles, C. (2013). *EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE FILETES DE TILAPIA (Oreochromis niloticus) MARINADOS EN FRÍO (4oC). UNIVERSIDAD DE CARTAGENA. CARTAGENA DE INDIAS.*

123

Corpei. (2001). *Tilapia: Perfil del Producto. CBI Proyect.*

Cortés, A., Díaz, M., & Salgado, M. (2018). *Bioconservación, Alimentos y Pescado. Agro Productividad*, 11(11), 11–16.

<https://doi.org/10.32854/agrop.v11i11.1276>.

CPE INEN-CODEX CAC/GL 31. (2013). *Directrices del Codex para la Evaluación sensorial del pescado y los mariscos en laboratorio (CAC/GI 31- 1999, Idt). Quito,*

Ecuador.

https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/cpe_inen_codex_cac_gl_31.pdf

De Vuyst L., & Leroy F. (2020). Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes. *FEMS Microbiol Rev*, 44(4):432-453. doi: 10.1093/femsre/fuaa014. PMID: 32420601.

De Vuyst, L., & Weckx, S. (2016). The cocoa bean fermentation process: from ecosystem analysis to starter culture development. *Journal of Applied Microbiology*, 121(1), 5–17. <https://doi.org/10.1111/jam.13045>.

Del Águila Flores, D., & Zegarra Jumanga, D. A. (2016). Extracción de pectina por hidrólisis ácida y precipitación alcohólica a partir de las cáscaras de cacao híbrido CCN51 (*Theobroma cacao* L.) para la fabricación de un prototipo de empaque alimentario. Pucallpa, Peru.: Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia.

124

Dhundale, V., Hemke, V., Desai, D., & Dhundale, P. (2018). Evaluation and Exploration of Lactic Acid Bacteria for Preservation and Extending the Shelf Life of Fruit. *International Journal of Fruit Science*, 18(4), 355–368. <https://doi.org/10.1080/15538362>.

Dostert N, Roque J, Cano A, La Torre M, & Weigend M. (2017). Hoja botánica: Cacao. Lima., Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.: Report No.: 1ed.

FAO. (27 de Septiembre de 2001). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. www.fao.org:

<http://www.fao.org/fishery/topic/12253/es>.

Gonzalez, G., Serna, A. M., Córdoba, D., Marín, J. G., Montalvo, C., & Ordoñez, G. (2019). Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma Cacao* L.) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 41–51.

<http://revistas.sena.edu.co/index.php/recia/article/view/1635/2523>.

Guerra, N., Macías, C., Agrasar, A., & Castro, L. (2005). Development of a bioactive packaging cellophane using NisaplínR as biopreservative agent. *Letters in Applied Microbiology*, 40(2), 106–110.

<https://doi.org/10.1111/j.1472-765x.2004.01649.x>

Ho, V. T., Zhao, J., & Fleet, G. (2015). The effect of lactic acid bacteria on cocoa bean fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 205, 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.031>.

125

Huang, C. H., Li, S. W., Huang, L., & Watanabe, K. (2018). Identification and classification for the *Lactobacillus casei* group. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01974>.

Idris, A. B., Hassan, H. G., Salaheldin Ali, M., Eltaher, S. M., Idris, L. B., Altayb, H. N., Abass, A. M., Ibrahim, M., Ibrahim, E. A., & Hassan, M. (2020).

Molecular Phylogenetic Analysis of 16S rRNA Sequences Identified Two Lineages of *Helicobacter pylori* Strains Detected from Different Regions in Sudan Suggestive of Differential Evolution. *International Journal of Microbiology*, <https://doi.org/10.1155/2020/8825718>.

Jácome, J., Quezada Abad, C., Sánchez Romero, O., Pérez, J. E., & Nirchio, M. (2019). Tilapia en Ecuador: paradoja entre la producción acuícola y la protección de la biodiversidad ecuatoriana. *Revista peruana de*

biología, 26(4), 543-550.

Kim, S. W., Kang, S. I., Shin, D. H., Oh, S. Y., Lee, C. W., Yang, Y., & Bang, Y. (2020). Potential of Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus plantarum* NIBR97, Including Novel Bacteriocins, as a Natural Alternative to Chemical Disinfectants. *Productos farmacéuticos*, 13(10), 266.

Obtenido de <https://doi.org/10.3390/ph13100266>.

Lawalata, H., Rengkuan, M., & Satiman, U. (2020). Identification by 16S Ribosomal RNA Gene Sequencing of Lactic Acid Bacteria Producing Antibacterial Agents from Langsat Fruit (*Lansium domesticum*) in North Minahasa District, North Sulawesi. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 5, 1-4.

<https://www.longdom.org/open-access/identification-by-16s-ribosomal->

126

[rna-gene-sequencing-of-lactic-acid-bacteria-producing-antibacterial-agents-from-langsat-fruit-lans-60442.html](https://www.longdom.org/open-access/rna-gene-sequencing-of-lactic-acid-bacteria-producing-antibacterial-agents-from-langsat-fruit-lans-60442.html).

Linares, J. R., Gutiérrez, N., Rivera, B. E., Pérez, S. B., & Nevárez, G. V. (2018). Biocontrol Processes in Fruits and Fresh Produce, the Use of Lactic Acid Bacteria as a Sustainable Option. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2(August). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00050>.

Londoño, A., Taborda, T., López, A., & Acosta, V. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Alimentos hoy*, 23(36), 186-205.

Lopez, J. (2021). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de papaya (*Carica papaya*) y naranjilla (*Solanum quitoense*). Santo Domingo, Ecuador: Tesis.

López, M., Criollo, J., Hernández, M., & Lozano, M. (2019). Physicochemical and microbiological dynamics of the fermentation of the CCN51 cocoa material in three maturity stages. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(3), 13. <https://doi.org/10.1590/0100-29452019010>.

Martínez, O., & Gómez, G. (2006). Effect of brine salting at different pHs on the functional properties of cod muscle proteins after subsequent dry salting. *Fd. Chem.*, 94:123-129.

Mera, C. (2015). Efecto del aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare* L.) como agente antimicrobiano en la conservación de la carne de dos especies de tilapia: negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja

127

(*Oreochromis niloticus*). Quevedo, Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

NTE INEN 0777:85. (1985). Carne y productos cárnicos. Determinación de la pérdida por calentamiento. Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/777.pdf>

NTE INEN 0786:85. (1985). Carne y productos cárnicos. Determinación de cenizas. Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/786.pdf>

NTE INEN 1529-5. (2006). Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. Norma Técnica Ecuatoriana.

<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-5.pdf>.

NTE INEN 183. (2013). Requisitos para pescado fresco, refrigerado y congelado. Determinación del pH. Norma Técnica Ecuatoriana.

<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/183.pdf>.

NTE INEN 381. (1985). Determinación de acidez titulable en conservas vegetales y juegos de frutas. Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/381.pdf>.
NTE INEN 389. (1985). Conservas vegetales. Determinación de ion hidrogeno (pH). Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/389.pdf>.

128

NTE INEN 778. (1985). Determinación de la grasa total. Carnes y productos cárnicos. Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/778.pdf>.
NTE INEN 781. (1985). Determinación de Nitrógeno. Norma Técnica Ecuatoriana. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/781.pdf>.
Otárola, A. (2018). Efecto de la enzima pectolítica y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y calidad de cacao var. criollo (*Theobroma cacao*). Universidad Nacional Federico Villarreal. http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/2412/OTAROLA_GAMARRA_ANTONIO.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
Parra, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos (Review). *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 8(1), 93-105.
Perea, A., Gómez, E., Mayorga, Y., & Triana, Y. (2015). Caracterización nutricional del pescado. http://alanrevista.org/ediciones/2008-1/caracterizacion_nutricional_pescados.asp.
Perez, M. (2013). *Meat Technology*. Edith Ponce Alquicira. Metropolitan Autonomous University, Mexico.
Ramirez, J., Rosas, P., Velasquez, M., Ulloa, J., & Arce, F. (2011). Bacterias Lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud.

129

ARAMARA, ISSN: 2007-0713. URI: <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/436>.
Rather, I. A., Seo, B. J., Kumar, V. J., Choi, U. H., Choi, K. H., Lim, J., & Park, Y. H. (2014). Biopreservative potential of *Lactobacillus plantarum* YML007 and efficacy as a replacement for chemical preservatives in animal feed. *Food Science and Biotechnology*, 23(1), 195-200.
Rodríguez, D., Barrero, M., & Kodaira, M. (2009). Evaluación física y química de filetes de bagre (*Pseudoplatystoma* sp.) salados en salmuera empacados al vacío y almacenados en refrigeración. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(2), 206-213. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222009000200014&lng=es&tlng=es.
Rushing, J. (2010). *Formulating Dressings, Sauces and Marinades*. Obtenido de https://fbns.ncsu.edu//extension_program/documents/acidified_formula_ting_dressings.pdf
Russo, P., Valeria, M., Vernile, A., Amodio, M., Arena, M., Capozzi, V., Salvatore M., & Spano, G. (2014). Fresh-Cut Pineapple as a New Carrier of Probiotic Acid Lactic Bacteria. *BioMed Research International*, Pp 9. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/309183>.
Salazar, L. (2017). Aislamiento y caracterización de microorganismos durante el proceso de fermentación de *Theobroma Cacao* L. de la variedad

130

Salazar, S., Uribe, E., Aguilar, C., & Klotz, B. (2011). Bioconservación de pescado fresco empacado al vacío mediante la utilización de extractos antimicrobianos de bacterias ácido lácticas. *Alimentos Hoy*, 20(24), 8-22.

Sánchez, D., Rodríguez, W., Castro, D., & Trujillo, E. (2019). Ciencia en Desarrollo. Respuesta agronómica de mucilago de cacao (*Theobroma cacao* L.) en cultivo de maíz (*Zea mays* L.), 10(2), 43-58. <https://doi.org/10.19053/01217488.v10.n2.2019.7958>.

Silva, A., Rocha, P., Fonseca, F., Costa, C., dos Santos, J., & Carvalho, N. (2017). Alterações microbianas dos produtos de pescados curados. *Revisão PUBVET*, 11, 646 -743.

Suárez, H., Pardo, S., & Cortés, M. (2008). Calidad físico-química y atributos sensoriales de filetes de sajados biopreservados de cachama, empacados al vacío bajo refrigeración. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 330-339.

Sulistiani, & Handayani, R. (2018). AIP Conference Proceedings [Author(s) INVENTING PROSPEROUS FUTURE THROUGH BIOLOGICAL RESEARCH AND TROPICAL BIODIVERSITY MANAGEMENT: Proceedings of the 5th International Conference on Biological Science - Yogyakarta, Indonesia (2017)]. Application biopreservatives produced by lactic acid bacteria (LAB) for preservation boiled-salted (pindang) tuna (*Euthynnus affinis* Cantor, 1849), doi:10.1063/1.5050156.

Talledo, V., Chavarría, L., Zambrano, S., & Cuenca, G. (2020). Effect of the use of lactic acid bacteria on the inhibition of microbiological

131

deterioration of red tilapia fillets (*Oreochromis* sp.). *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*, Vol. 5, Núm. E-ISSN: 2528-8083. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4434700>.

Torres, A., Ocampo, D., Rodríguez, W., Velasco, R., Chang, F., & Cedeño, C. (2016). Utilización del mucilago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. *Revista ESPAMCIENCIA*, 7(1), 51-58. ISSN 1390-8103.

Vallejo, C., Díaz, R., Morales, W., Soria, R., Baren, C., & Vera, J. (2016). Utilización del mucilago de cacao, tipo Nacional y Trinitario, en la obtención de jalea. *Revista ESPAM CIENCIA*, 7(1), 51-58. <http://investigacion.espam.edu.ec/index.php/Revista/article/view/204>.

Valls, J. (2007). Métodos Físicos y Químicos para la Evaluación de la Calidad y Frescura de los Recursos y Productos Marinos. Sección Tecnología de Productos Pesqueros, https://www.researchgate.net/publication/307634229_Metodos_Fisicos_y_Quimicos_para_la_Evaluacion_de_la_Calidad_y_Frescura_de_los_Recursos_y_Productos_Marinos.

Vásquez, S., Suárez, H., & Zapata, S. (2009). UTILIZACIÓN DE SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE. *Revista chilena de nutrición*, 36(1), 64-71. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182009000100007>.

Vieco, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., & Drider, D. (2019). Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during

food-animal production. *Frontiers in Microbiology*, (10)1–17.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00057>.

Wang, M., & Lu, M. (2016). *Tilapia polyculture: a global review. Aquaculture research*, 47(8), 2363-2374.

Yugcha, V. & Largo, S. (2016). *Elaboración de Néctar Natural de Cacao a Partir del Mucílago. Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica Del Litoral.*