



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: AGROINDUSTRIAS

INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EFFECTO BIOCIDA DE LAS CONCENTRACIONES DEL
EXTRACTO DE *Phaeophyta padina* EN CARNE DE RES PARA
HAMBURGUESA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE
CONSERVACIÓN**

AUTORA:

MARÍA LORENA MONTESDEOCA RIVERA

TUTOR:

ING. EDMUNDO MARCELO MATUTE ZEAS Mg. A.

CALCETA, FEBRERO 2021

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo MARÍA LORENA MONTESDEOCA RIVERA, con cédula de ciudadanía 1315579621, declaro bajo juramento que el trabajo de titulación, titulado **EFFECTO BIOCIDA DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE *Phaeophyta padina* EN CARNE DE RES PARA HAMBURGUESA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CONSERVACIÓN** es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

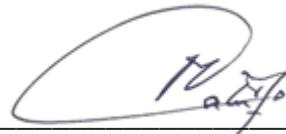
A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación. Particular que comunico para los fines académicos pertinentes.



MARÍA L. MONTESDEOCA RIVERA

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

ING. EDMUNDO M. MATUTE ZEAS Mg. certifica haber tutelado el trabajo de titulación **EFFECTO BIOCIDA DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE *Phaeophyta padina* EN CARNE DE RES PARA HAMBURGUESA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CONSERVACIÓN** que ha sido desarrollada por **MARÍA LORENA MONTESDEOCA RIVERA**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.



ING. EDMUNDO M. MATUTE ZEAS Mg.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos aprobado el trabajo de titulación **EFEECTO BIOCIDA DE LAS CONCENTRACIONES DEL EXTRACTO DE *Phaeophyta padina* EN CARNE DE RES PARA HAMBURGUESA A DIFERENTES TEMPERATURAS DE CONSERVACIÓN**, que ha sido propuesto, desarrollado por **MARÍA LORENA MONTESDEOCA RIVERA**, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. FRANCISCO DEMERA
LUCAS, Mg
MIEMBRO

ING. RICARDO MONTESDEOCA
PÁRRAGA, Mg.
MIEMBRO

BLGO. JHONNY NAVARRETE
ALAVA., Mg.
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres por ser el apoyo fundamental durante estos cinco años de estudios, a todos los docentes que han sido orientadores en mi formación como profesional, porque gracias a sus enseñanzas he enriquecido mis conocimientos.

A la Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad profesionales para mi progreso como ingeniera agroindustrial.

A los técnicos del laboratorio de bromatología y microbiología del área agroindustrial por ser guías que siempre estuvieron prestos a ayudarme en cualquier momento o circunstancia.

A mi tutor el Ing. Edmundo Marcelo Matute Zea por haber aportado con sus conocimientos para que este trabajo sea posible su ejecución, a la Ing. Paola Zambrano quien contribuyó con sus conocimientos en la redacción de este proyecto.

MARÍA L. MONTESDEOCA RIVERA

DEDICATORIA

Mi trabajo de titulación va dedicado con mucho cariño, amor al ser que complementa mis días, a mi madre, por todo el apoyo brindado, por sus consejos, palabras de aliento que me animaban a seguir luchando por este sueño, a mi padre quien fue un pilar fundamental en todo este tiempo de estudio, ya que me enseñó que no todo se consigue fácil hay que perseverar para conseguir lo que queremos lograr.

A mis hermanos que con sus palabras me hicieron ser más fuerte y no darme por vencida muy fácil; a mi hermana de corazón María Fernanda Mero Rivera. A mis tíos Paul Tutiven y Betty Rivera quienes me ayudaron en mi formación personal y profesional que hicieron posible la culminación de esta etapa estudiantil.

MARÍA L. MONTESDEOCA RIVERA

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL	vii
CONTENIDO DE CUADROS	x
CONTENIDO DE GRÁFICOS.....	x
CONTENIDO DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
PALABRAS CLAVE	xi
ABSTRACT	xii
KEYS WORDS	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	4
1.3.1.OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. CARNE Y COMPOSICIÓN	5
2.2. CALIDAD DE LA CARNE	5
2.3. CARNE DE RES	5
2.3.1.PRINCIPALES CAUSAS DE ALTERACIONES DE LOS FILETES DE RES.....	6

2.4.	MICROBIOLOGÍA DE LA CARNE Y SEGURIDAD	6
2.4.1.	SEGURIDAD DE LA CARNE.....	6
2.4.2.	AEROBIOS MESÓFILOS	7
2.4.3.	E. coli.....	7
2.5.	REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA CARNE	7
2.6.	BIOCIDA	8
2.7.	FACTORES QUE GENERAN EL CRECIMIENTO BACTERIANO	8
2.7.1.	TEMPERATURA	8
2.7.2.	pH.....	9
2.7.3.	ACTIVIDAD DEL AGUA	9
2.8.	ALGAS MARINAS.....	9
2.8.1.	MACROALGAS	10
2.8.2.	PADINA PAVONICA.....	11
2.8.3.	COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	12
2.8.4.	TAXONOMÍA	12
2.8.5.	FUNCIÓN DEL ALGA.....	12
2.9.	EXTRACTO DE ALGAS.....	12
2.9.1.	EXTRACCIÓN CON SOLVENTES	13
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....		14
3.1.	UBICACIÓN	14
3.2.	DURACIÓN.....	15
3.3.	MÉTODOS, TÉCNICAS	15
3.3.1.	MÉTODOS	15
3.3.2.	TÉCNICAS PARA LA ELABORACIÓN DEL EXTRACTO.....	15
3.4.	FACTORES EN ESTUDIO.....	16
3.5.	TRATAMIENTOS.....	16
3.6.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	16
3.8. VARIABLES A MEDIR	17
3.8.1.VARIABLE INDEPENDIENTE	17
3.8.2.VARIABLE DEPENDIENTE.....	17
3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	17
3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO	18
3.10.1. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ALGA (<i>Phaeophyta padina</i>) LIOFILIZADA	18
3.10.2. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO DE ALGA (<i>Phaeophyta padina</i>)	20
3.10.3. DIAGRAMA DEL PROCESO DE APLICACIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO EN LA CARNE DE RES MOLIDA PARA HAMBURGUESA	22
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ALGA PARDA EN LABORATORIO 26	
4.2. PORCENTAJE ÓPTIMO DE EXTRACTO PROTEICO DE ALGA (<i>Phaeophyta padina</i>)	26
4.3. TEMPERATURA ÓPTIMA DE CONSERVACIÓN	27
4.4. CAMBIOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS	28
4.4.1.VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS	28
4.4.2.VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	30
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	33
5.1. CONCLUSIONES	33
5.2. RECOMENDACIONES	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35
ANEXOS.....	42

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 2.1. Requisitos para carne y menudencias comestibles de animales de abasto.....	7
Cuadro 3.1. Factores de estudio.....	16
Cuadro 3.2. Número de tratamientos	16
Cuadro 3.3. Esquema del ANOVA	16
Cuadro 3.4. Unidad experimental.....	17
Cuadro 4.1. Pruebas de los efectos inter-sujetos para la variable pH.....	28
Cuadro 4.2. Medias para los bloques.....	28
Cuadro 4.3. Pruebas de los efectos inter-sujetos para la variable humedad.....	29
Cuadro 4.4. Resultados de análisis físico-químicos y microbiológicos	31
Cuadro 4.5. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos crudos	32

CONTENIDO DE GRÁFICOS

Gráfico 4.1. Prueba de Kruskal-wallis de muestras independientes para los bloques con respecto al pH.....	28
Gráfico 4.2. Prueba de Kruskal-wallis de muestras independientes para los bloques con respecto a la acidez.....	29
Gráfico 4.3. Prueba de kruskal-wallis de muestras independientes.....	32

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 3.1. Diagrama de proceso para la obtención del alga liofilizada	18
Figura 3.2. Diagrama de proceso para la obtención del extracto.....	20
Figura 3.3. Diagrama de aplicación del extracto proteico	22

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, tuvo como objetivo establecer el efecto biocida del extracto de alga parda (*Phaeophyta padina*), en diferentes concentraciones aplicadas en la carne de res para hamburguesa, se empleó un diseño completamente al azar por bloque (A x bloque), se evaluaron las variables microbiológicas (*Aerobios mesófilos*, *E. coli*) y fisicoquímicas (pH, acidez, humedad). En la variable microbiológica, se analizaron los datos obtenidos, mediante prueba no paramétrica, con el test estadístico de kruskal-Wallis de muestras independientes; mientras que, las variables fisicoquímicas presentaron como resultado, inestabilidad en el pH en las muestras inoculadas con las dosis de extracto proteico T₁ (0%), T₂ (0.5%), T₃ (1.0%) y T₄ (1.5%) a 6°C, a su vez, los tratamientos mantenidos a temperatura de 4 °C, demostraron la disminución en el crecimiento microbiológico para los *Aerobios mesófilos*, indicando que la mejor temperatura de refrigeración óptima es la de 4°C.

PALABRAS CLAVE

Biocida; algas marinas, bacteriostático, algas pardas, microorganismos, bromatológicos, microbiológico.

ABSTRACT

The present research work aimed to establish the biocidal effect of the extract of brown algae (*Phaeophyta padina*), in different concentrations applied to hamburger beef, a completely randomized design per block (A x block) was used, the microbiological variables (mesophilic aerobes, *E. coli*) and physicochemical variables (pH, acidity, humidity) was evaluated. In the microbiological variable, the data obtained was analyzed, by means of a non-parametric test, with the kruskal-Wallis statistical test of independent samples; while, the physicochemical variables presented as a result, instability in the pH in the samples inoculated with the doses of protein extract T1 (0%), T2 (0.5%), T3 (1.0%) and T4 (1.5%) at 6 ° C, in turn, the treatments maintained at a temperature of 4 ° C, demonstrated the decrease in microbiological growth for mesophilic aerobes, indicating that the best optimal refrigeration temperature is 4 ° C.

KEYS WORDS

Biocide, seaweed, bacteriostatic, Brown algae, microorganisms, Bromatological, microbiological

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El estado mundial de la agricultura y la alimentación evolucionan cada año, gracias a los avances que se han producido en la agricultura se ha incrementado considerablemente la producción de alimentos, se ha reforzado la seguridad alimentaria mundial y se han respaldado las transformaciones estructurales que han traído prosperidad a gran parte de la población mundial FAO (2017).

La producción de alimentos es esencial en la economía, por lo cual es importante que los productos destinados al consumidor cumplan con los parámetros necesarios para el expendio al público asegurando así la inocuidad alimentaria por medio de la aplicación de normas que garantiza la seguridad alimentaria, sin embargo dentro de su proceso de producción existen algunas limitantes en cuanto a cómo se maneja la cadena productiva de la obtención de la materia prima, haciendo énfasis en la inocuidad alimentaria, se destacan en este sentido productos lácteos, cárnicos; derivados de frutas entre otros, donde algunos de ellos como la carne son muy susceptibles al ataque de los microorganismos, esto se debe a que es un producto rico en proteínas, aminoácidos y otros elementos más que nada en su estado previo a la recepción.

Por consiguiente, es importante garantizar el bienestar de los animales destinados al consumo humano durante las operaciones de matanza. (Bavera, 2000 citado por Ríos & Acosta, 2008) exponen que, para obtener una mejor calidad de la carne de res, es necesario tener un control de buenas prácticas durante el proceso de sacrificio.

El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (2013) establece que el sistema comercialización de carne bovina en el Ecuador, inicia con el productor ganadero, el cual vende a los minoristas y mayoristas sus reses, éste a su vez las lleva a los centros de faenamiento autorizados, a partir de ahí se expenden la carne y derivados a través de supermercados, tiendas, tercenas, abarroterías o mercados municipales. A su vez Delgado y Cedeño (2013) indican que el traslado de la carne a los diferentes puntos de venta, no se lo realiza en los

medios adecuados y con higiene necesaria, lo que influiría en el deterioro de la calidad bromatológica y organoléptica de la carne.

En las grandes cadenas de supermercados en base a un estudio de observación se ha logrado identificar que las temperaturas en las perchas varían de 7 y 8°C valores que contrastan a lo que establece las normas para productos cárnicos en este tipo de sistemas de almacenamiento y expendio. El INEN 1338 (2012) Indica que la temperatura adecuada de un sistema de refrigeración debe estar entre 0 y 4°C para la carne y derivados.

Por otro lado, existen productos cárnicos que se conservan utilizando sustancias de curado y conservación, en este sentido las de mayor utilización son aquellos de origen orgánicos como los ácidos orgánicos y sus sales; los cloruros destacándose en este último la común o cloruro de sodio; los nitratos y nitritos entre otros (Honikel, 2008). En la mayoría de los países el uso de nitrito y nitrato se lo utiliza para curar productos cárnicos que generalmente se agrega como sales de potasio y sodio, cabe destacar que estos inhiben el crecimiento de algunos microorganismos patógenos especialmente del genero clostridium pero a la vez son sustancias que por encima del IDA ingesta diaria admisible son perjudiciales para la salud.

En este sentido la población actual está ávida de consumir productos que no contengan demasiadas sustancias químicas como los ya detallados, esto ha llevado a un creciente interés por estudiar a otras fuentes de conservación. Como consecuencia de una creciente demanda en la selección de productos naturales, hay mayor interés por los organismos marinos. Las algas marinas proporcionan una fuente rica de metabolitos secundarios, diversos autores tales como Harder *et al.*, (2003) citado por Santhanam *et al.*, (2008) demostraron los potenciales antimicrobianos y bacteriostáticos de las algas marinas que en muchas especies de algas tienen efecto bacteriostáticos, además indican que los agentes que se encuentran en las algas incluyen a los aminoácidos, terpenoides, florotaninas, ácido acrílico, compuestos fenólicos, esteroides, halogenados, cetonas y alcanos, polisulfuros cíclicos y ácidos grasos. Si bien es cierto, ha sido demostrado el efecto bacteriostático y los principales metabolitos presentes en algunas de ellas, existe aún una gran diversidad de algas por

estudiar como es el caso de la *Phaeophyta padina* de tipo parda, misma que existe en gran cantidad en el océano pacífico que circunda a la costa ecuatoriana entre ellas en el cantón Ballenita, y más que nada su efecto antimicrobiano en diversos tipos de alimentos como la carne, por lo cual con estos antecedentes se plantea la siguiente interrogante.

¿Se logrará ampliar la vida útil de la carne de res, mediante la aplicación de extracto de algas pardas (*Phaeophyta padina*) a diferentes temperaturas de conservación?

1.2. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación tiene como propósito la conservación de las carnes de res que están expuestas comercialmente a nivel de supermercados. Además de conservar beneficiará a las poblaciones considerando que el alga parda *Phaeophyta padina* existe en nuestro medio. Del mismo modo cabe destacar que cumple con efecto bacteriostático e inhibidor frente a conservantes como lo son los nitratos y nitritos y microorganismos. Según la norma INEN 1336 (2010) la ingesta diaria admisible (IDA) de conservantes es de 125 mg/kg. Sin embargo, se ha incrementado la búsqueda de compuestos bioactivos que actúen contra estos que garanticen el consumo de alimentos inocuos que disminuyan las afectaciones que se puedan presentar en la salud por causa de alimentos contaminados.

La aplicación del extracto bioactivo beneficiará a los mercados comerciales, para alargar la vida útil del producto cárnico y fomentar una alimentación saludable para los consumidores de alimentos, tomando en cuenta que en los últimos años se está incrementando el estudio de las algas marinas de interés alimentario.

Sin embargo dentro del mundo acuícola hay una cantidad de especies que están en proceso de estudio como lo es el caso de las algas *Phaeophyta Padina* con fines de aprovechamiento productivo, social, ambiental, legal y económico dado que las algas las encontramos a disposición para la investigación.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto biocida de las concentraciones del extracto de alga Parda *Phaeophyta padina* a diferentes temperaturas de conservación en la carne de res para hamburguesa.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar el método y técnica para la obtención del extracto de alga Parda en laboratorio.
- Establecer el óptimo porcentaje de extracto en el control biogénico de la carne de res para hamburguesa.
- Determinar la temperatura óptima de conservación en el control biogénico de la carne de res para hamburguesa.
- Identificar cambios físicos-químicos y microbiológicos de la carne conservada con extracto biogénico de algas pardas.

1.4. HIPÓTESIS

Al menos uno de los porcentajes de extracto de alga Parda (*Phaeophyta padina*) inhibirá el crecimiento de microorganismos *Aerobios mesófilos* y *E. coli* como medio de conservación en la carne de res para hamburguesas.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CARNE Y COMPOSICIÓN

Es el producto pecuario de mayor valor. Posee proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Desde el punto de vista nutricional, la importancia de la carne deriva de sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada disponibilidad (FAO, 2016).

La carne es el tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor), comestible, sano y limpio de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano (INEN 1529, 2006).

2.2. CALIDAD DE LA CARNE

FAO, (2014) la calidad de la carne se define generalmente en función de su calidad composicional (coeficiente magro-graso) y de factores de palatabilidad tales como su aspecto, olor, firmeza, jugosidad, ternura y sabor. La calidad nutritiva de la carne es objetiva, mientras que la calidad “como producto comestible”, tal y como es percibida por el consumidor, es altamente subjetiva, la calidad de la carne de res se ve afectada a partir del deterioro en su comercialización.

Las carnes frescas está influenciada por factores extrínsecos como la exhibición minorista, tiempo, temperatura, exposición a la luz y tipo de empaque. (Ahn et al., citado por Holtcamp *et al.*, 2018).

2.3. CARNE DE RES

Se considera como un alimento altamente proteico, ya que el 95% del contenido total de nitrógeno es proteína y el 5% restante lo constituyen pequeños péptidos, aminoácidos y otros compuestos (Vásquez, 2007).

La composición química de la carne magra es relativamente constante en una amplia diversidad de animales. Las variaciones más importantes se presentan

en el contenido de lípidos lo que se refleja en los distintos grados de veteado. Debido a su alto contenido de agua y de su valor de actividad de agua, la carne se clasifica entre los alimentos de alta humedad y fácilmente putrescibles. Es por ello, que los factores como el pH junto con la actividad de agua son importantes en la conservabilidad de este alimento (Vásquez, 2007).

2.3.1. PRINCIPALES CAUSAS DE ALTERACIONES DE LOS FILETES DE RES

La principal causa de alteración de las carnes frescas y procesadas (troceada, fileteada y/o molida) es de origen microbiano. El cuchillo es usualmente el vehículo que contamina y propaga los microorganismos de una res a otra, o de distintas partes de una misma res contribuyendo en el incremento de la carga microbiana inicial (Vásquez, 2007).

Si las carnes frescas no han sido cuidadosamente manipuladas y conservadas pueden ocasionar casos de toxiiñfección alimentaria, originadas por salmonella, *Staphylococcus aureus* o *E. coli*, debido a una deficiente cocción (Vásquez, 2007).

2.4. MICROBIOLOGÍA DE LA CARNE Y SEGURIDAD

2.4.1. SEGURIDAD DE LA CARNE

El consumo de carne sana y segura es un problema importante para los consumidores, quieren comprar cortes de carne atractivos a la vista en entornos atractivos. También necesitan saber cómo mantener la carne segura y sana cuando llevan las compras de carne a casa. Desafortunadamente, consumiendo carnes contaminadas para aproximadamente el 50% de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en los Estados Unidos además, las enfermedades transmitidas por los alimentos son costosas no solo para el consumidor (por ejemplo, tiempo perdido en el trabajo, problemas médicos y tarifas de seguro, etc.) pero también para el procesador de carne. En ventas perdidas, honorarios legales y costos de liquidación. Algunos casos de enfermedades transmitidas por los alimentos son tan graves que hay una pérdida de vidas, y la atención de los medios a estos casos puede dar como resultado

una caída general en el consumo de carne, al menos por un corto período de tiempo (Lonergan *et al.*, 2019).

2.4.2. AEROBIOS MESÓFILOS

Son bacterias cuya temperatura óptima varía de 30° a 37°C y utilizan oxígeno para su metabolismo. En el recuento de microorganismos *Aerobios mesófilos* se estima la flora total, pero sin especificar tipos de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados y las condiciones higiénicas de la materia prima. Excepto en productos que se elaboran por fermentación, altos recuentos microbianos se consideran poco aconsejables para la mayor parte de los alimentos. En general, el recuento de la flora aerobia mesófila es una prueba para conocer las condiciones de salubridad de algunos alimentos (Guidi *et al.*, 2016).

2.4.3. E. coli

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, usualmente móvil por flagelos peritricos, cuyo hábitat es el intestino de animales de sangre caliente. Esta bacteria es utilizada como indicador de posible contaminación fecal y presencia de patógenos en agua y alimentos debido a que se encuentra abundantemente en heces de humanos y animales (Soto *et al.*, 2016).

Aunque *Escherichia coli* puede ser un residente inocuo del tracto gastrointestinal, varios estudios han documentado que ciertas cepas de *E. coli* producen diarrea y otras enfermedades extra intestinales en humanos. Estas cepas de *E. coli* patogénicas constituyen un grupo heterogéneo de organismos con diferentes propiedades de virulencia, serotipos O:H, epidemiología y enfermedades asociadas (Soto *et al.*, 2016).

2.5. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA CARNE

Cuadro 2.1. Requisitos para carne y menudencias comestibles de animales de abasto

Requisito	N	C	M	M	Método de ensayo
<i>Aerobios mesófilos</i> ufc/g *	5	3	1.0 x 10 ⁶	1.0 x 10 ⁷	NTE INEN 1529-5
<i>E. coli</i> O157:h7	5	0	Ausencia	NTE INEN 056

*Especies cero tipificadas como peligrosas para humanos

Fuente: (INEN 056, 2011)

2.6. BIOCIDA

Un biocida es una sustancia activa con capacidad para matar organismos. Son múltiples los usos de estos productos: podemos encontrar desde simples desinfectantes para hogar (lejía) hasta conservantes de productos manufacturados (alimentos) y artículos de adquisición en las oficinas de farmacia, como los antisépticos o pediculicidas. Entre otras sustancias activas se pueden utilizar todas aquellas sustancias o microorganismos permitidos (incluidos virus u hongos) que ejerzan una acción general o específica contra todo organismo nocivo (McGraw, 2013).

En general, los biocidas funcionan penetrando en el interior del microorganismo impidiendo que realice sus funciones vitales. Estos productos son necesarios para el control de los organismos perjudiciales para la salud humana, para la de los animales y para el control de organismos dañinos para productos naturales o manufacturados (McGraw, 2013).

2.7. FACTORES QUE GENERAN EL CRECIMIENTO BACTERIANO

2.7.1. TEMPERATURA

La temperatura, en combinación con el tiempo, es un medio importante para preservar la sensibilidad sensorial. Las características de calidad del color, aroma y sabor de la carne y la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (Lonergan *et al.*, 2019).

Las temperaturas frías de -10°C a 0°C ($14-32^{\circ}\text{F}$) todavía permiten el frío (psicrófilos) y bacterias de deterioro (psicótrofes) tolerantes al frío para crecer, pero *L. monocytogenes*, sin embargo, puede crecer muy bien a 0°C (32°F) (Lonergan *et al.*, 2019).

Para carnes de autoservicio, la variación de las temperaturas frías puede afectar de manera decisiva la tasa de crecimiento de bacterias amantes del frío. Las temperaturas de almacenamiento más frías son beneficiosas para tanto productos frescos como procesados que inhiben el crecimiento bacteriano (Lonergan *et al.*, 2019).

2.7.2. pH

El valor de pH de la carne fresca a pH 5,6 o superior permite un crecimiento bacteriano sustancial, y cuanto mayor sea el valor de pH, mayor será el crecimiento (Lonergan *et al.*, 2019).

2.7.3. ACTIVIDAD DEL AGUA

El alto contenido de agua y la actividad acuosa de la carne la convierten en un medio de cultivo ideal para las bacterias. Cabe señalar que el contenido de agua en la carne y la actividad del agua (aW) de carne no son lo mismo. Un número que expresa la relación de la presión de vapor de alimentos a la presión de vapor del agua para los requisitos de crecimiento de microorganismos. Se define como aW de 0,98 muy por encima de los requisitos mínimos, para el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. En cuanto a la actividad del para microbios (Lonergan *et al.*, 2019).

En crecimiento, las bacterias requieren un aW de 0,88, levaduras 0,8 y mohos 0,7. En consecuencia, la mayoría de las carnes frescas y los productos cárnicos tienen suficiente agua para las tres clases de microbios (Lonergan *et al.*, 2019).

2.8. ALGAS MARINAS

Las algas marinas se encuentran en hábitats marinos adecuados en todas las regiones climáticas alrededor del globo. Se cree que han sido utilizados como alimento humano por nuestros antepasados que evolucionó por forrajeo en áreas costeras (Mouritsen *et al.*, 2013 citado por Mouritsen *et al.*, 2018).

Dado que las algas están formadas por tejidos blandos, dejan poco o ningún rastro de uso para el consumo humano(..), las algas pueden haber jugado un papel no solo para la nutrición humana, sino también seminal para la evolución del cerebro humano ya que contienen elementos esenciales para el desarrollo del cerebro, específicamente ácidos grasos omega-3 y omega-6 súper saturados, taurina, magnesio, zinc, vitamina B12 y yodo. Las algas también han desempeñado muchos papeles conformando la cultura humana y la sociedad (O' Connor, 2017).

Las algas marinas son organismos fotosintéticos que poseen una estructura reproductiva sencilla. El número de especies de algas permanece aún sin determinar, pero se estima que es entre uno y diez millones. Las microalgas (algas unicelulares) incluyen las formas microscópicas del phylum Cyanophyta, clase Cyanophyceae, cuya evolución difiere de la de las macroalgas (FAO, 2006 citado por Schultz, 2013).

Además de por su estructura (pared celular, presencia o ausencia de flagelo), las macroalgas se diferencian entre sí por sus características bioquímicas y naturaleza de los productos de reserva. No obstante, han sido fundamentalmente sus pigmentos (distintos a la clorofila) los que han permitido clasificar a las macroalgas marinas en tres grupos: *Rhodophyta*, *Phaeophyta* y *Chlorophyta* que se corresponden respectivamente con algas rojas, marrones y verdes (Mohamed y cols., 2012 citado por Schultz, 2013).

Las algas marinas son ricas en fibras solubles, proteínas, minerales, vitaminas, antioxidantes, fitoquímicos y contienen bajas cantidades de grasa que le suponen un bajo contenido calórico. No obstante, un porcentaje significativo de sus ácidos grasos corresponde a AGP y en particular a AGP de la familia omega-3. Sin embargo, como toda la flora, sus contenidos en nutrientes se afectan por factores externos como la localización geográfica, medio ambiente, temporada y condiciones de recolección (Bocanegra *et al.*, 2012 citado por Schultz, 2013).

2.8.1. MACROALGAS

Pertenecen a las plantas inferiores, lo que significa que no tienen raíces, tallos, y hojas. En su lugar, se componen de un talo (estructura en forma de hoja) y, a veces, un tallo y un pie. Las macroalgas representan un grupo diverso de marinos fotosintéticos eucariotas organismos a diferencia de las microalgas, que son unicelulares, las especies macroalgales son multicelulares y poseen características de tipo vegetal. Están típicamente compuestas por una cuchilla o lámina, el estipe y un soporte para anclar toda la estructura a sustratos duros en entornos marinos (Singh *et al.*, 2014).

Las características generales de estas estructuras son muy diversas en los diversos taxones que comprenden macroalgas. Hay formas de las cuales la

característica principal comprende cuchillas largas, formas que son ramificadas, y otros que son frondosos y que forman esteras. Además, algunas formas poseen aire, vejigas que actúan como dispositivos de flotación que permiten que algunas especies se mantengan erguidas o se produzcan flotando libremente en las superficies del océano. A menudo son de rápido crecimiento y pueden alcanzar tamaños de hasta 60 m. longitud (McHugh, 2003 citado por Singh *et al.*, 2014).

Se clasifican en tres grandes grupos según la composición de la pigmentación fotosintética:

- Alga parda (*Phaeophyceae*)
- Alga roja (*Rhodophyceae*)
- Algas verdes (*Chlorophyceae*).

Las algas se utilizan principalmente para la producción de alimentos y extracción de hidrocoloides (Singh *et al.*, 2014).

2.8.1.1. APLICACIONES DE LAS MACROALGAS

Las macroalgas son de alta productividad de biomasa, polisacáridos y proteínas hay una gran y diversa gama de aplicaciones y usos de los productos de macroalgas. Cosechado naturalmente y las macroalgas cultivadas tienen muchas aplicaciones, tales como en productos farmacéuticos, industrias de cosmética, fertilizantes, piensos y procesamiento de alimentos (Robin *et al.*, 2017).

2.8.1.2. ALGAS PARDAS

Las algas pardas o Phaeophyta corresponden a un grupo muy grande de algas marinas, que no se conoce aún el número exacto de especies. Su pigmentación varía de amarillo pardo a pardo oscuro y produce gran cantidad de un mucus protector (Quitral *et al.*, 2012).

2.8.2. PADINA PAVONICA

El alga parda *Padina pavonica* (*Phaeophyceae*, *Dictyotales*, *Dictyotaceae*), una especie ampliamente distribuidas templadas y cálidas. Debido a su thallus en forma de abanico, *P. pavonica* también se conoce como Peacock's cola y se

encuentra comúnmente en el mar Mediterráneo (Cormaci *et al.*, 2012 citado por Garzoli *et al.*, 2018).

2.8.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

Esta alga es rica en carbohidratos (principalmente Alginatos y laminares), lípidos (fucosterol), vitaminas y sales minerales, y es conocida por su ligera bioactividad contra patógenos microbianos (Garzoli *et al.*, 2018).

2.8.4. TAXONOMÍA

Nombre científico: *Padina pavonica*

División: *Ochrophyta*

Clase: *Phaeophyceae*

Orden: *Dictyotales* (Robin *et al.*, 2017).

2.8.5. FUNCIÓN DEL ALGA

Las algas tienen actividades antibacterianas y antifúngicas de *Laurencia catarinensis*, los extractos metanólicos de *L. majuscula* y *Padina pavonica* fueron determinados utilizando el método de difusión, los extractos mostraron actividad antibacteriana y antifúngica (Al Enazi *et al.*, 2018).

El extracto de *padina Pavonica* reveló una actividad antibacteriana significativa contra *Bacillus subtilis* (21.7 ± 1.5 mm; 1.95 mg / ml), *Staphylococcus aureus* (21.7 ± 0.58 mm; 1.95 mg / ml), *Streptococcus pyogenes* (20.7 ± 1.2 mm; 1.95 mg / ml) y *Acinetobacter baumannii* (20.1 ± 1.2 mm; 3.9 mg / ml) (Al Enazi *et al.*, 2018).

2.9. EXTRACTO DE ALGAS

Los extractos de plantas se están convirtiendo en aditivos cada vez más importantes en la industria alimentaria debido a sus propiedades antimicrobianas y capacidades antioxidantes que retrasan el desarrollo de sabores desagradables y mejoran la estabilidad del color en los alimentos listos para comer (RTE) productos cárnicos. Debido a su origen natural, son excelentes candidatos para reemplazar las moléculas sintéticas, que generalmente se

considera que tienen efectos toxicológicos y carcinogénicos. La eficiente extracción de estos (Barba *et al.*, 2018).

La aplicación de extractos de plantas para mejorar la vida útil, nutricional y relacionada con la salud (Barba *et al.*, 2018).

2.9.1. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

Esta técnica consistió en la separación de los principios activos del alga al colocarla en contacto con un solvente o la mezcla de ellos, capaz de solubilizar dichos principios (Pérez, 2009 citado por Amaguaña & Churuchumbi, 2018).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La presente investigación se llevó en Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”, ubicada en el sitio el Limón, cantón Bolívar, provincia de Manabí, la cual está ubicada en las siguientes coordenadas: 0°50'S 80°10'O, se encuentra a 22 m.s.n.m. (Google Earth, 2016).

La materia prima “algas” para realizar la presente investigación, se la obtuvo en la playa Ballenita de la provincia de Santa Elena, en el momento de la recolección de las algas (*Phaeophyta padina*) se observó que esta se encuentre en buen estado (libre de impurezas o cuerpos extraños), colocándola inmediatamente dentro de un cooler de espuma Flex previamente adecuado con bolsas de hielo, agregando agua de mar, para que la temperatura ambiental (17 a 40°C), no afecte la calidad de las algas obtenidas. Inmediatamente se realizó el empaqueo de la materia prima en bolsas plásticas transparentes con cierre hermético (ziploc) y transportadas al laboratorio para el proceso de liofilización. El proceso para la obtención del alga liofilizada se realizó en el Laboratorio de Bromatología y Química de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

En el caso de la carne de res molida para hamburguesa utilizada también como materia prima para la investigación, se adquirió un total de 1200 gramos empaquetada y conservada a temperatura de refrigeración (6°C), en un supermercado ubicado en la localidad de Calceta, Cantón Bolívar, y trasladado al laboratorio para la aplicación del extracto proteico obtenido de las algas pardas. El análisis físico - químico y microbiológico se realizó en los Laboratorios de Bromatología y Microbiología de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial de la ESPAM MFL.

3.2. DURACIÓN

La presente investigación tuvo una duración de nueve meses, considerando los plazos en los cuales se realizaron las actividades.

3.3. MÉTODOS, TÉCNICAS

3.3.1. MÉTODOS

3.3.1.1. MÉTODO ANALÍTICO

Es aquel método de investigación que consiste en la desmembración de un todo, descomponiéndose en sus partes o elementos para observar las causas, la naturaleza y los efectos (Labajo, 2017). El método analítico se aplicó a partir de los resultados microbiológicos que se obtengan.

3.3.1.2. MÉTODO BIBLIOGRÁFICO

Debido a que se realizó en condiciones rigurosas, controlando las variables en estudio, aplicando el método científico (Rodríguez & Pérez, 2017).

3.3.1.3. IDENTIFICACIÓN DEL ALGA

Se partió de un análisis a partir de la taxonomía y estructura del alga mediante identificación cualitativa a partir del criterio de varios expertos que se congregaron en el II Congreso Nacional de Investigadores de Micro y Macro algas dado en la Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López y más que nada en base de la experiencia en el manejo de algas del especialista el Dr. Ever Morales (Morales, 2019).

3.3.2. TÉCNICAS PARA LA ELABORACIÓN DEL EXTRACTO

Las técnicas utilizadas para la realización del extracto de alga parda son las siguientes:

3.3.2.1. EXTRACCIÓN CON SOLVENTES

Esta técnica consistió en la separación de los principios activos del alga al colocarla en contacto con un solvente o la mezcla de ellos, capaz de solubilizar dichos principios (Pérez, 2009 citado por Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

3.4. FACTORES EN ESTUDIO

CUADRO 3.1. Factores de estudio

Factores	Niveles
A= tipo de extracto	Extracto proteico de alga "padina"
	0 %
B= Dosis del extracto	0.5 %
	1.0%
	1.5 %

Fuente: Por autor

3.5. TRATAMIENTOS

De la combinación de los diferentes niveles del factor se dieron como resultados los siguientes tratamientos.

CUADRO 3.2. Número de tratamientos

Tratamientos	Códigos	Descripción	Bloque 1	Bloque 2
1	a1b1	0% de extracto de alga		
2	a1b2	0.5 % de extracto de alga		
3	a1b3	1.0% de extracto de alga	4 °C	6 °C
4	a1b4	1.5% de extracto de alga		

Fuente: Por autor

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se desarrolló bajo un arreglo factorial en DBCA (diseño de bloque completamente al azar) con un total de cuatro tratamientos aplicando como bloque dos temperaturas de refrigeración.

CUADRO 3.3. Esquema del ANOVA

ANOVA	
Fuente de variación	Grados de libertad
Total	23
Repeticiones (Bloques)	1
Tratamientos	3
Error experimental	19

Fuente: Por autor

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

Se utilizó como unidad experimental 50 g de carne de res molida para hamburguesa por cada tratamiento con dos réplicas cada uno, siendo un total de 24 unidades experimentales, al instante se procedió a inocular la carne con

extracto proteico de alga en los diferentes porcentajes estipulados (0 %; 0.5%; 1.0%; 1.5%), posteriormente se envaso y almacenó a las temperaturas especificadas anteriormente.

CUADRO 3.4. Unidad experimental

UNIDAD EXPERIMENTAL				
INGREDIENTES	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
Carne de res	50 g	50 g	50 g	50 g
Agua	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml
Sal	0 g	2.83 g	2.83 g	2.83 g
algas pardas	0%	0.5 g	1 g	1.5 g

Fuente: Por autor

3.8. VARIABLES A MEDIR

3.8.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

- Porcentajes de extracto proteico de alga (0%; 0.5%; 1.0%; 1.5%)

3.8.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- Microorganismos presentes en la carne de res (*E. coli*, *Aerobios mesófilos*).

3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos en la investigación fueron ordenados para ser analizados estadísticamente en el programa IBM SPSS Statistics 21.

- A todas las variables en estudio se les aplicaron los supuestos del ANOVA: normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad (Levene)
- El factor en estudio contrastado con las UFC/g (*Aerobios Mesófilos*, *E. coli*) se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.

3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO

3.10.1. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ALGA (*Phaeophyta padina*) LIOFILIZADA

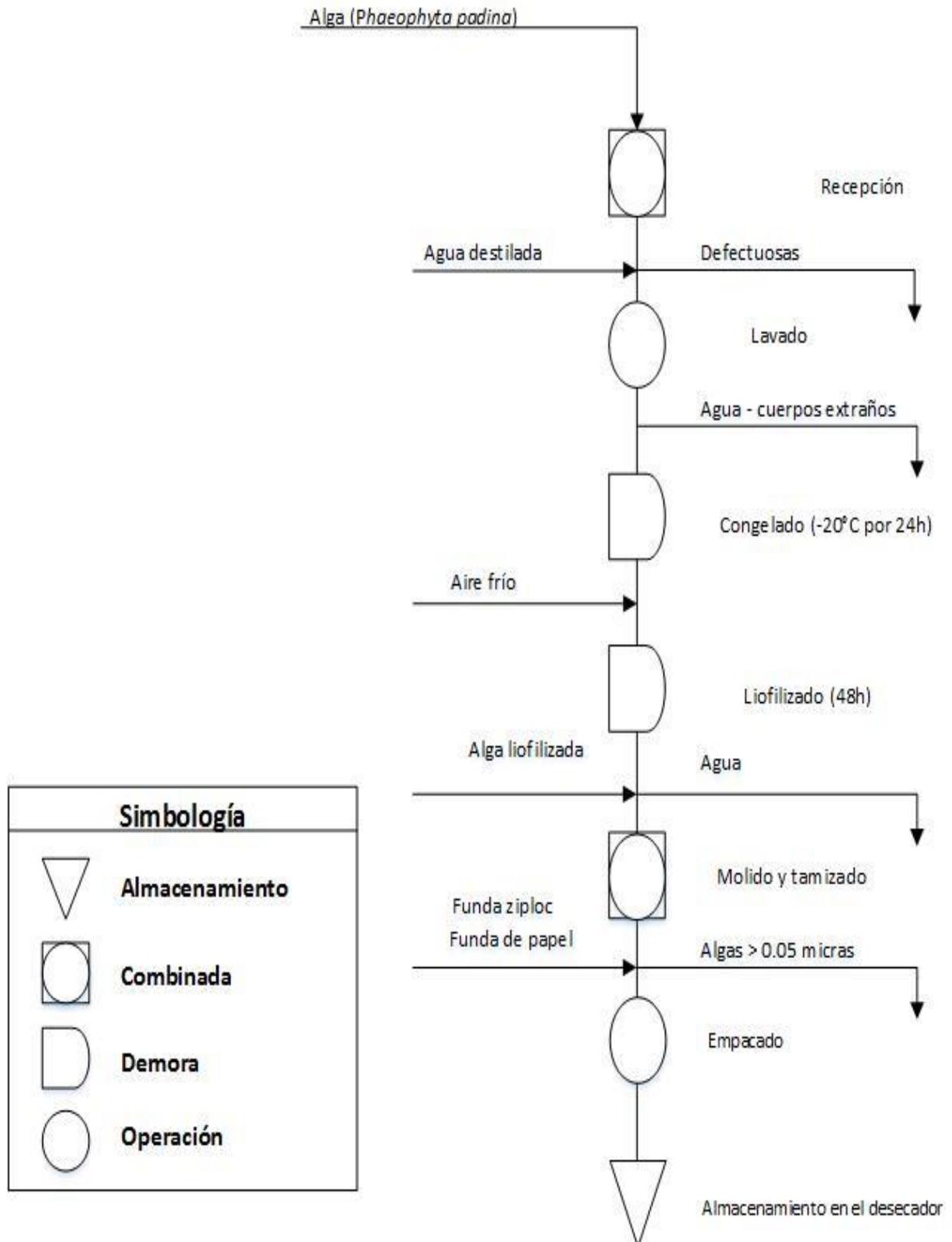


Figura 3.1. Diagrama de proceso para la obtención del alga liofilizada

3.10.1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE ALGA (*Phaeophyta padina*) LIOFILIZADA

Recepción: Se receipta la materia prima seleccionada (hojas del alga parda) y se verifica que no presente impurezas o cuerpos extraños.

Lavado y empacado: Una vez realizada la verificación se procede al lavado con agua destilada a temperatura ambiente (17 a 40°C) y se coloca la materia prima lavada, libre de impurezas en una funda ziploc de 17.7 cm x 18.8cm.

Congelación: Se colocó la materia prima ya empacada en un ultra congelador marca ARCTIKO a una temperatura de -20°C por 24 horas.

Liofilización: se procedió a colocar la materia prima en estado sólido (congelado a -20°C) en el colector del liofilizador de laboratorio, marca LABCONCO, el proceso de liofilizado duró 48 horas.

Molido y tamizado: El producto obtenido de la liofilización se procedió a moler, utilizando un molino de masa marca KINETIC con tamiz metálico de marca U.S.A STANDARD TEST SIEVE de 0.5 micras.

Empacado: Se procedió a colocar el elemento obtenido en funda de papel y colocada dentro de una funda ziploc 17.7 cm x 18.8 cm con sello hermético.

Conservación del producto: El alga liofilizada se conservó en un desecador hasta su utilización.

3.10.2. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO DE ALGA (*Phaeophyta padina*)

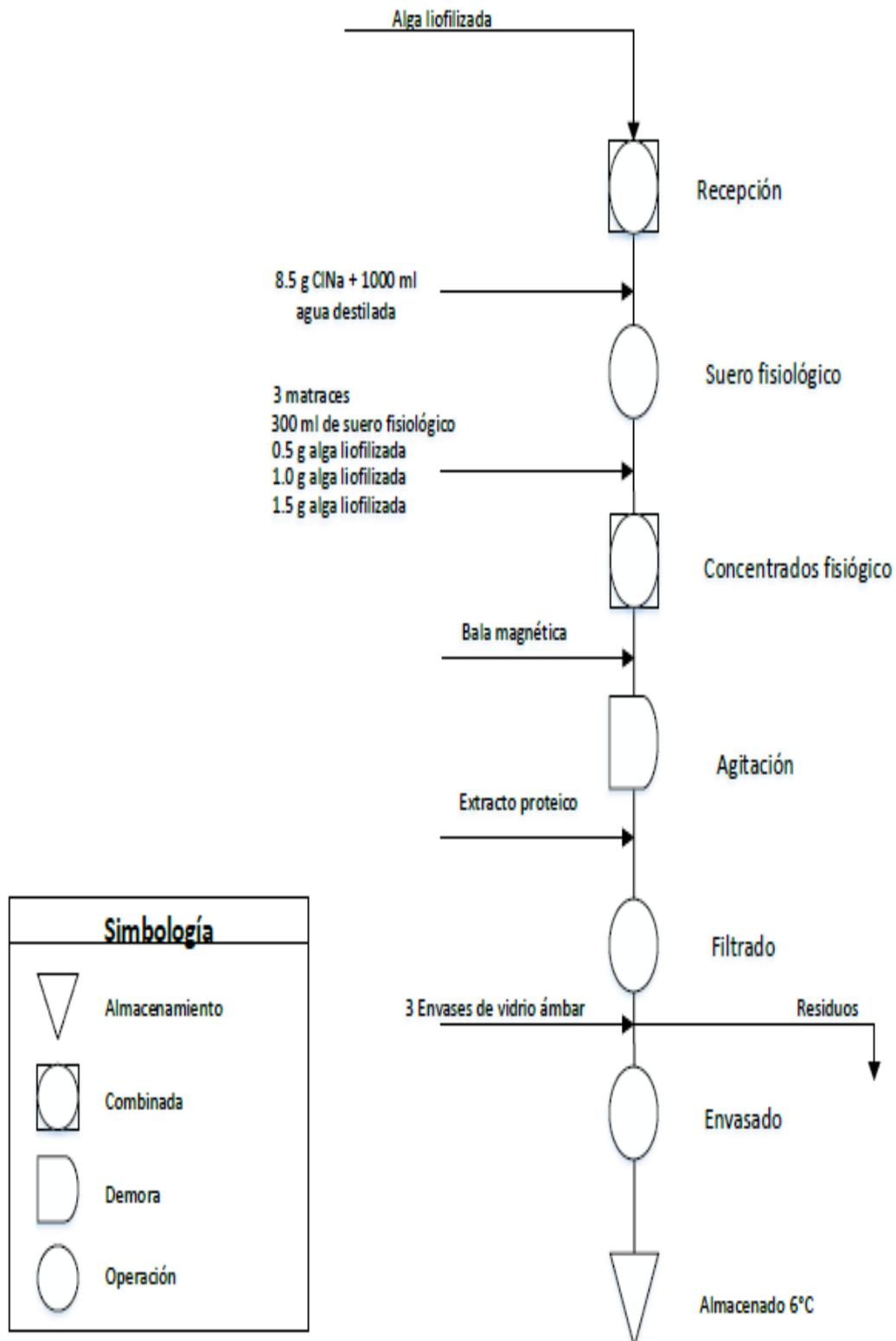


Figura 3.2. Diagrama de proceso para la obtención del extracto

3.10.2.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO DE ALGA (*Phaeophyta padina*)

Recepción: Se receipta el alga liofilizada.

Obtención del suero fisiológico: Dilución de 8.5g de cloruro de sodio en 1000 ml de agua destilada.

Envasados de concentrados proteicos: se envasado en frascos color ámbar el suero fisiológico obtenido se divide en tres envases de 100 ml a los cuales se les adjunta individualmente una proporción de 0.5g, 1g y 1.5g de alga liofilizada.

Agitación: Se coloca a cada envase una bala magnética y se procede a ubicar los envases en un agitador magnético de laboratorio marca OXITOP IS6-Var, por un lapso de tiempo de una hora.

Filtrado: El elemento se procede filtrar con papel filtro whatman 0.5 micras.

Envasado: Se envasa en frascos color ámbar.

Almacenado: El extracto obtenido es almacenado a 6°C hasta su utilización en un tiempo máximo de 48 horas desde su producción.

3.10.3. DIAGRAMA DEL PROCESO DE APLICACIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO EN LA CARNE DE RES MOLIDA PARA HAMBURGUESA

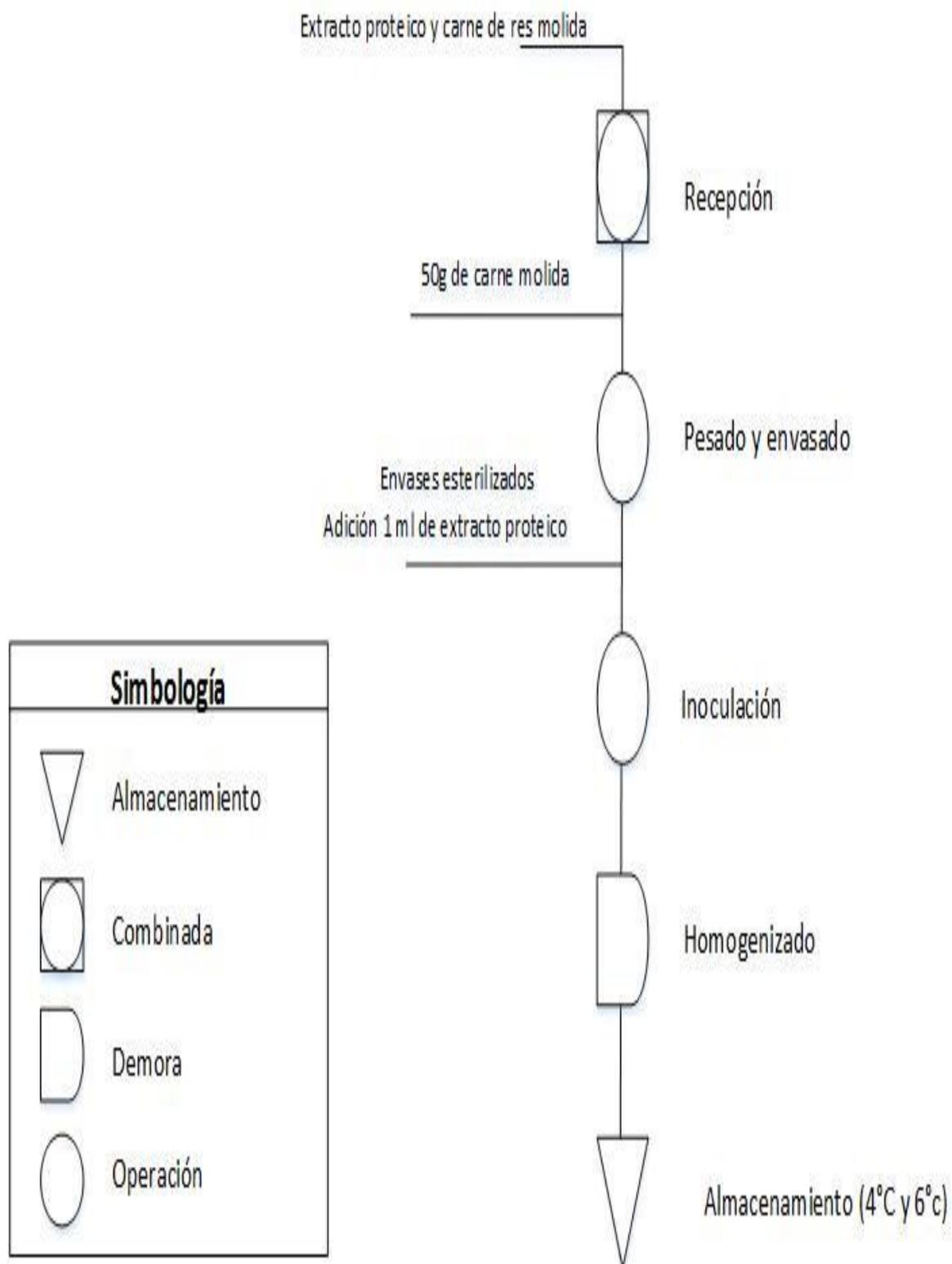


Figura 3.3. Diagrama de aplicación del extracto proteico

3.10.3.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE APLICACIÓN DEL EXTRACTO PROTEICO EN CARNE DE RES MOLIDA PARA HAMBURGUESA

Recepción: Se reciben las materias primas a 6°C (carne molida y extracto proteico de alga liofilizada) a utilizar en la investigación.

Pesado y envasado: Se procede a pesar en una balanza analítica marca Sartorius 50 gramos de carne molida por cada tratamiento y su debida repetición y se las colocaron en envases plásticos esterilizados.

Inoculación: Se incorpora 1 ml del extracto proteico a cada porción de carne de res molida.

Homogenizado: Se mezcla cada una de las porciones de carne de res molida con el extracto proteico.

Almacenamiento. Se ubican las muestras inoculadas en refrigeración a una temperatura de 4 y 6°C por un tiempo de 30 días.

3.10.4. HERRAMIENTAS APLICADAS PARA EVALUAR LAS VARIABLES DE RESPUESTA.

3.10.4.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICAS

➤ pH

1. Pesar 10 g de muestra.
2. Añadir 100 ml de agua destilada y moler en licuadora marca Oster a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante un minuto.
3. Filtrar la mezcla de la carne en una tela de lino de 10 micras para eliminar el tejido conectivo. Recoger en un vaso de precipitación aproximadamente 50 ml.
4. Proceder a determinar el pH del filtrado con el potenciómetro digital portátil marca Milwaukee previamente calibrado.
5. Apuntar el resultado registrado pH y temperatura.

➤ **ACIDEZ**

1. En una balanza analítica digital marca Sartorius se pesó 10 g de carne y se procedió a picar en una licuadora Oster con 200 ml de agua destilada.
2. Filtrar la muestra con un lienzo (lino). Colocar el filtrado en un matraz aforado de 250 ml y aforar con agua destilada.
3. Tomar 25 ml de esta solución y colocarla en un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Añadir 75 ml de agua destilada.
4. Titular con NaOH 0.1 N, usando fenolftaleína como indicador.
5. Aplicar la fórmula correspondiente para calcular la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico.

Fórmula:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{[(\text{consumo de NaOH})(N)(\text{Meq} - q)]}{PM} \times 100$$

Datos:

N= Normalidad de NaOH (0.1)

Meq-q= Mili-equivalente químico

PM= gramos de muestra requeridos en el análisis

Consumo NaOH

➤ **HUMEDAD**

1. Inicialmente se rotuló la caja Petri vacía.
2. Luego se pesó la caja Petri vacía en una balanza analítica digital marca Sartorius.
3. Seguidamente se procedió a pesar cinco gramos de la hamburguesa
4. Después se llevó la caja Petri vacía + la muestra a la estufa durante dos horas a 130 °C
5. Inmediatamente, se pesó la caja Petri con la muestra después del desecador y se aplicó la siguiente ecuación.

Fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{[(P_1 + PM) - (P_2)]}{PM} \times 100$$

Datos:

P1= Peso de la caja Petri vacía

P2= Peso de la muestra después de la estufa

PM= Peso de la muestra

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ALGA PARDA EN LABORATORIO

Para la obtención del extracto proteico de algas pardas "*Phaeophyta padina*" se aplicó el método del Dr. Daniel Sautchuk, el cual consiste en emplear 8.5 g de cloruro de sodio en 1000cc de agua destilada, formando de esta manera el suero fisiológico.

Mientras tanto las algas pardas fueron molidas hasta conseguir un tamaño homogéneo en partículas de 0.5 micras, cuya longitud es idónea para la producción de extracto proteico.

El elemento obtenido fue distribuido en tres vasos de precipitación con las siguientes cantidades (0.5 g; 1 g; 1.5 g) y 100 ml del suero fisiológico en cada vaso de precipitación, luego se procedió a colocar los tratamientos realizados en el agitador magnético por un lapso de tiempo de una hora.

Finalizado este tiempo los tratamientos fueron filtrados utilizando papel filtro whatman 0.5 micras, el extracto obtenido fue colocado en envases de vidrio color ámbar y almacenado a 6°C hasta su utilización en un tiempo máximo de 48 horas desde su producción.

4.2. PORCENTAJE ÓPTIMO DE EXTRACTO PROTEICO DE ALGA (*Phaeophyta padina*)

Se realizaron tres extractos proteicos de alga parda (*Phaeophyta padina*) en diferentes porcentajes (Ver anexo 11-B) T₁ (0%), T₂ (0.5%), T₃ (1.0%) y T₄ (1.5%) el cual se aplicó a la carne de res molida para hamburguesa.

En la investigación se probaron dos factores, tipo de extracto y dosis del extracto (0%; 0.5%; 1% y 1.5%) en función de las UFC/g de *E. coli* y *Aerobios mesófilos*, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, de muestras independientes en la que se contrastó que el factor B con la variable de respuesta, definiendo que la distribución de las variables es la misma que entre las categorías de los tratamientos por lo que su significancia es > 0.05 (Ver anexo 13).

Al ser la significancia mayor a la establecida se retiene la hipótesis nula, porque no existe diferencia estadística significativa para el factor B (dosis de extracto) de la variable dependiente (*E. coli*, *Aerobios mesófilos*), enfatizando que las dosis de extracto proteico aplicadas no infirieron sobre el crecimiento microbiológico.

Según la AECIEECAT (Alianza Estratégica y de Cooperación en Investigación en Envase y Embalaje para la Comercialización de Alimentos Transformados) expone que en las macroalgas se han encontrado múltiples evidencias de actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos acuosos e hidroalcohólicos que presentan Polifenoles, carotenoides, ácidos ascórbico y tocoferol (vitamina E), asociados con la actividad antioxidante. De la misma forma lo manifiesta (Martins *et al.*, 2018) que las macroalgas producen moléculas con gran diversidad química que tienen efectos biológicos, como antibacteriano, antifúngico y actividades antioxidantes. Además, indica que, la bioactividad de los extractos de algas puede verse influenciada por las variaciones estacionales, distribución geográfica, etapa de crecimiento, maduración sexual del alga o por la capacidad de extracción de los solventes usados.

4.3. TEMPERATURA ÓPTIMA DE CONSERVACIÓN

La investigación se realizó por un lapso de 30 días, se controló las temperaturas de refrigeración (4 y 6 °C) mediante termómetro Brixco en cada refrigeradora, con la finalidad de obtener datos exactos tanto para los análisis físico-químicos y microbiológicos del producto “carne de res para hamburguesa con adición de extracto proteico de alga”, según Prado (2014) expone que, los factores intrínsecos (pH, humedad, a_w) y temperatura a la cual se almacena la carne determina la velocidad, tipo y cantidad de flora microbiana contaminante en la vida útil en productos cárnicos crudos.

Los resultados obtenidos en el cuadro 4.1. de pH definen la temperatura de 4°C como la mejor entre las dos temperaturas planteadas en la investigación debido que no hubo diferencia significativa con un intervalo de confianza del 95% en el límite inferior de 6.013 y en el límite superior de 6.455 a través del tiempo ($P \leq 0.05$) como se puede observar en el cuadro 4.2.

Cuadro 4.1. Pruebas de los efectos inter-sujetos para la variable pH

Origen	Suma de cuadrados tipo III	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1.752 ^a	4	0.438	3.270	0.034
Intersección	1013.350	1	1013.350	7566.438	0.000
Tratamientos	0.082	3	0.027	0.205	0.892
Bloques	1.670	1	1.670	12.466	0.002
Error	2.545	19	0.134		
Total	1017.647	24			
Total corregida	4.297	23			

Variable dependiente: pH
a. R cuadrado = ,408 (R cuadrado corregida = ,283)

Fuente: El Autor

Cuadro 4.2. Medias para los Bloques

Bloques	Media	Error típ.	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
4°C	6.234	0.106	6.013	6.455
6°C	6.762	0.106	6.541	6.983

Fuente: El Autor

4.4. CAMBIOS FÍSICOS-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS

4.4.1. VARIABLES FÍSICO QUÍMICAS

Los análisis físico-químicos realizados a todos los tratamientos en estudio T₁ (0%), T₂ (0.5%), T₃ (1.0%) y T₄ (1.5%) revelan que existe mayor inestabilidad en el pH en los tratamientos almacenados a 6°C ver gráfico 4.1, es por este motivo que el bloque a 4°C es el mejor para la presente investigación debido que a esta temperatura se mantiene a la carne de res en un rango de pH de 6.0 a 6.5, más cercano al pH normal de la carne de res (>5.5, ≤6.2). Según (Keokamnerd) *et al.*, (2007) citado por Resédiz *et al.*, (2018) la vida útil de la carne y los productos cárnicos depende de factores como el tipo de especie animal, manejo ante y postmortem, higiene durante la manipulación, pH de la carne, temperatura ambiente, y composición de los gases que rodean al producto.

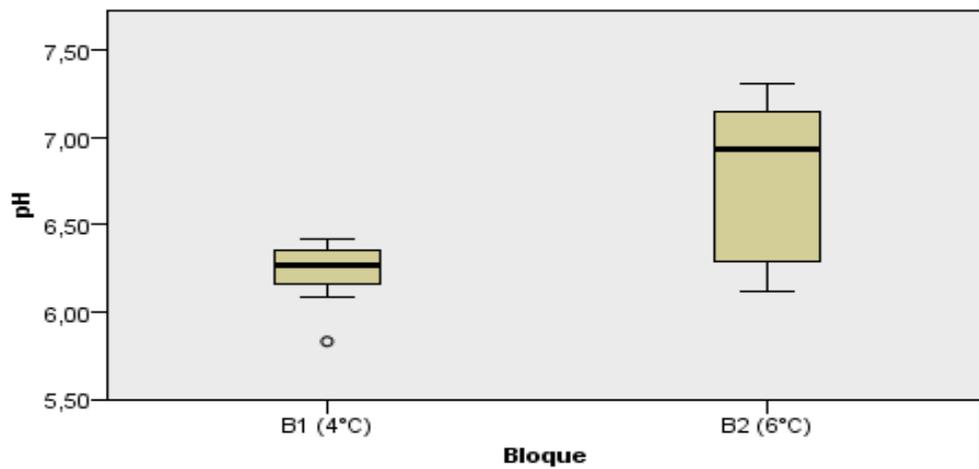


Gráfico 4.1. Prueba de Kruskal-wallis de muestras independientes para los bloques con respecto al pH

En el anexo 14, mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis se observan que existe diferencia significativa para los bloques en cuanto a la acidez, ver en el gráfico 4.2 en el cual se observa que al igual que el pH el mejor bloque es el de (4°C).

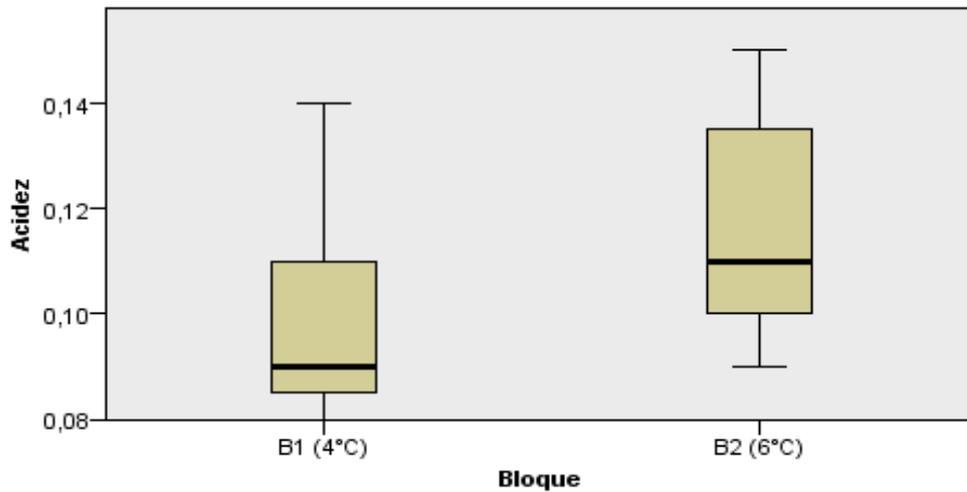


Gráfico 4.2. Prueba de Kruskal-wallis de muestras independientes para los bloques con respecto a la acidez

Cuadro 4.3. Pruebas de los efectos inter-sujetos para la variable humedad

Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamientos	44.304	3	14.768	1.587
Error	186.100	20	9.305	0.224
Total	230.404	23		

Fuente: El Autor

En el cuadro 4.3. se observa que no existe diferencia estadística significativa para los tratamientos de la variable humedad.

En el cuadro 4.4 la prueba honesta de Tukey al 5% de error correspondiente a la humedad se puede evidenciar que todos los datos analizados se encuentran en una misma categoría; lo cual indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos. González *et al* (2013) citado por Bermúdez y López (2018) manifiestan que como consecuencia del deterioro de las carnes, se originan cambios como la pérdida de humedad, aumento del pH y rancidez.

4.4.2. VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

La inocuidad y calidad de los alimentos es muy importante, especialmente en los productos cárnicos porque son sometidos a contaminación bacteriana y fúngica, debido a la oxidación de lípidos que deteriora la calidad de los productos, durante el procesamiento y almacenamiento. Según Nooshin *et al.*, (2018) en un estudio realizado en la aplicación de extractos de plantas para mejorar la vida útil de los productos cárnicos, indica que, para inhibir el crecimiento indeseable de microorganismo y reducir la oxidación de lípidos, se pueden incorporar compuestos bioactivos antioxidantes en el producto. En el cuadro 4.3. se puede evidenciar que, en el primer muestreo de los tratamientos aplicados en las diferentes temperaturas hay presencia de ambos microorganismos que sobrepasan el límite permisible.

Neveen *et al.*, (2018) en un estudio, realizado a la alga parda padina pavonia indican que, debe ser el origen de los grupos bioactivos, los que tienen varios químicos como flavonoides, alcaloides, esteroides, fenoles afirmacion corroborada por Nouf *et al.*, (2017) en el cual se indica que, los extractos del alga padina pavonica mostraron actividades antibacterianas y antifúngicas debido a los compuestos bioactivos. Por otra parte Plaza (2010) expone que, los extractos

obtenidos a partir del alga "*Chlorella vulgaris*" presentó actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Cuadro 4.4. Resultados de análisis físico-químicos y microbiológicos

Tratamientos	Días de toma de muestra	°C	<i>E. coli</i>	<i>Aerobios mesófilos</i>	Ph	Acidez	Humedad
T1 (0% extracto proteico de alga)	1	4°C	2.3x10 ²	1.9x10 ⁵	5.83 ^a	0.11 ^a	30.21 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			1.1x10 ²	1.9x10 ⁵	6.08 ^a	0.08 ^a	31.59 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			9.3x10 ²	1.4x10 ⁵	6.14 ^a	0.09 ^a	34.28 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			9.3x10 ²	1.0x10 ⁵	6.22 ^a	0.09 ^a	36.71 ^a
T1 (0% extracto proteico de alga)	1	6°C	1.1x10 ³	2.6 x10 ⁵	6.18 ^a	0.12 ^a	25.14 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			1.1x10 ³	2.2 x10 ⁵	6.12 ^a	0.09 ^a	30.16 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			2.1x10 ³	2.0 x10 ⁵	6.40 ^a	0.15 ^a	29.67 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			7.5x10 ²	2.9 x10 ⁵	6.13 ^a	0.10 ^a	30.69 ^a
T1 (0% extracto proteico de alga)	15	4°C	Ausencia	1.6x10 ⁵	6.42 ^a	0.14 ^a	28.28 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			Ausencia	1.9x10 ⁵	6.38 ^a	0.11 ^a	26.93 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			Ausencia	1.9x10 ⁵	6.35 ^a	0.11 ^a	31.99 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			Ausencia	2.0 x10 ⁵	6.33 ^a	0.10 ^a	27.53 ^a
T1 (0% extracto proteico de alga)	15	6°C	Ausencia	2.0 x10 ⁵	6.53 ^a	0.09 ^a	26.12 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			7.0x10 ¹	2.6 x10 ⁵	7.21 ^a	0.10 ^a	27.56 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			4.0x10 ¹	2.4 x10 ⁵	6.90 ^a	0.10 ^a	34.35 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			9.0x10 ¹	3.5 x10 ⁵	7.31 ^a	0.10 ^a	25.37 ^a
T1 (0% extracto proteico de alga)	30	4°C	Ausencia	3.3 x10 ⁵	6.17 ^a	0.09 ^a	29.39 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			Ausencia	2.9 x10 ⁵	6.31 ^a	0.08 ^a	27.73 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			Ausencia	3.0 x10 ⁵	6.36 ^a	0.08 ^a	26.90 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			Ausencia	2.7 x10 ⁵	6.22 ^a	0.09 ^a	24.22 ^a
T1 (0% extracto proteico de alga)	30	6°C	Ausencia	3.5 x10 ⁵	7.25 ^a	0.14 ^a	27.42 ^a
T2 (0,5% extracto proteico de alga)			9.0x10 ¹	3.7 x10 ⁵	7.06 ^a	0.14 ^a	27.77 ^a
T3 (1,0% extracto proteico de alga)			Ausencia	3.5 x10 ⁵	7.08 ^a	0.13 ^a	30.60 ^a
T4 (1,5% extracto proteico de alga)			Ausencia	3.5 x10 ⁵	6.97 ^a	0.13 ^a	25.58 ^a

Fuente: El Autor

La norma técnica ecuatoriana INEN 1338 (2012) certifica el rango máximo de contaminación microbiológica permisible en productos cárnicos crudos es de 1.0x10⁷ UFC/g* para microorganismos *Aerobios mesófilos* y 1.0x10² UFC/g* *E. coli*, es así como se detalla en el cuadro 4.4. Mientras que, Carrillo y Reyes (2013) indican que, la contaminación microbiana se da debido a los factores extrínsecos como pH y la humedad debida que estos factores afectan en la calidad de la carne de res. Para Ijaz *et al.*, (2019) muestra que el pH normal es

($pH \leq 5.70$), atípica con un rango ($5.70 < pH \leq 6.09$) y con el $pH > 6.09$ es típico de la carne de res DFD (oscura firme y seca).

Cuadro 4.5. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos crudos

Requisito	N	C	M	M	MÉTODO DE ENSAYO
<i>Aerobios mesófilos</i> ufc/g*	5	3	1.0×10^5	1.0×10^7	NTE INEN 1529-5
<i>Escherichia coli</i> ufc/g*	5	2	1.0×10^2	1.0×10^3	NTE INEN 1529-8
<i>Staphilococcus aureus</i> ufc/g*	5	2	1.0×10^3	1.0×10^4	NTE INEN 1529-14
<i>Salmonella</i> /25g**	5	0	Ausencia	---	NTE INEN 1529-15
<i>E. coli</i> O157H7**	5	0	Ausencia	---	ISO 16654

*Requisitos para determinar tiempo de vida útil

**Requisitos para determinar inocuidad del producto

Fuente: NTE INEN 1338 (2012)

Al final de la investigación los datos obtenidos en el cuadro 4.3., se analizaron mediante pruebas no paramétricas con el test estadístico kruskal-wallis de muestras independientes (Gráfico 4.3).

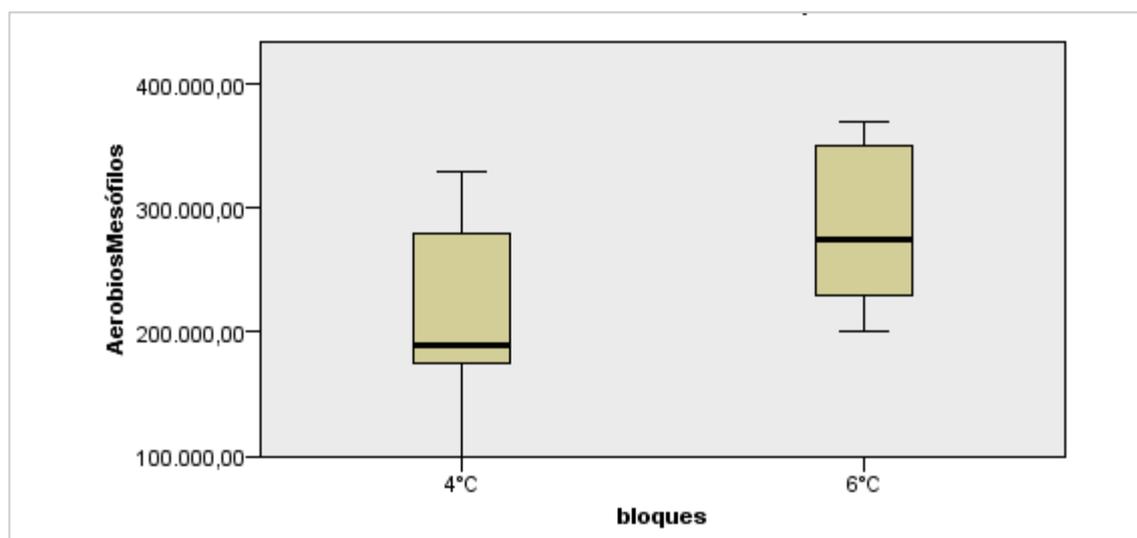


Gráfico 4.3. Prueba de kruskal-wallis de muestras independientes

De acuerdo al diagrama de cajas presentado en la gráfico 4.3., donde se relacionan los dos bloques en estudio, observándose que el bloque de 6°C presentó mayor alteración microbiológica en comparación al bloque de 4°C, exponiendo a este como el medio más idóneo para inhibir el crecimiento microbiológico. Según González *et al.*, (2014) menciona que, la velocidad de crecimiento de microorganismos en carne de res fue mayor a temperaturas de 4°C y 8°C y afectaron significativamente en el tiempo y la temperatura de almacenamiento de la carne de res.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Las algas marinas son altamente susceptibles a la degradación microbiana, por esta razón se aplicó el método del Dr Daniel Sauchuk dentro del proceso que permitió obtener el extracto proteico óptimo para el control en estudio, demostrando ser una técnica útil.
- Los resultados confirman que las concentraciones (0%; 0.5%; 1.0%; 1.5%) de extracto proteico aplicadas en cada tratamiento no presentaron inhibición para alargar el tiempo de vida útil y mejorar la inocuidad del producto (carne de res molida para hamburguesa).
- Se determinó que los tratamientos adicionados con extracto proteico al (0%; 0.5%; 1.0%; 1.5%) almacenados, en los bloques en estudio a 4°C permanecieron en condiciones óptimas con un intervalo en el límite inferior de 6.013 y en el límite superior de 6.455, mientras que los tratamientos en los bloques en estudio a 6°C presentaron alteraciones microbiológicas con un intervalo en el límite inferior de 6.541 y en el límite superior de 6.983, demostrando que la temperatura idónea para la conservación de la carne inoculada con el extracto proteico es a 4°C.
- Los resultados obtenidos a partir de los análisis físicos-químicos realizados a las muestras establecidas presentaron los siguientes indicadores:
 - **pH:** los tratamientos almacenados a 4 °C mostraron los siguientes valores, el T1 al 0% un pH de 5.83 a 6.42, y los T2, T3 y T4 un pH de 6.08 a 6.36, valor típico de la carne de res DFD (oscura, firme y seca), mientras que los tratamientos almacenados a 6°C presentan los siguientes indicativos, para el T1 un pH de 6.18 a 7.25 y los valores de los T2, T3 y T4 un pH de 6.12 a 7.31 lo que significativamente demuestra un pH alcalino, por lo que se considera que dicha temperatura y concentraciones de extracto proteico administrado a las muestras influyen a que estas sean más susceptibles a alteraciones microbiológicas.

- **Acidez:** Los valores de acidez para los tratamientos de 0% (T1) almacenados a 4 y 6 °C fueron de 0.09% a 0.14%, por lo cual, la carne molida no presentó cambios significativos; mientras que, los T2, T3 y T4, a 4°C indicaron un porcentaje de 0.08% a 0.11%, y los expuestos a 6°C fue de 0.09% a 0.15%, existiendo una diferencia en el aumento de la acidez del 0.04% en la temperatura de 6°C con relación a la de 4 °C.
- **Humedad:** Los valores de humedad para el T1 al 0% presentaron un índice de 28.28 a 30.21 (4°C), y de 25.14 a 27.42 (6°C), mientras que, los T2, T3 y T4, mostraron una humedad de 24.22 a 31.59 (4°C), y 25.37 a 34.35 (6°C).
- A partir de los análisis microbiológicos obtenidos en los tratamientos establecidos, se pudo determinar lo siguiente: la acción biogénica del extracto proteico no genera acción barrera para los microorganismos gram negativos (*E. coli* y *Aerobios mesófilos*), sin embargo este elemento (alga parda) está siendo utilizado mayormente en la agricultura sustentables como activador biológico y bioestimulante orgánico.

5.2. RECOMENDACIONES

- Al momento de trabajar con carne de res para hamburguesa, a las cuales se le ha aplicado diferentes concentraciones de extracto proteico de alga (*Phaeophyta padina*), es de suma importancia mantener la temperatura de refrigeración entre 4 °C a 6°C, para que los tratamientos aplicados demuestren su inhibición en los análisis microbiológicos, puesto que, a una temperatura menor a la indicada se detiene automáticamente el crecimiento microbiológico.
- Sería conveniente que en futuras investigaciones se aplicarán porcentajes de concentraciones del extracto proteico de algas más elevadas, lo que permitiría comprobar una acción barrera más eficiente.
- Se recomienda probar el extracto en microorganismos gram positivos por lo que en microorganismos gram negativos no hubo diferencia significativa en la actual investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Al Enazi, N; Awaad, A; Zain, M; Alqasoumi, S. 2018. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis* , *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. Al-Kharj, SA. *Revista Saudi Pharmaceutical*. Vol 1. p 44-52.
- AECIEECAT (Alianza Estratégica y de Cooperación en Investigación en Envase y Embalaje para la Comercialización de Alimentos Transformados) . 2011. *OBTENCIÓN Y APLICACIÓN DE EXTRACTOS NATURALES*. CEIDea. (En Línea). UE. Consultado, 25 de Jul. 2019. Formato PDF. Disponible en <http://www.anfaco.es/fotos/biblioteca/docs/congresos/transferencia2011.pdf>
- Amaguaña, F; Churuchumbi, E. 2018. ESTANDARIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE CALÉNDULA (*Calendula officinalis*). Tesis. Ing. Biotecnología. UPS. Quito, EC. p 13.
- Barba, F; Lorenzo, J; Cox, R; Mallikarjunan, K; Roohinejad, S; Nikmaram, N; Budaraju, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. Valencia, ES. *Revista Meat Science*. Vol 145. p 245-255.
- Bermúdez, Y; López, C. 2018. DIAGNÓSTICO DE LA CALIDAD DE CARNE DE RES QUE SE EXPENDE EN LA CIUDAD DE CALCETA. Tesis. Ing. Agroindustrial. ESPAM MFL. Calceta. EC. p 1.
- Carrillo, M; Reyes, A. 2013. Vida útil de los alimentos. San Luis de Potosi, ME .*Revista Iberiamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias* , Vol 2. p 1-25.
- Delgado, M; Cedeño, C. 2013. Calidad e inocuidad de carnes bovinas obtenidas en un matadero municipal de la provincia de Manabí. Portoviejo, EC. *Revista La Técnica*, Vol 1 p 6-11.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura). 2014. carne y productos cárnicos. (En Línea). EC. consultado, 19 de oct.

2019. formato html. Disponible en http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/quality_meat.html
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura). 2016. Producción y Sanidad Animal. (En Línea). EC. Consultado 19 de oct 2019. Formato html. Disponible en <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>
- Garzoli, L; Prigione, V; Gnavi, G; Varese, G. (2018). Peacock's tail with a fungal cocktail: first assessment of the mycobiota associated with the brown alga *Padina pavonica*. Turin, IT. *Revista Fungal Ecology*, Vol 35. p 87-97.
- González , H; Quintero, O; Mesa, C. 2014. ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE ALMACENAMIENTO DE CARNE DE RES Y DE CERDO CON DIFERENTE CONTENIDO GRASO. Medellín, CO. *Revista Vitae*, Vol 21. p 201-210.
- Google, E. 2016. Mapa de Cantón Bolívar en Manabí en Calceta. (En Línea). EC. Consultado 15 de oct 2019. Formato php. Disponible en <http://mapasamerica.dices.net/ecuador/mapa.php?nombre=Canton-Bolivar&id=2943>
- Guidi, A; León, W; Fernandez, N; Gottret, J. 2016. IMPLEMENTACIÓN DEL MÉTODO ALTERNATIVO PETRIFILM PARA DETERMINAR COLIFORMES Y BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS EN LA INDUSTRIA. Cochabamba, BO. *Revista BOLIVIANO DE CIENCIAS*. Vol 11. p 58-65.
- Honikel, K. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Kulmbach, DE. *Revista Meat Science*. Vol 78. p 68-76.
- Holtcamp, A; Sukumaran, A; LE, M; Vu, P; Nguyen, D; & Dinh, T. 2018. Effects of market type and time of purchase on oxidative status and descriptive off-odors and off-flavors of beef in Vietnam. Ho Chi Minh City, VN. *Revista Meat Science*. Vol 145. p 399-406.
- Ijaz, M; Li, X; Zhang, D; Hussain, Z; Ren, C; Bai, Y; Zheng, X. 2019. Association between meat color of DFD beef and other quality attributes. Beijing, CN. *Revista Meat Science*. p 3-4.

- RTE INEN 056 (Reglamento técnico ecuatoriano). 2011. Carne y productos cárnicos. (En Línea). EC. Consultado 18 de oct 2019. Formato PDF. Disponible en [http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/cfdf5e0f9fe8566c032579de005f938a/\\$FILE/Resoluci%C3%B3n%20N%C2%B0%2011183-2011.pdf](http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/cfdf5e0f9fe8566c032579de005f938a/$FILE/Resoluci%C3%B3n%20N%C2%B0%2011183-2011.pdf)
- Labajo, E. 2017. El Método Científico (I) Generalidades. (En Línea). EC. Consultado 20 de oct 2019. Formato PDF. Disponible en <https://www.ucm.es/data/cont/docs/107-2017-02-08-El%20Método%20Científico%20I.pdf>
- Lonergan, S; Marple, D; & Topel, D. (2019). Meat microbiology and safety . Revista The Science of Animal Growth and Meat Technology. Iowa, US. Vol 2. p 183-204.
- Martins, R; Nedel, F; da silva, A; Colepicolo, P; de pereira, C; Lund, R; Guimarães, V. (2018). Macroalgae Extracts From Antarctica Have Antimicrobial and Anticancer Potential. Frontiers in Microbiology. São Paulo, BR Vol 9. p 1-10.
- McGraw, H. 2013. Biocida. (En Línea). EC. Consultado 20 de oct 2019. Formato PDF. Disponible en <https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448183886.pdf>
- MAGAP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca). 2013. Ecuador es autosuficiente para cubrir demanda nacional de carne bovina. (En Línea). EC. Consultado 20 de oct 2019. Formato PDF. Disponible en https://www.agroindustria.gob.ar/sitio/areas/bovinos/informacion_interes/informes_historicos/_archivos//000002=Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador/000008-Estudio%20del%20mercado%20c%C3%A1rnico%20de%20Ecuador.pdf
- Morales, E. 2019. Identificación de Macroalga. (Entrevista). Calceta-Manabí. EC, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

- Mouritsen, O; Rhatigan, P; Pérez, J. (2018). World cuisine of seaweeds: science meets gastronomy. *Revista Gastronomy and Food Science Ireland, UK*. Vol 14. p 55-67.
- Neveen, A; Nouf, A; Ibraheem, M; Reem, M; Manal, M. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles by using of the marine brown alga *Padina pavonia* and their characterization. *Saudi Journal of Biological Sciences*. AlKharj, SA. Vol 26. p 1-9.
- Nooshin, N; Sravanthi, B; Barba, F; Lorenzo, J; COX, R; Mallikarjunan, K; Roohinejad, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready to eat meat products. *Revista Meat Science*. Manitoba, Canada. Vol 145. p 245-255.
- Nouf, A; Amani, S; Mohamed, Z; & Saleh, A. (2018). Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Laurencia catarinensis*, *Laurencia majuscula* and *Padina pavonica* extracts. *Saudi Pharmaceutical Journal*. AlKharj, SA. Vol 26 . p 44-52.
- INEN (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normativas) 1336. 2010. Carne y productos cárnicos. Conservas de carne. Requisitos. (En Línea). EC. Consultado 15 de Sep 2019. Formato PDF. Disponible en <https://ia801901.us.archive.org/33/items/ec.nte.1336.2010/ec.nte.1336.2010.pdf>
- INEN (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normativas) 1338. 2012. Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, Productos cárnicos curados-madurados y Productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos. (En Línea). EC. Consultado 14 de Sep 2019. Formato PDF. Disponible en <https://archive.org/details/ec.nte.1338.2012/mode/2up>
- INEN (Instituto Nacional Ecuatoriano de Normativas) 1529-5. 2006. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesofilos. (En Línea). EC. Consultado 14 de Sep 2019. Formato PDF. Disponible en

<https://ia601900.us.archive.org/4/items/ec.nte.1529.5.2006/ec.nte.1529.5.2006.pdf>

O' Connor, K. (2017). *Seaweed A Global History*. 1 ed. Londres. REAKTION BOOKS. p 14

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura). 2017. EL ESTADO MUNDIAL DE LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN APROVECHAR LOS SISTEMAS ALIMENTARIOS PARA LOGRAR UNA TRANSFORMACIÓN RURAL INCLUSIVA. (En Línea). EC. Consultado 14 de Oct 2019. Formato PDF. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-l7658s.pdf>

Plaza, M. (2010). *Búsqueda de nuevos ingredientes funcionales naturales procedentes de algas*. Tesis. Dr. Ciencia y Tecnología de los Alimentos. UAM. Madrid, ES. p 146.

Prado, L. (2014). FACTORES QUE INFLUYEN EN CARNE FRESCA Y PROCESADA. pdf. (En Línea). EC. Consultado 14 de Ago 2019. Formato PDF. Disponible en <http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/lapb/MicroCARNES.pdf>

Resédiz, C; Ramírez, B; Guerrero, L. 2018. EMPAQUE PARA LA CONSERVACIÓN DE CARNE PRODUCTOS CÁRNICOS. Revista AGROPRODUCTIVIDAD. Ciudad de México, MX Vol . p 10-16.

Ríos , F; Acosta, D. (2008). Sacrificio humanitario de ganado bovino e inocuidad de la carne. Revista NACAMEH. Culiacán- Sinaloa, MX Vol 2 .p 106-123.

Robin, A; Chavel, P; Chemodanov, A; Israel, A; Golberg, A. (2017). Diversity of monosaccharides in marine macroalgae from the Eastern Mediterranean Sea. Revista Algal Research. Tel Aviv, IL. Vol 28. p 118-127.

Rodríguez, A., & Pérez, A. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. Revista EAN. Artemisa, CU. Vol 82. p 179-200.

- Santhanam, A., Sugathan, J., & Seghal, G. (2008). Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. *Revista SpringerLink. Tiruchirapalli- Tamil Nadu, IN. Vol 58. p 535-541.*
- Schultz, A. (2013). MEAT PRODUCTS ADDED WITH ALGAE, IMPLICATIONS ON LIPOPROTEIN METABOLISM, ANTIOXIDANT STATUS AND LIVER DAMAGE PROTECTION. TESIS. DR. Nutrición y Bromatología I. UCM. Madrid, ES. p 8.
- Singh, R; Bhaskar, T; & Balagurumurthy, B. (2014). Hydrothermal Upgradation of Algae into Value-added Hydricarbons. *Revista Biofuels From Algae, Dehradun, IN. Vol 11. p 235-260.*
- Soto, Z; Pérez, L; Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en colombia. *Revista Saluduninorte. Barranquilla, CO. Vol 32. p 105-122.*
- Vásquez, G. (2007). Estudio del Efecto de la Reducción de la Actividad de Agua, pH y Adición de Ácidos Orgánicos en el Crecimiento de Escherichia coli en Filetes de Res Almacenados a Temperatura Ambiente. TESIS. Ing. ALIMENTOS. ESPOL. Guayaquil, EC.p 57-59.
- Quitral, V; Morales, C; Sepúlveda, M; Schwartz, M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Santigado, CH. Vol 39. p 196-202.*

ANEXOS

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527	Fecha de recibido:	17/02/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“ Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas parda <i>Phaeophyta padina</i> ”	Fecha de análisis:	17/02/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de reporte:	19/02/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de muestreo:	17/02/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T1=(0% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	4.3×10^2	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	2.3×10^2	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.9×10^5	NTE INEN 1529-5
T2=(0% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1×10^4	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	1.1×10^3	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.6×10^5	NTE INEN 1529-5
T3=(0,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	4.6×10^3	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	1.1×10^2	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.9×10^5	NTE INEN 1529-5
T4=(0,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1×10^4	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	1.1×10^3	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.2×10^5	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.

TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA**OFICINAS CENTRALES:**

10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rectorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA

Sitio El Limón
Telef: 593 05 686103

Anexo 1. Resultados microbiológicos del primer muestreo

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 2 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527	Fecha de recibido:	17/02/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“ Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas parda <i>Phaeophyta padina</i> ”	Fecha de análisis:	17/02/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de reporte:	19/02/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de muestreo:	17/02/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T5=(1% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	9.3 x 10 ²	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.4 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T6=(1% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	2.1 x 10 ³	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.0 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T7=(1,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	4.6 x 10 ³	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	9.3 x 10 ²	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.0 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T8=(1,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	7.5 x 10 ²	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.9 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados válidos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.
TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA

OFICINAS CENTRALES:
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rectorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA
 Sitio El Limón
 Telef: 593 05 686103

Anexo 2. Resultados microbiológicos del primer muestreo

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527		
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas parda <i>Phaeophyta padina</i> ”	Fecha de recibido:	26/02/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de análisis:	26/02/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de reporte:	28/02/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Fecha de muestreo:	26/02/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
		Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T1=(0% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	2.0×10^2	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.6×10^5	NTE INEN 1529-5
T2=(0% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	2.8×10^2	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.0×10^5	NTE INEN 1529-5
T3=(0,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	2.3×10^2	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.9×10^5	NTE INEN 1529-5
T4=(0,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	4.6×10^3	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	7.0×10^1	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.6×10^5	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.

TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA

OFICINAS CENTRALES:
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rectorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA
 Sitio El Limón
 Telef: 593 05 686103

Anexo 3. Resultados microbiológicos del segundo muestreo

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 2 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527	Fecha de recibido:	26/02/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas pardas <i>Phaeophyta padina</i> ”	Fecha de análisis:	26/02/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de reporte:	28/02/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de muestreo:	26/02/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T5=(1% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.5 x 10 ³	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	1.9 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T6=(1% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	4.0 x 10 ¹	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.4 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T7=(1,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.0 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T8=(1,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	9.0 x 10 ¹	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.5 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.
TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA

OFICINAS CENTRALES:

10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rektorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA

Sitio El Limón
 Telef: 593 05 686103

Anexo 4. Resultados microbiológicos del segundo muestreo

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527	Fecha de recibido:	25/03/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas pardas <i>Phaeophyta padina</i>”	Fecha de análisis:	25/03/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de reporte:	27/03/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de muestreo:	25/03/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T1=(0% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.3 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T2=(0% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.5 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T3=(0,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.9 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T4=(0,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	9.0 x 10 ¹	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.7 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados válidos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.
TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA

OFICINAS CENTRALES:
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rectorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA
 Sitio El Limón
 Telef: 593 05 686103

Anexo 5. Resultados microbiológicos del tercer muestreo

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 2 de 2	
CLIENTES:	María Lorena Montesdeoca Rivera	Nº DE ANÁLISIS:	24
DIRECCIÓN:	CAMPUS POLITÉCNICO		
TELEFONO:	0998356527	Fecha de recibido:	25/03/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	“Carne de res con concentraciones probiótica a partir del extracto de algas parda <i>Phaeophyta padina</i> ”	Fecha de análisis:	25/03/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	8	Fecha de reporte:	27/03/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 150 g de capacidad	Fecha de muestreo:	25/03/2020
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadores

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T5=(1% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.0 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T6=(1% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.5 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T7=(1,5% probiótico + 4°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	2.7 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5
T8=(1,5% probiótico + 6°C)	Determinación de Coliformes totales	NMP/g	1.1 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-6
	Determinación de <i>Escherichia coli</i>	NMP/g	Ausencia	NTE INEN 1529-8
	Recuentos de Aerobios mesófilos	UFC/g	3.5 x 10 ⁵	NTE INEN 1529-5

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.
TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIA

OFICINAS CENTRALES:
 10 de agosto No. 82 y Granda Centeno
 Telef: 593 05 685156 Telefax: 593 05 685134

www.espam.edu.ec
rectorado@espam.edu.ec

CAMPUS POLITÉCNICO CALCETA
 Sitio El Limón
 Telef: 593 05 686103

  	
REPUBLICA DEL ECUADOR ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABI MANUEL FÉLIX LÓPEZ	
LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA DEL AREA AGROINDUSTRIAL	
NOMBRE DE ESTUDIANTES:	Montesdeoca Rivera María Lorena
DIRECCIÓN:	CALCETA
FECHA DE RECEPCION DE MUESTRAS:	05/02/2020
FECHA DE ELABORACIÓN DE LAS MUESTRAS:	11/02/2020 – 17/02/2020 - 26/02/2020 – 11/03/2020
MUESTRAS ENVIADAS:	24

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA: CARNE DE RES CON EXTRACTO DE ALGAS PARDAS “<i>Phaeophyta padina</i>”							
PARÁMETRO	UNIDAD	DÍAS DE TOMA DE MUESTRA	°C	PORCENTAJES DE EXTRACTO			
				0%	0.5%	1.0%	1.5%
pH	----	DÍA 1	4°C	5,83	6,08	6,14	6,22
Acidez	%			0,11	0,08	0,09	0,09
Humedad	%			30,21	31,59	34,28	36,71
pH	----	DÍA 1	6°C	6,18	6,12	6,40	6,13
Acidez	%			0,12	0,09	0,15	0,10
Humedad	%			25,14	30,16	29,67	30,69
pH	----	DÍA 15	4°C	6,42	6,38	6,35	6,33
Acidez	%			0,14	0,11	0,11	0,10
Humedad	%			28,28	26,93	31,99	27,53
pH	----	DÍA 15	6°C	6,53	7,21	6,90	7,31
Acidez	%			0,09	0,10	0,10	0,10
Humedad	%			26,12	27,56	34,35	25,37
pH	----	DÍA 30	4°C	6,17	6,31	6,36	6,22
Acidez	%			0,09	0,08	0,08	0,09
Humedad	%			29,39	27,73	26,90	24,22



pH	----	DÍA 30	6°C	7,25	7,06	7,08	6,97
Acidez	%			0,14	0,14	0,13	0,13
Humedad	%			27,42	27,77	30,60	25,58



Ing. Jorge Teca Delgado
TÉCNICO DEL LABORATORIO

Anexo 8. Resultados bromatológicos



Anexo 9. Recolección de algas



Anexo 10. Liofilización del alga (*Phaeophyta padina*)



Anexo 11-A. Pesado del alga



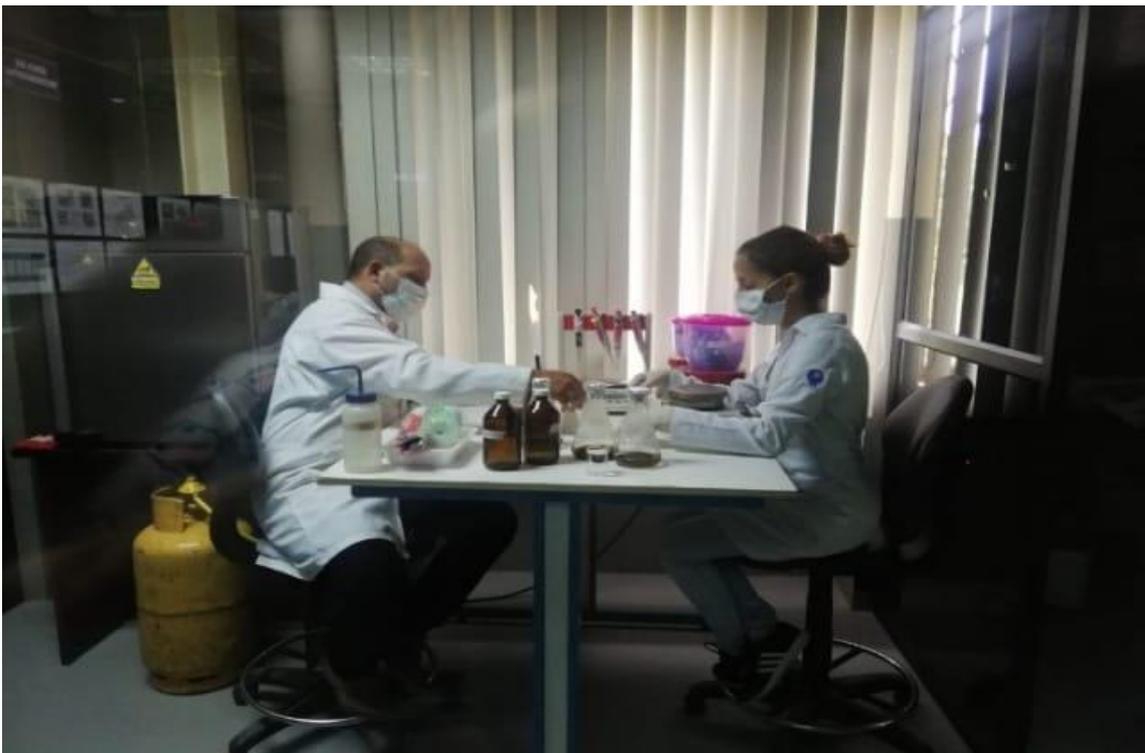
Anexo 11-B. Adición de solución de ClNa 0.85%



Anexo 11-C. Agitación de los extractos proteicos



Anexo 11-D. Filtrado del extracto proteico de alga



Anexo 12. Adición de los diferentes porcentajes de extractos en la carne de res



Anexo 12-A. Temperatura de refrigeración 4 y 6°C



Anexo 12-B. Análisis bromatológicos



Anexo 12-C. Análisis microbiológicos

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Aerobios Mesófilos es la misma entre las categorías de tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,916	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de E.coli es la misma entre las categorías de tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,924	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,0

Anexo 13. Análisis microbiológicos

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de Bloque.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,013	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Acidez es la misma entre las categorías de Bloque.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,035	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de E.Coli es la misma entre las categorías de Bloque.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,174	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Anexo 14. Resumen de prueba de hipótesis