

BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS PRESENTES EN EL MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) DE DOS VARIEDADES

LACTIC ACID BACTERIA PRESENT IN THE MUCILAGE OF COCOA (*Theobroma cacao* L.) OF TWO VARIETIES

Christian Amable Vallejo Torres^(1,2), Jaime Fabián Vera Chang⁽²⁾, Jorge Gustavo Quintana Zamora⁽²⁾, Diana Carolina Verdezoto Quinatoa⁽²⁾, Lisseth Estefanía Cajas Anchundia⁽²⁾, Thalía Yanina Mendoza García⁽²⁾

⁽¹⁾Carrera de Ingeniería Agroindustrial. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Universidad Tecnológica Equinoccial (UTE) Campus Arturo Ruiz Mora, Km. 4 1/2 vía a Chone, Santo Domingo de los Tsáchilas – Ecuador.

⁽²⁾Carrera de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo-(UTEQ), Ubicada en el km 7 ½ vía Quevedo–El Empalme, entrada a Mocache Quevedo, Los Ríos, Ecuador, cvallejo@uteq.edu.ec1-2

Resumen: La producción y distribución de las bacterias ácido lácticas (BAL), se generan gracias a la elaboración de alimentos fermentados, utilizándolas por su habilidad de acidificación y preservación en los mismos, por ello, este trabajo se orientó en identificar y caracterizar bacterias ácido lácticas (*Lactococcus* spp) del mucilago de dos variedades de cacao, Nacional EET-103 y Trinitario CCN-51, para usarlas como precursores de conservación natural en productos alimenticios mínimamente procesados y frescos. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo bi-factorial Ax_B, con 16 tratamientos y 4 repeticiones. Para la determinación de la diferencia significativa de los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey, al 5 % de probabilidad. Con base al análisis estadístico se determinó que las bacterias *Lactococcus* Spp, aisladas del mucilago de cacao Nacional (EET-103) y Trinitario (CCN-51) no presentaron susceptibilidad ante los antibióticos como oxitetraciclina, penicilina y enrofloxacina, solo las BAL extraída del cacao Trinitario, presentaron susceptibilidad al antibiótico enrofloxacina. El género de bacteria *Lactococcus* Spp, aislada en las dos variedades, mostró sensibilidad al producto de limpieza y desinfección a base de alcohol isopropílico (C₃H₈O) y sulfato de cobre (CuSO₄), y presentó resistencia a los productos de limpieza y desinfección Yodo Total-12 e hidróxido de sodio (NaOH). Las bacterias *Lactococcus* spp extraídas del cacao Nacional (EET-103), presentaron mayor capacidad de acidificación frente a los antibióticos en comparación a las bacterias extraídas del cacao Trinitario. Mientras que las bacterias extraídas de ambas variedades de cacao se comportaron igual en la capacidad de acidificación de la leche frente a diversos productos de limpieza y desinfección.

Palabras claves: antibióticos, desinfectantes, *Lactococcus* Spp, mucilago, fermentación.

Abstract: The production and distribution of lactic acid bacteria (LAB), are generated by the production of fermented foods, using them for their ability to acidify and preserve them, therefore, this work was aimed at identifying and characterizing lactic acid bacteria (*Lactococcus* spp) of the mucilage of two varieties of cocoa, National EET-103 and Trinitario CCN-51, to be used as natural conservation precursors in minimally processed and fresh food products. A completely randomized design (DCA) was applied with a bi-factorial arrangement Ax_B, with 16 treatments and 4 repetitions. For the determination of the significant difference of the treatments the Tukey test was used, at 5% probability. Based on the statistical analysis, it was determined that the *Lactococcus* Spp bacteria isolated from the cocoa mucilage National (EET-103) and Trinitario (CCN-51) did not present susceptibility to antibiotics such as oxytetracycline, penicillin and enrofloxacin, only the BAL extracted from cocoa Trinitario,

Recibido: 4 de enero de 2018

Aceptado: 1 de junio de 2018

Publicado como artículo científico en Revista de Investigación Talentos V(1) 59-68

presented susceptibility to the antibiotic enrofloxacin. The genus of bacteria *Lactococcus Spp*, isolated in the two varieties, showed sensitivity to the cleaning and disinfection product based on isopropyl alcohol (C₃H₈O) and copper sulfate (CuSO₄), and showed resistance to the products of cleaning and disinfection Total Iodine-12 and sodium hydroxide (NaOH). The bacteria *Lactococcus spp*. Extracted from the National cocoa (EET-103), presented greater capacity of acidification in front of the antibiotics in comparison to the bacteria extracted from the Trinitario cacao. While the bacteria extracted from both varieties of cocoa behaved equally in the capacity of acidification of milk against various cleaning and disinfection products.

Key words: antibiotics, disinfectants, *Lactococcus Spp*, mucilage, fermentation.

I. INTRODUCCIÓN

Los procesos agrícolas e industriales del T. *cacao* generan una serie de subproductos que tienen poca o ninguna utilización y que a nivel de finca, son desechados, uno de estos es el mucilago de cacao, habitualmente se desaprovecha más de 70 litros por tonelada de este material (Vallejo *et al.*, 2016).

Las bacterias ácido lácticas se componen por un grupo de bacterias Gram positivas, habitualmente inmóviles, no esporuladas, con forma de cocos o bacilos. Son microorganismos fermentadores de carbohidratos con producción de ácido acético como producto principal (Holzapfel, 1997). Capaces de crecer a temperaturas inferiores a 5 °C y otras a temperaturas tan altas como 45 °C (García *et al.*, 2008).

Actualmente, las bacterias ácido lácticas (BAL), son conocidas por su principal participación en la elaboración de quesos, ya que estas además de brindar beneficios a la salud del consumidor, ofrecen características de sabor acidulado; asimismo, las bacterias lácticas son empleadas por las industrias alimenticias en la elaboración del yogurt, vino, encurtir carnes, embutidos y pescados (Córdoba y Malo, 2008).

Dentro de la clasificación de los quesos, se encuentran el queso crema de textura suave coagulada, no granulada y cremosa, de sabor ácido debido a la presencia de bacterias ácido lácticas Gram positivas como las del género *Lactococcus* y *Leuconostoc*, las cuales producen ácido láctico, y además brindan un olor característico al producto. Este derivado lácteo es muy popular en América del Norte, usualmente utilizado para untar en paneci-

llos, aderezo para ensaladas, también es empleado como un ingrediente para la elaboración de postres y tartas (Phadungath, 2005).

En Ecuador la cantidad de empresas dedicadas a la elaboración de queso crema, es mínima, comparada a las que ofrecen queso fresco, ya que en el país ocho de cada diez ecuatorianos dicen preferir queso fresco; le sigue en preferencia el mozzarella, queso crema, maduro, semi maduro. Sin embargo, la marca más reconocida de queso crema en el país es la industria Láctea Toni S.A. (Gallardo, 2012).

En base a lo anterior el propósito de la investigación es identificar y caracterizar bacterias ácido lácticas (*Lactococcus spp*) del mucilago de dos variedades de cacao, Nacional EET-103 y Trinitario CCN-51, para usarlas como precursores de conservación natural en productos alimenticios mínimamente procesados y frescos.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Rumiología y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, la misma que está ubicada en el Km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, entrada al cantón Mocache, Provincia de Los Ríos.

La fruta se recolectó en la Finca Experimental “La Represa” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), provincia de Los Ríos, Quevedo - Ecuador. La recolección de la fruta madura se la realizó en la mañana, 24 horas antes del procesamiento, de forma manual con tijeras de podar marca Felco 3, se lavaron en el laborato-

rio las frutas con agua clorada (100 ppm cloro) y se enjuagaron con agua potable. Se trocearon los frutos realizando 2 cortes longitudinales y 2 transversales y se separó manualmente la cáscara de las almendras. Para la extracción del exudado, se utilizó un lienzo de tela tipo quesero 100% algodón y con un entramado especial de 100 a 200µm que facilita el paso del líquido. Tiene una medida de 75x75 cm que sirvió para filtrar 2 litros de mucílago mediante presión.

Del mucílago, luego de las 24, 48 y 72 horas en fermentación, se tomó una muestra de 10 ml y se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} , se sembró por duplicado en cajas de petri conteniendo medios selectivos para bacterias ácido láctico: agar MRS de Man, Rogosa y Sharpe. Las placas se incubarán en condiciones de microaerofilia durante 48 horas a 37 °C, las colonias seleccionadas fueron purificadas tres veces para obtener un cultivo puro, luego fueron reproducidas en el mismo medio de cultivo y conservadas en refrigeración para ensayos posteriores.

Las cepas purificadas se las identificó de acuerdo con criterios de su morfología mediante tinción de Gram. Las pruebas de identificación fueron hechas principalmente para bacterias ácido lácticas (*Lactococcus spp*) de las cuales solo se caracterizó estos microorganismos porque son los que más se utilizan como fuente de cepas iniciadoras en la industria alimentaria.

Los discos fueron realizados con papel filtro se esterilizaron dentro del autoclave, a una temperatura de 120°C a 350 kPa durante 20 minutos, y luego se secaron dentro de la cabina de seguridad previamente con luz UV.

Una vez secos, se colocaron en orden en cajas petri esterilizadas en las cuales se les vertió el antibiótico, producto de limpieza y desinfección, respectivamente (sin antibiótico 0µg/ml, antibiótico oxitetraciclina 30 µg/ml antibiótico penicilina 10 µg/ml, antibiótico enrofloxacin 5 µg/ml, sin producto de limpieza y desinfección 0 µg/ml, producto de limpieza y desinfección Yodo Total-12 100 mg/L, producto de limpieza y desinfección base de alcohol isopropílico y sulfato de cobre 100 mg/l

y producto de limpieza y desinfección NAOH 50 mg/L).

Cada cepa en estudio, se suspendió 20 UFC en agua de peptona estéril en tubos de ensayos ajustándose a una concentración de 0.5 McFarland. Con una micropipeta se tomó 500 cc del inóculo del tubo de ensayo y se sembró en la caja petri esparciéndolo con un asa de cayado para siembra. Se inoculó la superficie del agar, rotando la caja petri 60 ° cada vez para asegurar una completa distribución del inóculo, de esta forma se obtienen zonas de inhibición uniformemente circulares.

Los discos con la carga de antibióticos y productos de limpieza fueron aplicados dentro de la fase de inoculación. Donde se utilizó tres discos por caja petri en posición triangular. Se tomaron con pinzas estériles y una vez ubicados sobre el medio de cultivo se ejerció una ligera presión con la finalidad de evitar que se muevan o se desprendan. Las cajas inoculadas y con los discos ya aplicados se incubaron invertidas a 37 °C por el término de 48 horas. Después de dicho tiempo, cada caja petri fue examinada visualmente y se midió el diámetro de las zonas de inhibición, incluyendo el disco. Para esta medición se tomó 150 ml de leche descremada UHT "Mi Ranchito", donde se diluyó 20 UFC de BAL (*Lactococcus spp*) en 1 ml de agua destilada estéril, esta disolución se le agregó a la leche y por último se adicionó los antibióticos, productos de limpieza y desinfección respectivamente, se incubaron 37 °C y se midió el descenso del pH hasta 8 horas.

Para elaborar los cultivos iniciadores, a ser empleados en la fabricación de queso crema, se tomaron 20 cepas del género *Lactococcus spp* y con la ayuda de un agitador bórte se disolvieron en tubos de ensayo con 5 ml de leche, luego se agregó a la leche con la que se elaboró el queso crema.

Se tomaron 2000 ml de leche entera pasteurizada a temperatura ambiente por cada tratamiento, se agregó la solución de 5 ml, se mezcló y se colocaron tarrinas estériles de 500ml, se taparon y colocaron en baño maría a diferentes temperaturas de 35, 40 y 45 °C y otras se dejaron al ambiente aproximadamente a 30 °C, por 24 horas. Una vez

realizada la incubación con bacterias a diferentes temperaturas, se realizó el desuerado para obtener el queso crema, tomando los pesos en una balanza gramera, antes y después de la pérdida del suero, después se agregó 1,5 % de sal refinada sobre el peso del queso crema que resultó del proceso, finalmente se procedió a almacenar a una temperatura de 8 °C.

Al producto final se le realizó una valoración bromatológica como: pH, grasa, humedad, cenizas y proteína, esto de acuerdo a los métodos de ensayos establecidos en la norma INEN 1528. Para la determinación de la carga bacteriana en el producto terminado, se utilizó agar MacConky, que permitió conocer si existía la presencia de las bacterias *E. Coli* y *Salmonella*, bajo los métodos de ensayos estipulados en la norma NTE INEN 1 529 – 7.

Para la determinación de las características organolépticas (color, aroma, sabor), se realizó la evaluación sensorial mediante la Prueba de Kruskal Wallis afectiva de características no estructurales, Los resultados de los ensayos para la caracterización de las BAL y los análisis bromatológicos, pH bajo el método NTE INEN-ISO 10523, grasa por extracción con el método NTE INEN-ISO 2446:2013, humedad y ceniza conforme lo dispone la norma NTE INEN 14:1984, proteína total mediante destilación con el método establecidos en la norma técnica NTE INEN-ISO 8968-1IDF 20-1, del queso crema, fueron analizados mediante una ANDEVA y comparados mediante Tukey ($p < 0.05$); los resultados obtenidos se tabularon en un programa estadístico de software libre Infostat versión 2011 (Di Rienzo, 2011).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el medio MRS se identificó el género *Lactococcus* spp del mucílago del cacao tipo Nacional EET-103 en los diferentes tiempos de fermentación como se representa en las Figuras 1, 2 y 3.

Estos resultados concuerdan con lo expresado por Toqeer (2006) y Wachter (2011), durante la segunda fase de fermentación del cacao (48 horas) donde favorece al desarrollo de las bacterias lácticas, este desarrollo se da por la fermentación de los

carbohidratos residuales y posterior consumo de ácido cítrico.

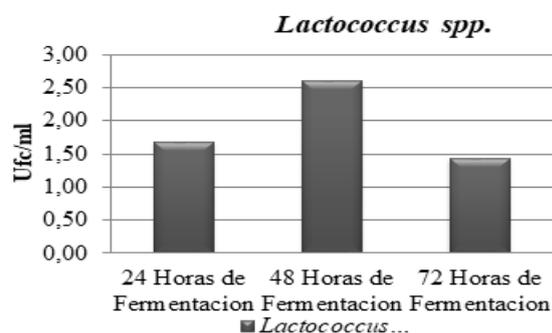


Fig. 1. Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas presentes en el mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L) tipo Nacional EET-103.

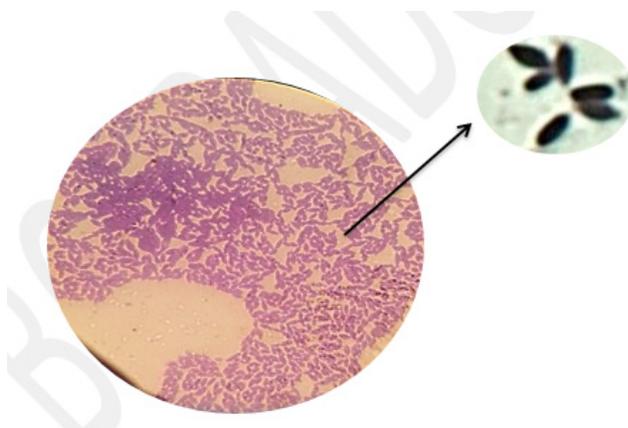


Fig. 2. Observación microscópica de *Lactococcus* spp. en el medio de cultivo MRS (Man, Rogosa y Sharpe)

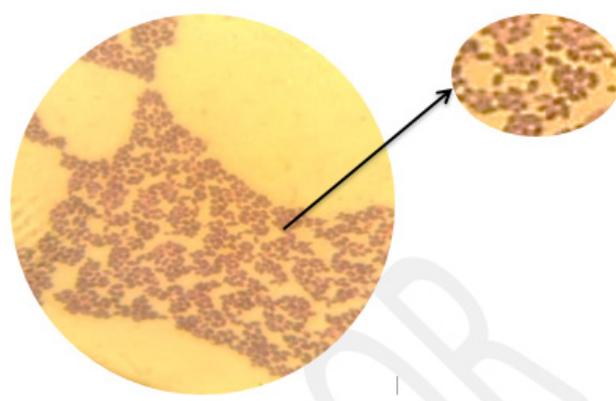


Fig. 3. Observación microscópica de *Enterococcus* spp aislada en el medio de cultivo Bilis Esculina.

En la comparación de medias por Tukey al 5 % de probabilidad (Tabla I.), en la variable antibiograma, existió diferencia estadística entre los tratamientos, siendo así para el T₁₁ (BAL extraída del cacao Nacional con producto de limpieza y desin-

fección base de alcohol isopropílico y sulfato de cobre) y T₁₅ (BAL extraída del cacao Trinitario con producto de limpieza y desinfección base de alcohol isopropílico y sulfato de cobre) presentan la mayor inhibición de antibióticos, dando como resultado que los *Lactococcus spp* presentaron sensibilidad a dicho producto. Por otro lado en el T₈ (BAL extraída del CCN-51 con antibiótico enrofloxacina) se observó poca inhibición, dando como resultado que los *Lactococcus spp* presentaron poca resistencia y para el resto de tratamientos no presentó inhibición.

En comparación con estudio realizado por Alvarado et al. (2007), quien expone que ciertas bacterias son susceptibles o sensibles a ciertos productos que posean elementos de amonio cuaternarios, sustancias alcalinas entre otros. Esto es similar a los resultados encontrados en la presente investigación.

De acuerdo con la Tabla I, en la variable pH, se

puede observar que existió diferencia entre los tratamientos, donde la mayor capacidad de acidificación se observó en los T1 (0,87), T9 (0,84) y T13 (0,79). Estos eran considerados como tipo testigo ya que no cuentan con ningún agente antimicrobiano. Por otro lado, los T6 (0,15) y T8 (0,15) presentaron menor capacidad de acidificación debido a la inhibición de los antibióticos hacia las BAL y los demás tratamientos presentaron valores intermedios. Hubo una leve inhibición acidificando sutilmente la leche. Las BAL extraídas del mucílago de cacao Nacional presentan mayor capacidad de acidificación en comparación a las bacterias extraídas del mucílago de cacao Trinitario, con una media de pH 0,43 y un coeficiente de variación de 8,02 % en los resultados generales.

Comparando con los datos reportados por Olivera (2011) y Dávila et.al (2006), los valores de pH difieren entre 1,03 y 0,30 en lapsos de tiempo de 0 a 6 horas para las bacterias del genero *Lactococcus*, lo que concuerda en cierto modo con la investigación.

TABLA I.
ANTIBIOGRAMA O ANÁLISIS DE SUSCEPTIBILIDAD Y CAPACIDAD ACIDIFICADORA DE LA LECHE.FCP-UTEQ.2018

Factor A: BAL (<i>Lactococcus spp</i>) extraídas de variedades de mucílago	Antibiograma	Δ pH
1. Cacao Nacional (EET-103)	1,25 ^b	0,47 ^b
2. Cacao Trinitario (CCN – 51)	1,34 ^a	0,40 ^a
Promedio	1,29	0,43
Factor B: Antibióticos, productos de limpieza y desinfección		
1. Sin Antibiótico	1,00 ^c	0,78 ^d
2. Antibiótico Oxitetraciclina	1,00 ^c	0,20 ^a
3. Antibiótico Penicilina	1,00 ^c	0,32 ^b
4. Antibiótico Enrofloxacina	1,38 ^b	0,16 ^a
5. Sin producto de limpieza y desinfección	1,00 ^c	0,81 ^d
6. Producto de limpieza y desinfección Yodo Total-12	1,00 ^c	0,42 ^c
7. Producto de limpieza y desinfección C ₃ H ₈ O	3,00 ^a	0,39 ^c
8. Producto de limpieza y desinfección NaOH	1,00 ^c	0,42 ^c
Promedio	1,29	0,43
Interacción A*B		
T ₁ BAL del Nacional sin antibiótico	1,00 ^c	0,87 ^f
T ₂ BAL del Nacional + antibiótico Oxitetraciclina	1,00 ^c	0,25 ^b
T ₃ BAL del Nacional + antibiótico Penicilina	1,00 ^c	0,39 ^c

T ₄ BAL del Nacional + antibiótico Enrofloxacina	1,00 ^c	0,17 ^{ab}
T ₅ BAL del Trinitario sin antibiótico	1,00 ^c	0,69 ^e
T ₆ BAL del Trinitario + antibiótico Oxitettraciclina	1,00 ^c	0,15 ^a
T ₇ BAL del Trinitario + antibiótico Penicilina	1,00 ^c	0,25 ^b
T ₈ BAL del Trinitario + antibiótico Enrofloxacina	1,75 ^b	0,15 ^a
T ₉ BAL del Nacional sin producto de limpieza y desinfección	1,00 ^c	0,84 ^f
T ₁₀ BAL del Nacional + producto de L y D Yodo Total-12	1,00 ^c	0,42 ^{cd}
T ₁₁ BAL del Nacional + producto de L y D C ₃ H ₈ O	3,00 ^a	0,37 ^c
T ₁₂ BAL del Nacional + producto de L y D NaOH	1,00 ^c	0,48 ^d
T ₁₃ BAL del Trinitario sin producto de limpieza y desinfección	1,00 ^c	0,79 ^f
T ₁₄ BAL del Trinitario + producto de L y D Yodo Total-12	1,00 ^c	0,42 ^{cd}
T ₁₅ BAL del Trinitario + producto de L y D FULLTREX	3,00 ^a	0,42 ^{cd}
T ₁₆ BAL del Trinitario + producto de L y D NAOH	1,00 ^c	0,36 ^c
Promedio	1,29	0,43
C.V. (%)	9,64	8,02

Se identificó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos en las variables humedad, proteínas y pH del queso crema (Tabla II), mientras que en la determinación de grasas y cenizas no existió diferencias significativas ($p \leq 0,05$). El

queso crema fue elaborado a diferentes temperaturas (30, 35, 40 y 45 °C) con la adición de las BAL (*Lactococcus* spp.), provenientes del mucílago de cacao fino de aroma.

TABLA II.

PROMEDIOS DE LOS ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS REALIZADOS A LOS QUESOS CREMA

Parámetros fisi-coquímicos	Tratamientos				Probabilidad
	T ₁ (QCF30°-CBALMC)	T ₂ (QCF35°-CBALMC)	T ₃ (QCF40°-BALMC)	T ₄ * (QCF45°-BALMC)	
Humedad %	81,72 ^a	74,98 ^b	71,80 ^c	No determinado	<,0001
Cenizas %	2,29 ^a	2,31 ^a	2,37 ^a	No determinado	0,1124
Proteínas %	8,53 ^a	8,84 ^b	10,92 ^c	No determinado	<,0001
Grasa %	6,60 ^a	6,75 ^a	6,65 ^a	No determinado	0,6353
Ph	4,89 ^a	4,71 ^b	4,53 ^c	No determinado	<,0001

*: No hubo fermentación por parte de las bacterias ácido lácticas *Lactococcus* spp.

Las diferencias se deben a la temperatura tal como lo indica Gallardo (2012) quien considera a la temperatura de fermentación como un factor importante en el rendimiento del queso, e indica que, a mayor temperatura, aumentan las pérdidas de humedad, disminuyendo el peso del queso, debido a la evaporación.

Al comparar con la norma mexicana (NMX-F-094) se demuestra que los valores obtenidos de ceniza se encontraran dentro de los rangos permitidos con el min. de 0,5 %. Muñoz *et. al.* (2002), en el estudio de los alimentos y sus nutrientes, obtuvo un porcentaje menor de 1,17 % de cenizas.

La proteína tuvo una media de 9,4% mientras

que Romero *et al.* (2009), en la evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema, determinaron un valor superior de 33,81 % al igual que Reyes (2014), en su investigación de la evaluación de los factores que afectan en el rendimiento del queso crema, obtuvo 19,89 %. Muñoz *et al.* (2002), determinó un valor inferior de 7,55 % en su estudio de los alimentos y sus nutrientes de queso crema. Estas diferencias están íntimamente relacionadas con el rendimiento y el contenido de humedad del queso crema; en un queso crema, de acuerdo con el CODEX STAN 275-1973, MOD, la proteína debe ser mínimo 6%.

Según Valencia *et al.* (2008), en la estimación de la vida útil fisicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías, obtuvieron valores superiores al 15 % de grasa, al igual que Parra y Fonseca (2012), en la caracterización fisicoquímica, proximal y sensorial de un queso tipo crema

saborizado, con un contenido del 11,65 %.

La diferencia presentada en los valores de pH, se debe al efecto de la temperatura en la fermentación al que fue sometida la leche, es decir que, entre mayor fue el calor (40 °C), hubo mayor producción de ácido láctico, al convertir la lactosa, considerando un mejor desarrollo de las bacterias en estudio, lo que se inclina con el estudio realizado por Ryan y Walsh (2016), identificaron que las bacterias *Lactococcus spp.* crecen rápidamente a una temperatura de 37 °C, generando mayor cantidad de ácido láctico, por lo tanto, un pH inferior.

A. Análisis microbiológico de los quesos crema

En la Tabla III, se muestran los resultados del conteo microbiológico realizados a los quesos crema, los parámetros fueron las diferentes bacterias Gram negativas presentes en cada tratamiento.

TABLA III.

RESULTADOS DEL CONTEO MICROBIOLÓGICO REALIZADO A LOS QUESOS CREMA.

Parámetro (UFC/G)	Tratamientos			
	T ₁ QCF30°C- BALMC	T ₂ QCF35°C BALMC	T ₃ QCF40°C BAL- MC	T ₄ * QCF45°C BALMC
<i>E. coli</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	No determinado
<i>Salmonella</i>	Ausencia	Ausencia	Ausencia	No determinado

*T₄: No hubo fermentación por parte de las bacterias ácido lácticas *Lactococcus spp.*

En la Tabla III se presenta incidencia o no de la bacteria *Escherichia coli* y *Salmonella* en el queso crema denotando ausencia en todos los tratamientos. Al realizar una comparación con la NTE INEN 1528, se demuestra que los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos permitidos, que corresponden a <10 para índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad y 10 para índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad. Según Romero *et al.* (2009),

en la evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema, se determinaron la presencia de la *E. coli* en todos sus tratamientos, al igual que Ramos *et al.* (2005), en el aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas para la elaboración de queso crema tropical.

En el análisis organoléptico de los quesos crema (Tabla IV.) no existió diferencia significativa ($p \geq 0,05$) entre los parámetros analizados en cada uno de los tratamientos.

TABLA IV.

PROMEDIOS DE LOS ANÁLISIS ORGANOLÉPTICOS REALIZADOS A LOS QUESOS CREMA.

Parámetro organoléptico	Tratamientos				Probabilidad
	T ₁ QCF30°-CBALMC	T ₂ QCF35°C-BALMC	T ₃ QCF40°-CBALMC	T ₄ * QCF45°C BALMC	
Acidez	3,00 ^a	3,26 ^{ab}	4,00 ^b	No determinado	0,0160
Sabor	3,60 ^a	4,20 ^a	4,73 ^b	No determinado	0,0002
Olor	3,20 ^a	3,80 ^{ab}	4,33 ^b	No determinado	0,0003
Textura	3,20 ^a	3,46 ^{ab}	3,93 ^b	No determinado	0,0314

Ramos *et al.* (2005), indica que en la elaboración de quesos crema con probiótico (*L.casei*), bajo en grasa, adicionado con inulina y saborizado, obtuvieron una acidez equilibrada, típica del queso crema; mientras que Parra y Fonseca (2012) y Valencia *et. al.*(2008), mencionan que en la caracterización fisicoquímica, proximal y sensorial de un queso tipo crema saborizado, obtuvieron un 66,6 % de aceptación en el sabor, 66,1% de aceptación en el olor, 22,2% de aceptación en la textura dentro de la escala (me gusta mucho).

IV. CONCLUSIONES

Para el desarrollo o crecimiento de las bacterias ácido lácticas su tiempo óptimo de reproducción es a las 48 horas, Existe presencia de *Lactococcus spp* y *Enterococcus spp* a las 48 horas de incubación en el mucílago de cacao tipo nacional (EET-103) y a las 72 horas de fermentación en mucílago de cacao de origen Trinitario (CCN-51).

Las bacterias ácido lácticas (*Lactococcus spp*) aisladas del mucílago de cacao tipo Nacional (EET-103) y Trinitario (CCN-51) no presentaron susceptibilidad ante los antibióticos como Oxitetraciclina, Penicilina y Enrofloxacina, solo las BAL extraídas del cacao Trinitario presentaron cierta susceptibilidad al antibiótico enrofloxacina.

El género de bacteria *Lactococcus spp* aislada tanto del mucílago de cacao tipo Nacional (EET-103) y de origen Trinitario (CCN-51), mostraron sensibilidad al producto de limpieza y desinfección

a base de alcohol isopropílico y sulfato de cobre, igual cada género de *Lactococcus spp* de las variedades de cacao presentó resistencia a los otros dos productos de limpieza y desinfección llamados Yodo Total-12 e hidróxido de sodio.

Las bacterias *Lactococcus spp* extraídas del mucílago de cacao Nacional (EET-103), presentaron mayor capacidad de acidificación frente a los antibióticos; en comparación a las bacterias *Lactococcus spp* extraídas del mucílago del cacao Trinitario. Mientras que las bacterias extraídas del mucílago de ambas variedades de cacao, se comportaron igual en la capacidad de acidificación de la leche frente a diversos productos de limpieza y desinfección, manteniendo cierto nivel de acidificación a través del tiempo.

La fermentación de quesos crema las bacterias ácido lácticas *Lactococcus spp.*, mostraron un crecimiento favorable entre 30°C y 40°C, cabe destacar que a 40°C de fermentación presentaron mejores características bromatológicas y sensoriales.

V. REFERENCIAS

Alvarado Rivas, C., Chacón Rueda, Z., Otoniel Rojas, J., Guerrero Cárdenas, B., & López Corcuera, G. (2007). Aislamiento, Identificación y Caracterización de Bacterias Ácido Lácticas de un Queso Venezolano Ahumado Andino Artesanal. Su Uso Como Cultivo Inicial. Revista Científica, 17(3), 301-308.

- Córdoba, L. H., Malo, A. L. (2008). Productos lácteos fermentados como vehículo para microorganismos probióticos. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 2; p.50 - 57.
- Dávila, J., Genara, R., Otoniel, C. (2006). Evaluación Microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una Industria Venezolana. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 56(1), 51-59.
- Gallardo, Yuzahara Mulky (2012). Desarrollo Del Proceso De Elaboracion Del Queso Crema Para Impulsar La Industrialización De La Leche En La Parroquia El Chaupi-Machachi. QUITO, Universidad Tecnológica Equinoccial; rep.; p.18-200
- García, J. (2007). Identificación de bacterias ácido lácticas mediante perfiles de fermentación y ribotipificación. Universidad autónoma del estado de Hidalgo, México, Extraído el, 15, p. 1-96..
- Holzapfel, S. y Stiles, M. E., . (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29..
- Muñoz, M., Ledesma Solano, J. A., Chávez Villasana, A., PÚrez Gil-Romo, F., Mendoza Martínez, E., Castañeda López, J., ... & Avila Curriel, A. (2002). Los alimentos y sus nutrientes: Tablas de valor nutritivo de alimentos. Mc Graw Hill; 478p.
- Olivera, J. (2011). Caracterización Tecnológica de Cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de la leche . Universidad de la Republica , Unidad de Tecnología de Alimentos , Salto-Uruguay; p. 8-30
- Parra, E., Fonseca, R. (2012). Características físico-química, proximal y sensorial de un queso tipo crema. *itae*, 19(1); p. 216-218
- Phadungath, C. (2005). Cream cheese products: A review. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 27(1), p. 191-199.
- Ramos-Izquierdo, B., Bucio-Galindo, A., Bautista-Muñoz, C., Aranda-Ibáñez, E., Izquierdo-Reyes, F. (2009). Aislamiento, identificación y caracterización de bacterias ácido lácticas para la elaboración de queso crema tropical. *Universidad y ciencia*, 25(2), 159-171.
- Ramos, L., Gallardo, Y., Ortega, O., Del Real, E., Paz, T. (2005). Elaboración de queso crema probiótico (*L. casei*), bajo en grasa, adicionado con inulina y saborizado. In VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos (pp. 55-62).
- Reyes, H. M. (2014). Evaluación de factores que afectan el rendimiento del queso Crema y Zamorella en la Planta de Lácteos de la EAP. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras San Antonio de Oriente. p. 2-17
- Romero-Castillo, P. A., Leyva-Ruelas, G., Cruz-Castillo, J. G., & Santos-Moreno, A. (2009). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Revista mexicana de ingeniería química*, 8(1); p. 111-119.
- Ryan, M. P., Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(3), p. 479-498
- Toqeer Ahmed, R. K. (2006). Influencia de la temperatura en el patrón de crecimiento de *Lactococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* y *Lactobacillus acidophilus* aislada a partir de Camel Milk. *Science Alert*. p. 2-66.
- Valencia Francia Elena García, L, Valencia García, F. E. y Millán Cardona, L. D. J.. (2008). Estimación de la vida útil físicoquímica, sensorial e instrumental de queso crema bajo en calorías. *Revista Lasallista de investigación*, 5(1); p. 28-33
- Vallejo, C., Díaz, R., Morales, W., Soria, R., Vera, J., & Baren, C. (2016). Utilización del mucilago de cacao ,tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. *Español Ciencia*, 7(1); p.

51-58.

Revista digital universitaria, 12(4), 1-

Wacher, M. (2011). Microorganismos y chocolate.