

Evaluación microbiológica y sensorial de un embutido sin nitritos con fibra y conservantes naturales

María Flores¹; Fernando Yanza²; Lisette Hidalgo^{3*}

Resumen

El achiote (*Bixa orellana L.*) y el ácido ascórbico se han utilizado para reemplazar el nitrito de sodio, como antioxidante y agente antimicrobiano. El objetivo de este estudio fue evaluar las características organolépticas y estabilidad microbiológica de un embutido con fibra realizado bajo el procedimiento de mortadela tipo extra con adición de achiote y ácido ascórbico eliminando el nitrito de sodio de la formulación, para lo cual se trabajó con 4 tratamientos T1(0,1%;0,45g/Kg), T2(0,1%;0,75 g/Kg), T3(0,5%;0,45 g/Kg) y T4(0,5%;0,75 g/Kg) respectivamente. Para el estudio sensorial se realizó una encuesta con escala hedónica de 5 puntos dirigida a 80 consumidores, los datos se evaluaron realizando análisis de varianza y gráfico de medias. Para la estabilidad microbiológica se analizaron coliformes fecales, *Escherichia coli*, Aerobios mesófilos y mohos y levaduras cada 8 días. Se encontró que T2 tuvo mayor aceptación sensorial seguido de T4, contenidos de mayor ácido ascórbico. Se ajustó la formulación de estos tratamientos, realizando una segunda catación con 7 jueces dando mayor aceptación a T2. Los resultados microbiológicos indicaron que el ácido ascórbico benefició el control microbiano del producto, siendo T2 el que presentó mejor estabilidad manteniéndose dentro de la norma INEN 1338 durante un periodo de 12 días.

Palabras clave: Achiote, ácido ascórbico, sin curar.

Microbiological and sensory evaluation of a nitrite-free sausage with fiber and natural preservatives

Abstract

Annatto (*Bixa orellana L.*) and ascorbic acid have been used to replace sodium nitrite, as an antioxidant and antimicrobial agent. The objective of this study was to evaluate the organoleptic characteristics and microbiological stability of a sausage with fiber made under the extra-type mortadella procedure with the addition of annatto and ascorbic acid, eliminating sodium nitrite from the formulation, for which we worked with 4 treatments. T1(0.1%;0.45 g/Kg), T2(0.1%;0.75g/Kg), T3(0.5%;0.45g/Kg) and T4(0.5%;0.75g/Kg) respectively. For the sensory study, a survey was carried out with a 5-point hedonic scale addressed to 80 consumers, the data was evaluated by performing analysis of variance and means graph. For microbiological stability, fecal coliforms, *Escherichia coli*, mesophilic aerobes and molds and yeasts were analyzed every 8 days. It was found that T2 had higher sensory acceptance followed by T4, higher ascorbic acid content. The formulation of these treatments was adjusted, carrying out a second tasting with 7 judges, giving greater acceptance to T2. The microbiological results indicated that ascorbic acid benefited from the microbial control of the product, with T2 being the one that presented the best stability, remaining within the INEN 1338 standard for a period of 12 days.

Keywords: Achiote, ascorbic acid, uncured.

Recibido: 3 de marzo de 2022

Aceptado: 31 de julio de 2022

¹ Estudiante de Procesamiento de Alimentos del Instituto Superior Tecnológico Crecermás. Sucumbíos, Ecuador. mariaflores@istec.edu.ec

² Estudiante de Procesamiento de Alimentos del Instituto Superior Tecnológico Crecermás. Sucumbíos, Ecuador. jimmyyanza@istec.edu.ec

^{3*} MSc. Ingeniería Agroindustrial. Docente del Instituto Superior Tecnológico Crecermás. Sucumbíos, Ecuador. lissetehidalgo@istec.edu.ec

*Autor de correspondencia. lissetehidalgo@istec.edu.ec

I. INTRODUCCIÓN

Los embutidos son productos cárnicos elaborados con carne molida principalmente de cerdo, res o aves, condimentada con hierbas aromáticas y diferentes especias como pimienta, ajo, tomillo, etc. Su característica principal es que están formulados con aditivos de origen artificial como son los nitratos, nitritos, entre otros, que ayudan a las características organolépticas, rendimiento y además evita que se formen bacterias o agentes nocivos para la salud. De los aditivos químicos es el nitrito el más controversial porque se utiliza como precursor de color y antimicrobiano, lo ideal sería que todo el nitrito reaccione con la mioglobina y se genere el pigmento nitrosomioglobina que es el color rosado estable característico de estos productos. Sin embargo, no todo reacciona y queda nitrito residual que en alta dosis puede ocasionar metahemoglobinemia que es mortal y en bajas dosis combinada con presencia de un medio ácido como el estómago donde hay iones H^+ se transforma en ácido nitroso. El ácido nitroso puede unirse a aminas secundarias y terciarias como la prolina o dimetilamina provenientes naturalmente de carnes formando nitrosopirrolidina o nitrosodimetilamina las cuales son nitrosaminas con efecto carcinogénico, inclusive la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (2015) indicó que existe evidencia suficiente del efecto carcinógeno de las nitrosaminas y que existe mayor sensibilidad en niños, por lo que actualmente la sociedad enfrenta un desafío respecto a seguridad alimentaria, con el fin de asegurar alimentos sanos para el futuro y el desarrollo de producto novedosos y el aprovechamiento de materias primas poco utilizadas (Vargas y González, 2011).

Por esta razón, sustitutos vegetales se encuentran disponibles en el mercado de algunos países que son utilizados de manera controlada para fabricar cárnicos orgánicos. Por ejemplo, en Francia se ha propuesto una solicitud de prohibición de nitritos en productos cárnicos de manera paulatina hasta 2025 (Cadoux, 2021). En los últimos años se ha venido estudiando algunos sustitutos de nitritos en cárnicos, se han utilizado apio, lechuga y betabel que tienen entre 1500 y 1800 ppm de nitratos, los cuales requieren de un cultivo iniciador (*S. xylosus* y *S. carnosus*) que transforme a nitritos y puedan ejercer su función en el producto (Montiel et al. 2013). No obstante, eliminar este componente de los productos cárnicos, implica un alto riesgo de contaminación microbiana y expone a graves enfermedades la

salud del consumidor, además de los efectos en las características organolépticas y la reducción del tiempo de estabilidad del producto. Por tal motivo, se investigó para buscar una alternativa al uso de aditivos químicos en embutidos sin exponer al consumidor y permitiendo el desarrollo de características sensoriales aceptables. Se utilizó la semilla de achiote que ha sido considerada tradicionalmente como medicinal y colorante cuyo pigmento naranja rojo se llama bixina (Camacaro et al., 2018), adicionalmente se ha demostrado que posee propiedades conservantes en productos cárnicos Ferrufino (2017) y que inhibe *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens* a partir de una concentración de 0,08 a 0,16% (Carvajal et al., 2019, p. 20).; también se empleó ácido ascórbico que es una vitamina hidrosoluble y en el estudio de Ayala et al. (2016) redujo la presencia de nitrito residual en cárnicos. En la presente investigación se evaluó el efecto del achiote y ácido ascórbico en las características organolépticas y estabilidad microbiológica de un embutido de pollo con fibra sin nitritos.

2. Metodología

Se empleó un tipo de investigación evaluativa que es “el proceso para determinar hasta qué punto los objetivos propuestos por el programa han sido alcanzados” (Correa et al, 2002, p. 89), con diseño experimental factorial 2^2 que de acuerdo a Gutiérrez y Vara, (2008) “es el conjunto de puntos experimentales o tratamientos que pueden formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores”, Pina (1993) menciona que este tipo de experimentos “permiten estudiar el efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable”. El producto se realizó mediante el procedimiento utilizado por Hidalgo (2017) para mortadela tipo extra, se utilizó carne de pollo molida, mezclado con el resto de ingredientes y aditivos a menos de $10^{\circ}C$, moldeado 500g, cocción en inmersión ($80-92^{\circ}C$, 3 horas), refrigeración 12 horas, desmoldado y sobre-empacado (doble funda).

Se evaluaron como variables independientes achiote (%) y ácido ascórbico (g/kg) y variables dependientes color, olor, sabor, textura y estabilidad microbiológica de los microorganismos aerobios mesófilos, coliformes fecales, *Escherichia coli* y mohos y levaduras exigidos por la normativa INEN para asegurar un producto

inocuo. Se utilizó la encuesta como técnica de recolección de datos mediante fichas de catación con una escala hedónica de 5 puntos (1= me gusta mucho, 2= me gusta, 3= ni me gusta ni me disgusta, 4=me disgusta, 5=me disgusta mucho) aplicada a 80 personas, al respecto Espinosa (2007): “El número de participantes en cada prueba debe ser grande para minimizar la variación propia de la subjetividad de las respuestas”, en cuanto a la calidad microbiológica del producto se realizaron los análisis en el laboratorio del Instituto Superior Tecnológico Crecermás siguiendo los procedimientos dictados en las normativas INEN 1529-5, INEN 1529-10, INEN 1529-8 y COVENIN 1104.

Para la evaluación de las respuestas sensoriales, se determinó la media y se realizó una comparación de muestras múltiples para los 4 tratamientos, generado con el software STATGRAPHICS 5.1 mediante análisis de varianza ANOVA-Test de Fisher y gráficos de medias. A partir de las respuestas sensoriales de la catación y análisis microbiológicos de los 4 tratamientos se decidió realizar un ajuste en la formulación a aquellos que obtuvieron medias más cercanas a 1 (me gusta mucho) realizando una nueva prueba sensorial con 7 jueces seleccionados. Para el análisis estadístico, se compararon las medias de dos muestras a través de análisis de varianza Kolmogorov-Smirnov y gráficos de distribución de frecuencias. En la tabla 1 se puede apreciar la matriz de tratamientos utilizada para la investigación.

Tabla 1. Matriz de tratamientos

Tratamientos	Niveles	Combinaciones
Achiote %	0,1	T1: 0,1- 0,45
	0,5	T2: 0,1- 0,75
Ácido ascórbico g/kg	0,45	T3: 0,5- 0,45
	0,75	T4: 0,5- 0,75

3. Resultados y discusión

Análisis de las características organolépticas de un embutido de pollo sin nitritos con fibra y conservantes naturales.

El resumen estadístico, indicó P-valor (0,0000) del test de Fisher por tanto existe diferencia estadísticamente significativa entre las variables analizadas de los 4 tratamientos.

Color

Se observa en la figura 1 las medias de los 4 tratamientos, siendo los tratamientos 1 y 3 los que

obtuvieron medias más lejanas a 1 (me gusta mucho), dichos tratamientos tienen la particularidad de menor ácido ascórbico (0,45 g/kg), siendo que los tratamientos 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) y 4 (2 (Achiote 0,5% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) con medias más cercanas a 1, de igual forma se puede visualizar que el tratamiento 2 obtuvo mayor preferencia por parte de los jueces frente a los otros tratamientos. Al respecto, Valadez et al (2020) quien realizó una evaluación sensorial a diferentes productos probando las cantidades de 0.2% a 0.5% de achiote, quienes mostraron nivel de agrado semejante entre los jueces, por lo que no pudo detectarse diferencias significativas. Lo mismo sucedió con el color y el sabor, cantidades muy parecidas a las evaluadas en la presente investigación. Igualmente, Ayala et al., (2016) menciona “las tres formulaciones donde se incorporó el ácido ascórbico existió menos formación de colores y el color predominante y de mayor intensidad fue el rosado”.

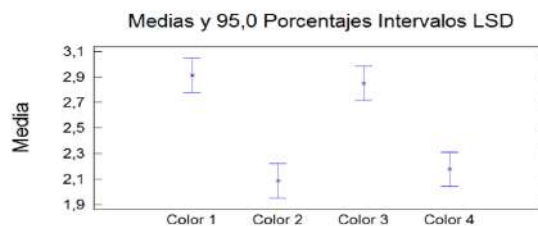


Figura 1. Gráfico de medias-color

Olor

En la figura 2 se puede observar el gráfico de medias para la variable olor de los 4 tratamientos, siendo el tratamiento 4 (Achiote 0,5% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) el que obtuvo una media más cercana a 1 (me gusta mucho), el cual es indicativo de que tuvo mayor aceptación por parte de los jueces afectivos, de igual forma el tratamiento 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) obtuvo una media cercana al tratamiento 4, lo que se podría interpretar que el ácido ascórbico ayuda en la aceptación de esta característica sensorial. En la investigación realiza por Reyes (2013) encontró que la adición de ácidos mejora el desarrollo del olor en productos cárnicos. En este mismo sentido la nutricionista Villafañe (2021) afirma que cuando se emplean grandes cantidades de achiote, provoca un aroma florar. De hecho, es común encontrarlo en alimentos.

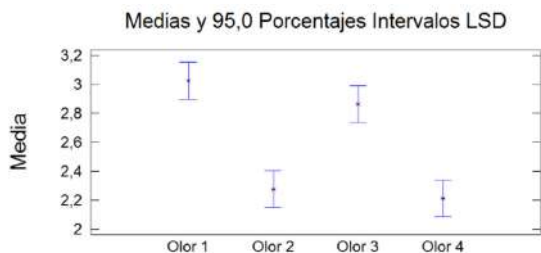


Figura 2. Gráfico de medias-color

Sabor

En la figura 3 se puede observar las medias de los 4 tratamientos siendo los tratamientos 1 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 0,45 g/kg) y 3 (Achiote 0,5% y Ácido ascórbico 0,45 g/kg), los que obtuvieron medias similares respecto a la variable sabor, dado a que los dos tratamientos tienen la misma cantidad de ácido ascórbico se asume que el desarrollo de esta característica está influenciada por dicho compuesto, ante lo expuesto el tratamiento 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) obtuvo la media más cercana a 1 (me gusta mucho) seguido por el tratamiento 4 (Achiote 0,5 % y Ácido ascórbico 0,75 g/kg). En este contexto Muñoz (2014) menciona que los ácidos son utilizados por sus propiedades antioxidantes, acidulantes y saborizantes de alimentos. En la investigación desarrollada por Cepero y Bastías (2016) manifiestan que la incorporación de ácido ascórbico mejoró la calidad nutricional sin afectar los atributos organolépticos.

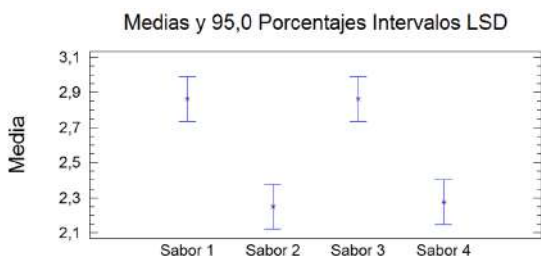


Figura 3. Gráfico de medias-color

Textura

La figura 4 muestra que el tratamiento 2 (Achiote 0,1 % y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) obtuvo una media más cercana a 1, siendo el tratamiento más aceptado respecto a la variable textura por parte de los jueces, lo cual es un indicativo que se logró una correcta emulsión en el producto.

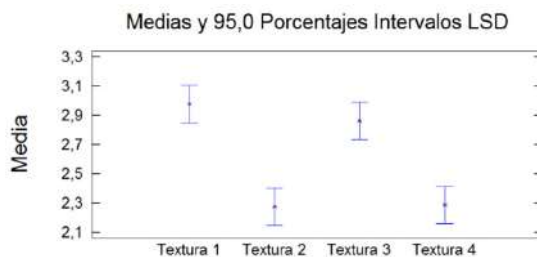


Figura 4. Gráfico de medias- textura

En función de lo antes descrito, se encontró que las formulaciones con mayor concentración de ácido ascórbico presentaron mayor aceptación sensorial, razón por la cual se procedió a realizar un ajuste a la formulación base para mejorar las características organolépticas, a dichas muestras se les realizó análisis sensorial con 7 jueces semientrenados.

Evaluación de características sensoriales de fórmula ajustada.

A través de la prueba Kolmogorov- Smirnov P-valor indicó que no existe diferencia estadística significativa en las respuestas sensoriales entre los tratamientos 2 y 4.

Tabla 2. Resumen estadístico fórmula ajustada

Característica	Kolmogorov-Smirnov p-valor
Color	0,55
Olor	0,55
Sabor	0,20
Textura	0,55

En la figura 5 se puede observar la distribución de frecuencias sobre la aceptación de las variables estudiadas:

- Olor: se encontró para el tratamiento 2 una mayor distribución de datos ubicados en los niveles 1 (me gusta mucho) y 2 (me gusta), mientras que para el tratamiento 4 la mayor cantidad de datos se encuentra en el nivel 3 (ni me gusta ni me disgusta).
- Color: para el tratamiento 2 la variable muestra una distribución más uniforme en los niveles 1, 2 y 3, mientras que el tratamiento 4 indica una mayor concentración de datos en el nivel 2 (me gusta).

- Sabor: el tratamiento 2 concentró una distribución de datos en los niveles 1 (me gusta mucho) y 2 (me gusta) en la escala hedónica, indicando mayor aceptación por parte de los jueces.
- Textura: los tratamientos analizados con formulación ajustada indica una distribución

de datos para el tratamiento 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 1 g/kg) en el nivel 1 en la escala hedónica, a diferencia del tratamiento 4 (Achiote 0,5% y Ácido ascórbico 1g/kg) concentra una distribución en el nivel 3 (ni me gusta ni me disgusta).

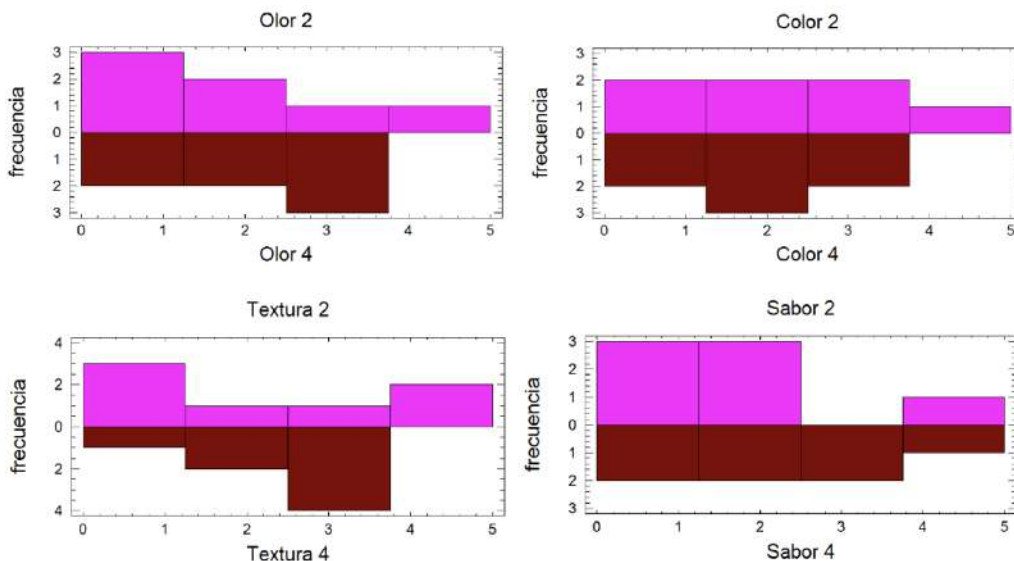


Figura 5. Gráfico de distribución de frecuencias fórmula ajustada.

Evaluación de la aceptación sensorial de los embutidos sin nitritos

El resumen muestra P-Valor del test de Fisher es menor a 0,05 indica que, si existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los 4 tratamientos, con un nivel de 95 % de confianza. Es decir que el consumidor si percibió diferencias entre los 4 tratamientos respecto a la variable aceptación del producto. En el gráfico de medias de la figura 6 se puede observar que para la variable aceptación el tratamiento 2 (Achiote 0,1 % y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) obtuvo una media más cercana a 1, siendo el tratamiento más aceptado respecto a la variable estudiada por parte de los catadores.

Evaluación de aceptación sensorial de las fórmulas ajustadas

En el resumen estadístico de los tratamientos que fueron más aceptación y cota fórmula fue ajustada se encontró que la variable aceptación de los tratamientos obtuvo medias iguales. En cuanto que para P-valor a través de la prueba Kolmogorov-Smirnov indicó valores mayores a 0,05 por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las dos distribuciones para un nivel de confianza del 95%. Es decir, los catadores no encontraron diferencias entre los 2 tratamientos respecto a la variable aceptación. En la figura 7 se encuentra una distribución de datos para el tratamiento 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 1 g/kg) en los niveles 1 (me gusta mucho) y 2 (me gusta), mientras que para el tratamiento 4 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 1 g/kg) hay mayor distribución de datos en los niveles 1 (me gusta mucho) y 3 (ni me gusta ni me disgusta). Ante lo mencionado, aunque la diferencia no es significativa se puede decir que el tratamiento 2 obtuvo mayor aceptación por parte de los jueces.

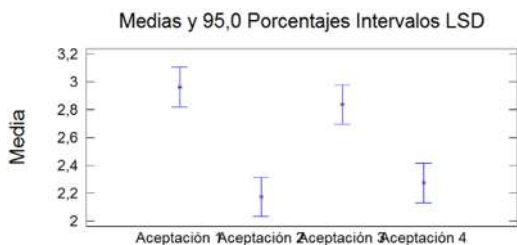


Figura 6. Gráfico de medias para aceptación.

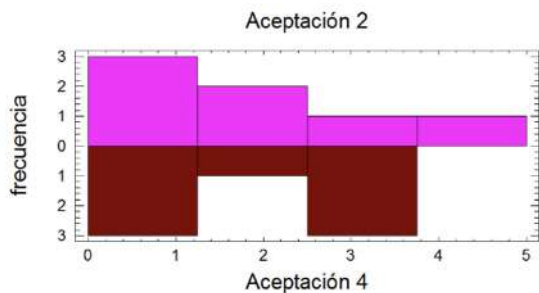


Figura 7. Gráfico de distribución de frecuencias fórmula ajustada aceptación

Comparación de la aceptación sensorial de la formulación ajustada respecto a la formulación con nitritos.

Para la comparación de las formulaciones se procedió a convertir las medias de tal modo que estuviesen en la misma escala, en este caso del 1 al 5, siendo 5 la menor aceptación. Tal como se observa en la tabla 3. Para la comparación de medias, la utilizada en esta investigación se invirtieron sus valores de tal modo que 5 represente me gusta mucho y 1 me disgusta mucho, en el caso de la escala hedónica de Hidalgo, 2017 utilizó una valoración de 10 puntos siendo el número 10 de mayor aceptación, así que se dividió para 2 la media obteniendo un valor de 3,41.

Para dicha comparación cabe aclarar que el lugar donde se realizó la investigación de Hidalgo (2017) fue en Venezuela, y la valoración del producto puede estar influenciada por la cultura alimenticia y costumbres de los habitantes y a raíz de la pandemia las personas empezaron a valorar más los productos cárnicos sin conservantes químicos.

Tabla 3. Tabla de medias para fórmula con nitritos vs fórmula ajustada

Aceptación	Fórmula con nitritos	Fórmula ajustada
	Media 3,41	Media 4

Evaluación de la estabilidad microbiológica de un embutido de pollo sin nitritos con fibra y adición de conservantes naturales.

Análisis de *Escherichia coli*

En el resultado del análisis para *Escherichia coli* de los 4 tratamientos en el día 1 se puede decir que los tratamientos se encontraron <0,30 NMP/g (número más probable sobre gramos), mientras que en el día 7 se puede verificar que sobrepasan el límite permisible

de INEN 1338 1×10^3 UFC/g. Sin embargo, ante lo mencionado en la tabla 4 se puede observar que T4 presentó crecimiento de colonias menor respecto a los otros tratamientos, siendo el tratamiento con mayor concentración de Achiote y ácido ascórbico. Por su parte Alovera (2018) encontró que el extracto de Achiote contiene carotenoides con actividad antioxidante. De igual forma Molina (2017) demostró que los microorganismos *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* son más susceptibles a los extractos del achiote probablemente a los esteroides y antocianinas presentes. Así mismo Bastidas *et al.*, (2017) citan a Martínez, Molina y Boucort (1997) quienes demostraron la actividad antimicrobiana del ácido ascórbico sobre productos cárnicos, en cepas de *E. coli*.

Tabla 4. Resultados microbiológicos *Escherichia coli*

	Día 1	Día 7	INEN No 1338
Tratamiento 1	<0,30 NMP/g (-)	$6,1 \times 10^3$ UFC/g	1×10^3
Tratamiento 2	<0,30 NMP/g (-)	$4,6 \times 10^3$ UFC/g	
Tratamiento 3	<0,30 NMP/g (-)	$4,1 \times 10^3$ UFC/g	
Tratamiento 4	<0,30 NMP/g (-)	$9,7 \times 10^2$ UFC/g	

Aerobios mesófilos.

Según Vanderzant y Splittstoesser (1992), “se agrupan en dos géneros importantes: *Bacillus* y *Sporolactobacillus* formadores de endosporas. Las especies encontradas en los alimentos son generalmente extensas y no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano”. “Son utilizados como indicadores de la calidad en el procesamiento”. (Salgado, 2002). Bastidas *et al.*, (2017) en su estudio del efecto antimicrobiano de la vitamina C determinó que aquellos tratamientos que recibieron 5000 ppm y 1000 ppm de ácido ascórbico presentaron mayor control en la proliferación de bacterias aerobias, a su vez el autor cita a Xong, Ho y Shahidi (2012) que afirmaron que el ácido ascórbico inhibe el crecimiento de bacterias aeróbicas en productos cárnicos. Así mismos, Vargas y González (2011) exponen que los tratamientos más efectivos al reducir la carga microbiana fueron aquellos que aplicaron el ácido ascórbico pues presenta un recuento total de aerobios más bajo entre todos los desinfectantes. Lo anterior coincide con los resultados de la tabla 5, donde se evidencia un menor crecimiento de aerobios mesófilos en el tratamiento 4 contenido de la mayor concentración de ácido ascórbico y achiote.

Tabla 5. Resultados microbiológicos aerobios mesófilos.

	Día 1	Día 7	INEN No 1338
Tratamiento 1	0,8x10 ¹ UFC/g	3x10 ⁴ UFC/g	
Tratamiento 2	2,9x10 ³ UFC/g	3x10 ⁴ UFC/g	1,0 x 10 ⁷
Tratamiento 3	3x10 ⁴ UFC/g	3,8x10 ⁴ UFC/g	
Tratamiento 4	3x10 ⁴ UFC/g	2,5x10 ⁴ UFC/g	

Coliformes fecales.

De acuerdo con la Agencia de protección ambiental (2002), los coliformes no son considerados como una amenaza para la salud; por el contrario, sirven para indicar la presencia de otras bacterias posiblemente patógenas. Es un indicativo de que los alimentos podrían estar contaminados con heces fecales humanas o de animales. Los microorganismos que provocan enfermedades (patógenos) y que están presentes en las heces causan: diarrea, retortijones, náuseas, cefaleas u otros síntomas. Estos patógenos podrían representar un riesgo de salud muy importante para bebés, niños pequeños y personas con sistemas inmunológicos gravemente comprometidos (Salgado, 2002).

Tabla 6. Resultados microbiológicos coliformes fecales.

	Día 1	Día 7	COVENIN 1944: 1999
Tratamiento 1	No realizado	0,74 NMP/g	
Tratamiento 2	No realizado	0,30 NMP/g	9
Tratamiento 3	No realizado	0,74 NMP/g	
Tratamiento 4	No realizado	0,72 NMP/g	

En el análisis microbiológico para coliformes fecales en día 7 se puede decir que los tratamientos 1 y 3 muestran una similitud con 0,74NMP/g que presentaban menos ácido ascórbico. El tratamiento 2 presentó baja carga 0,30NMP/g, es decir el control microbiológico fue mayor, en este sentido Ponce (2018) afirma que los embutidos elaborados con achiote son aptos para el consumo humano, debido a que ayuda al control de microorganismos patógenos cumpliendo con lo establecido con el reglamento técnico centroamericano para coliformes totales y E. coli. El ácido ascórbico ostenta una extensa actividad antimicrobiana que se amplía a varias especies bacterianas que participan en la alteración de frutas, verduras, hortalizas, carnes e incluso pescados frescos (Mendoza *et al.*, 2016).

Mohos y levaduras.

Según Tortajada *et al.*, (2001), las micotoxinas

son sustancias nocivas para la salud, generadas por el crecimiento de hongos que contaminan los alimentos, la presencia de estas toxinas implican la posible existencia de otras debido a que un solo hongo produce diferentes micotoxinas (Salgado, 2002). En la tabla 7 se puede evidenciar que los tratamientos 2 y 4 presentaron menor crecimiento de mohos y levaduras, dando indicios de que el ácido ascórbico ofrece un efecto antimicrobiano. Por tanto, aunque salen de los límites permisibles para el día 7, se realizan nuevos análisis microbiológicos con una formulación ajustada para estimar el tiempo de duración del producto. De igual forma Bogotá (2019) da a conocer que dentro de los resultados obtenidos en su estudio, identificó que, con la adición de ácido ascórbico, se presenta una disminución estadísticamente significativa del crecimiento microbiano y a su vez, se obtiene un periodo alargado de vida útil del producto.

Tabla 7. Resultados microbiológicos mohos y levaduras

	Día 1	Día 7	COVENIN 1944: 1999
Tratamiento 1	1x10 ² UFC/g	1,70 x 10 ⁴ UFC/g	
Tratamiento 2	1x10 ¹ UFC/g	1,60 x 10 ⁴ UFC/g	1 x 10 ³
Tratamiento 3	1x10 ² UFC/g	1,70 x 10 ⁴ UFC/g	
Tratamiento 4	0,5x10 ¹ UFC/g	1,60 x 10 ⁴ UFC/g	

Mohos y levaduras de formulación ajustada para T2 y T4

En la ejecución de los análisis microbiológicos realizados a un embutido de pollo con fibra, sin nitritos, con aditivos naturales se puede decir que de los 4 tratamientos los más estables fueron T2 y T4 por lo cual se procedió a repetir los análisis con los 2 tratamientos óptimos aumentando la cantidad de ácido ascórbico (1 g/Kg) a la formulación. Respecto a las condiciones fijas se realizó aumento de sal a 2%, tiempo (5 horas) y temperatura (100°C) de cocción para así garantizar la inocuidad del embutido, se fue exigente en la conservación a temperatura 8°C, y se realizó un incremento del vino (5%) para que aporte más color. Se encontró para T2 mohos <10 y en el recuento de levaduras 1,1x10⁴ UFC/g y para T4 mohos <10 y en el recuento de levaduras 8,2x10³. Por tanto, de la repetición de los análisis microbiológicos para mohos y levaduras T2 se mantuvo estable durante 12 días, Canul

et al (2014) atribuye este control microbiológico al aumento del ácido en el producto, mencionan que “este compuesto presenta una acción antimicrobiana, ya que actúa como agente quelante de los iones metales, los cuales son esenciales para el crecimiento microbiano”.

4. Conclusiones.

- Se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre todos los tratamientos que contenían achiote y ácido ascórbico en diferentes concentraciones para las respuestas sensoriales color, olor, sabor y textura. Siendo el tratamiento 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) el que obtuvo medias más cercanas a 1 (me gusta mucho) en los atributos sensoriales color, sabor y textura, mientras el tratamiento 4 (Achiote 0,5 % y Ácido ascórbico 0,75 g/kg) obtuvo mayor puntuación en olor.
- La adición de ácido ascórbico benefició la aceptación de los productos cárnicos, a mayor concentración de ácido ascórbico mayor aceptación de las características organolépticas, en función de esto se realizó ajustes de formulación a T2 y T4 en busca de mejoras en el color y en beneficio de la conservación del producto. Una vez evaluados los atributos sensoriales de estas formulaciones se encontró que aunque el tratamiento 2 presentó mayor aceptación, no existe diferencia estadísticamente significativa entre las respuestas sensoriales de los tratamientos 2 (Achiote 0,1% y Ácido ascórbico 1 g/kg) y 4 (Achiote 0,5 % y Ácido ascórbico 1 g/kg), indicando que cualquiera de los dos productos se podría comercializar y evidenciando que la variación de esas concentraciones de achiote no son percibidas en gran medida por el consumidor.
- Se comparó la aceptación sensorial de T2 con una formulación con nitritos y se encontró que ambos son bien aceptados por los consumidores.
- Los tratamientos que tenían en su formulación mayor cantidad de ácido ascórbico mantuvieron estabilidad microbiológica para *Escherichia coli*, aerobios mesófilos, coliformes fecales, mohos y levaduras. Y el tratamiento con mayor

concentración de ácido ascórbico y achiote T2 se mantuvo estable 12 días en refrigeración.

5. Referencias bibliográficas.

- Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades. (Septiembre de 2015). Nitrito y nitrato. Salud pública- División toxicológica y ciencias de la salud, 2-8. Recuperado de www.atsdr.cdc.gov/es
- Ayala, H., García, C., Sánchez, R., Jirón, Y., y Espinoza, W. (20 de Septiembre de 2016). Efecto de la adición de ácido ascórbico en la degradación de nitratos y nitritos en mortadela. *Revista Ciencia UNEMI*. 9(20), 85-92. Recuperado de <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/238/305>
- Alovera. (3 de Agosto de 2018). Achiote. https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/censi/Achiote_Vademecum.pdf, 1-18.
- Bastidas, J., Urresta, P., y Rcines, Mauricio. (2017). Efecto antimicrobiano de la vitamina c, vitamina e y aceite esencial de romero (*rosmarinus officinalis*) en salchichas de pollo tipo frankfurt. *Industrial Data*, 20(2), 27-36. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81653909004>
- Bogotá, N. (2019). Control de calidad microbiológica y análisis de ácido ascórbico como bioconservante para producto elaborado a base de mango (tesis de pregrado). Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia. Recuperado de <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3614/PROYECTO%20DE%20GRADO%20FINAL-3-70.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cadoux, M. (14 de enero de 2021). Embutidos: ¿hacia una prohibición total de los nitritos para 2025?. *LSA Comercio conectado*. Recuperado de <https://www.lsa-conso.fr/charcuterie-vers-une-interdiction-totale-des-nitrites-d-ici-a-2025,370228>
- Carvajal, B., Ramírez, S., Gaviria, Y y Alzate, J. (1 de abril de 2019). Sustitución de nitritos en un producto cárnico embutido por nabo (*Brassica rapa*) y sustitución parcial de harina de papa (*Solanum*

- tuberosum) por harina de cáscara de mango (Mangifera indica) para la evaluación del desarrollo de color y textura. *Informador Técnico*, 83(1), 19-29. doi: <https://doi.org/10.23850/22565035.1518>
- Camacaro, J., Gómez, J., Jiménez, M., Vega, C., y Manganiello, L. (2018). Un colorante liposoluble de Onoto (Bixa orellana L) como insumo para la industria alimentaria. *Revista Ingeniería UC*, 25(2). Recuperado de <https://www.redalyc.org/journal/707/7075766901/html/>
- Canul, D., Moo, M., y Cruz, M. (2014). Efecto del ácido cítrico sobre la calidad microbiológica de jícama mínimamente procesada. *Ecorfan*, 169-175. Recuperado de https://www.ecorfan.org/handbooks/Ciencias%20de%20la%20Ingenieria%20y%20Tecnologia%20T-V/Articulo_15.pdf
- Cepero, Y., y Bastías M. (Marzo de 2016). La vitamina C como un eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos. *Revista chilena de nutrición*, 43(1), 81-86. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000100012>
- Correa, S., Puerta, A., y Restrepo, B. (Diciembre de 2002). *Investigación evaluativa. Especialización en teoría, métodos y técnicas de investigación social*. Recuperado de <https://institutoprofessionalmr.org/wp-content/uploads/2018/04/Correa-Puerta-Restrepo-2002-Investigacion-Evaluativa.pdf>
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación sensorial de los alimentos*. El Vedado, Ciudad de La Habana Cuba, Editorial Universitaria Recuperado de <https://s47003acacof1f7a3.jimcontent.com/download/version/1463707242/module/8586131883/name/LIBRO%20ANALISIS%20SENSORIAL-1%20MANFUGAS.pdf>
- Ferrufino, P. (Noviembre de 2017). Efecto del reemplazo parcial de nitrito de sodio por achiote (Bixa orellana L.) en las propiedades de salchichas frankfurter (tesis de pregrado). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
- Gutiérrez, H., y Vara, R. (2008). *Análisis y diseño de experimentos*, Punta Santa Fe, México, Editorial Mexicana. https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf
- Hidalgo, L. (Marzo de 2017). Evaluación de las respuestas tecnológicas de un embutido de pollo con adición de fibra (tesis maestría). Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, Cojedes, Venezuela. Recuperado de https://istecec-my.sharepoint.com/personal/lisettehidalgo_istec_edu_ec/_layouts/15/onedrive.aspx?originalPath=aHRocHM6Ly9pc3RIY2VjLW15LnNoYXJlcG9pbmQuY29tLzpmOi9nL3BlcnNvbmlFSL2xpc2VodGVoaWRhbGdvX2lzdGVjX2VkdV9lYy-9Fcy1RMIldjMncyaEZwcGoxVzIEMetyTUJSdII-3NE8yS
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN 1338]. (abril de 2012). Carne y productos cárnicos. productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados - madurados y productos cárnicos precocidos - cocidos. requisitos. Norma técnica ecuatoriana: 60 https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1338-3.pdf
- Mendoza, F., Arteaga, M., y Pérez, O. (2016). Comportamiento de la vitamina C en un producto a base de lactosuero y pulpa de mango variedad Magdalena River (*Mangifera Indica* /.) durante el secado por aspersión. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(2), 159-166. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000200008>
- Montiel, E., López, A., y Bárcenas, M. (2013). Vegetales como fuentes de nitritos: una alternativa para el curado de carnes. *Ingeniería de Alimentos*, 7(1), 57-67. Recuperado de <http://www.labamex.com/images/2013-Mexico-Vegetales-como-fuente-de-nitrito.pdf>
- Molina, K. (Febrero de 2017). Uso de disoluciones de Bixa Orellana (achiote) como revelador natural de placa dental frente a revelador convencional estandarizado (tesis de pregrado), *Universidad Central del Ecuador, Quito*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8332/1/T-UCE-0015-490.pdf>

- Muñoz, A. (2014). Ácido cítrico: compuesto interesante. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12), 18-23. Recuperado de <http://www.actaquimicamexicana.uadec.mx/articulos/12-4%20citricos.pdf>
- Pina, F. (1993). Concepciones en el estudio del aprendizaje de los estudiantes universitarios. *Revista de investigación educativa, RIE*, 11(22), 117-150. Recuperado de <https://redined.mecd.gob.es/xmlui/handle/11162/184729>
- Ponce, M. (Septiembre de 2018). Estudio sobre la aplicación del extracto colorante del achiote (Bixa orellana L.) en productos alimenticios: queso, embutidos y yogurt (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. Recuperado de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/10826/1/Mar%C3%ADa%20Jos%C3%A9%20Ponce.pdf>
- Reyes, L. (2013). Uso de ácido ascórbico en la elaboración de guacamole y su incidencia en el tiempo de vida útil (tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. Recuperado de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6502/1/AL%20519.pdf>
- Salgado, R. (2002). Análisis de mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y *Salmonella spp.* en cuatro ingredientes utilizados en la planta de lácteos en Zamorano (tesis de pregrado). Universidad Zamorano, Zamorano, Honduras. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1553/1/AGI-2002-To36.pdf>
- Tortajada, F., Castell, G., Tornero, B., y Gimeno, C. (2001). Micotoxinas y cáncer pediátrico. *Revista España de Pediatría*, 57(3), 279-280. Recuperado de <http://www.pehsu.org/cancer/cancerpdf/micotoxinasycancer.pdf>
- Valadez, A., López, E., Ruíz, F., y Hernández, J. (2020). Aplicación de un extracto de achiote (Bixa orellana) en una formulación de un sistema modelo oleoso. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5, 609-613. Recuperado de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/9/120.pdf>
- Vanderzant, C., y Splittstoesser, D. 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 3 ed. Washington, D. C. *American Public Health Association Inc.* (APHA). 1219 p.
- Villafañe, F. (28 de Octubre de 2021). Achiote: origen características y usos. Nutrición. Recuperado de <https://mejorconsalud.as.com/achiote-origen-caracteristicas-usos/>
- Vargas, P., y González, E. (2011). Efecto de la aplicación de cuatro ácidos orgánicos y de un detergente neutro sobre la carga microbiana total y *Escherichia coli* en broza del café costarricense. *Tecnología en Marcha*, 24(1), 25-32. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4835532.pdf>