

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y
NUTRICIÓN HUMANA**

TESIS

Título

**“LICOR A PARTIR DE LA SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO) y
SU VALOR NUTRICIONAL”**

AUTORES:

Br. DIANA ISABEL RIXE FASABI

Br. CELIA MARINA VELA RENGIFO

ASESORES:

Ing. LITTMAN GONZALES RÍOS Dr.

Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO Dr.

Ing. CARLOS NIÑO TORRES

IQUITOS – PERÚ

2017

TESIS

Título: “LICOR A PARTIR DE LA SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO) Y SU VALOR NUTRICIONAL.

AUTORIZACIÓN DE LOS ASESORES

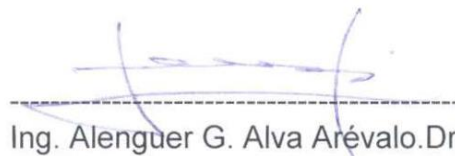
Ing. Littman Gonzales Ríos. Dr., Ing Alenguer Gerónimo Alva Arévalo. Dr., docentes principales de la facultad de Ingeniería de alimentos de la Facultad de Industrias alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, Ing. Carlos Niño Torres (investigación y desarrollo de productos en Machu Picchu).

INFORMAMOS: Que la Br. Rixe Fasabi Dian Isabel y el Br. Vela Rengifo Celia Marina, han realizado bajo nuestra dirección, la tesis : "IICOR A PARTIR DE LA SEMILLA DE *Throbroma bicolor* (MACAMBO) Y SU VALOR NUTRICIONAL", y considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentados ante el Jurado Calificador; a tal efecto para la obtención del título de Licenciada en Bromatología y Nutrición Humana.

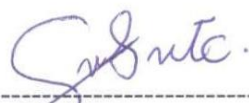
AUTORIZACIÓN: A las citadas Bachilleres a presentar la tesis, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula los Grados y Títulos de la Facultad de Industrias Alimentarias en la Escuela Profesional de Bromatología y Nutrición Humana de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.



Ing. Littman Gonzales Ríos. Dr.



Ing. Alenguer G. Alva Arévalo. Dr.




Ing. Carlos Niño Torres

MIEMBRO DE JURADO

Tesis aprobada en la Sustentación Pública el 17 de Julio del 2017 por el Jurado nombrado por la Dirección de Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana para optar el Título de:


LICENCIADA EN BROMATOLOGIA Y NUTRICION HUMANA



Ing. Jorge Augusto Torres Luperdi
Presidente



Ing. Juan Alberto Flores Garazatúa
Miembro Titular



Lic. Miriam Ruth Alva Angulo
Miembro Titular



Ing. Wilder Prado Mendoza
Miembro suplente



UNAP

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Escuela de formación Profesional de Bromatología y
Nutrición Humana.

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Iquitos, siendo las 18:00 horas del día lunes 17 de julio del 2017, en las instalaciones del Auditorio del Departamento Académico de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, ubicado en calle Nauta 5ta. cuadra, Iquitos, se dio inicio a la sustentación pública de la tesis "**LICOR A PARTIR DE LA SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO) Y SU VALOR NUTRICIONAL**", presentado por las Bachilleres **DIANA ISABEL RIXE FASABI** y **CELIA MARINA VELA RENGIFO**, con el asesoramiento de don **Littman Gonzales Ríos**, don **Alenger Gerónimo Alva Arévalo** y don **Carlos Niño Torres**.



Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal N° 196-FIA-UNAP-2017, del 13 de julio del 2017.

Ing. Jorge Augusto Torres Luperdi	-	Presidente
Ing. Juan Alberto Flores Garzatúa	-	Miembro
Lic. Miriam Ruth Alva Angulo	-	Miembro
Ing. Wilder Prado Mendoza	-	Miembro Suplente


Siendo las 19:45 horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido APROBADA con la nota de 17 y el calificativo de MUY BUENO, estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Licenciadas en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a los sustentantes, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.


Jorge Torres Luperdi
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP. 23850

Presidente


Juan Alberto Flores Garzatúa
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP. 31646
Miembro Titular


Miriam Ruth Alva Angulo
Licenciada en Nutrición
C.N.P. N° 0130
Miembro Titular


Wilder Prado Mendoza
Ingeniero en Industrias Alimentarias
CIP. 146156
Miembro Suplente



DEDICATORIA

En primer lugar, dedicárselo a Dios por darme la fuerza y bendición de permitirme culminar mis estudios satisfactoriamente, por brindarme salud, guiarme en el camino, darme fortalezas para seguir adelante y las ganas de superación para no desmayar en camino ante los problemas y adversidades que se me presentaron.

A mis padres, Domitila Rengifo Panduro y Freddy Gustavo Vela Ríos por su apoyo incondicional para concluir la carrera profesional y darme las fuerzas para salir adelante durante el tiempo de desarrollo del proyecto de tesis.

A mis hermanas: Reyna Luz Vela Rengifo y Zoila Alcira Vela Rengifo, por apoyarme durante el tiempo de estudios y darme consejos para superarme como profesional.

A Eder Jasvir Vela Armas quien llevo a mi vida en los momentos más difíciles, por ser mi compañero incondicional, quien me enseñó a superarme ante las dificultades de la vida, brindándome su amor, cariño y creer en mi capacidad profesional.

Celia Marina Vela Rengifo

DEDICATORIA

A Dios por permitirme culminar mis estudios satisfactoriamente, brindándome salud, fortaleza, fuerza para seguir adelante, superando cada barrera sin desmayar en el camino ante los problemas y adversidades que se me presentaron.

A mis abuelos, Julio y Leandra, por su apoyo incondicional, por el amor brindado a la distancia con mucho amor para ustedes.

A mis padres, Rene y Petronila por darme las fuerzas para salir adelante durante el tiempo de desarrollo del proyecto de tesis.

A mis hermanas, mi hermano y mis amados sobrinos por acompañar en la travesía que es mi carrera profesional. Para ustedes mis pequeños que entre risas y juegos crecieron junto a mí.

A Gino Martin, por su comprensión, por el amor y cuidado que siempre tiene para mí. Por su apoyo infinito que junto a su familia me brindan siempre.

A mi amigo Antonio porque hay familia que no siempre es unida por la sangre.

Y a todas las personas maravillosas que siempre nos dieron ánimos. MUCHAS GRACIAS

Diana Isabel Rixe Fasabi

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por estar siempre presente en cada momento de mi vida y guiar mis pasos.

A mi familia por apoyarme siempre, ya sea en los buenos y malos momentos, quienes día a día están dándome consejos para salir adelante y guiándome con valores,

A mis asesores de Tesis, el Dr. Littman Gonzales Ríos, Dr. Alenguer Alva e Ing. Carlos Niño por haber confiado en mi capacidad profesional, por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación dedicando sus tiempos y conocimientos científicos para realizar con éxito este proyecto de tesis.

A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana por abrirme las puertas de sus instalaciones para culminar exitosamente mis estudios académicos, con ayuda de los docentes quienes me brindaron sus conocimientos y por permitirme usar sus ambientes para poder realizar el presente trabajo y culminar exitosamente.

Celia Marina Vela Rengifo

AGRADECIMIENTO

Gracias Dios por no permitirme desmayar y cuidar de mí.

A mis asesores de Tesis el Dr. Littman Gonzales Ríos, Dr. Alenguer Alva e Ing. Carlos Niño por haber confiado, guiado y brindado su valioso tiempo en redactar y culminar la tesis, gracias por el conocimiento brindado. Muchas gracias.

Gracias alma mater Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, mis mejores años de vida formándome como nutricionista.

Diana Isabel Rixe Fasabi

ÍNDICE

CAPÍTULO I	2
1. INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO II	5
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. GENERALIDADES DEL <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	5
2.1.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE.	5
2.1.2. DESCRIPCIÓN Y TAXONÓMICA DE LA ESPECIE.	7
2.1.3. NOMBRES COMUNES DE LA ESPECIE.	8
2.1.4. DISTRIBUCION GEOGRÁFICA Y ECOLÓGICA.	8
2.1.5. UTILIZACIÓN.	8
2.1.6. MÉTODOS DE PROPAGACIÓN.	9
2.1.7. PRODUCCIÓN Y COSECHA.	9
2.1.8. VALOR NUTRICIONAL DEL <i>Theobroma bicolor</i> (pulpa y semilla).	10
2.1.9. ESTUDIOS REALIZADOS DEL <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	11
2.2. LICOR DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	12
CAPÍTULO III	15
3. MATERIALES Y MÉTODO	15
3.1. MATERIALES	15
3.1.1. MATERIA PRIMA: FRUTO DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	15
3.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO.	16
3.1.3. EQUIPOS DE LABORARIO.	17
3.1.4. EQUIPOS DE LA PLANTA.	17
3.1.5. REACTIVOS.	18
3.1.6. MEDIOS DE CULTIVO.	18

3.1.7. MATERIALES DE BIOSEGURIDAD.	19
3.1.8. OTROS MATERIALES.	19
3.2. METODOLOGÍA.	20
3.2.1. TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO	20
3.2.2. METODOLOGIA DE PROCESAMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.	21
3.2.3. METODOS ANALITICO DE CONTROL.	25
CAPÍTULO IV.....	50
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1. SEMILLA DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	50
4.2. PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA SEMILLA DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	53
4.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL LICOR DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO).	60
4.4. RENDIMIENTO DE LA SEMILLA DE <i>Theobroma bicolor</i> (MACAMBO) DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL LICOR.	62
4.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.	63
4.6. ANÁLISIS SENSORIAL.	64
CAPITULO V.....	67
5. CONCLUSIONES.	67
CAPITULO VI.....	69
6. RECOMENDACIONES	69
CAPITULO VI.....	71
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS	76

LISTA DE TABLA

Tabla 1: Clasificación taxonómica de <i>Theobroma bicolor</i> .	7
Tabla 2: Contenido nutricional de 100 g de <i>Theobroma bicolor</i> (macambo).	10
Tabla 3: Peso promedio del fruto de macambo.	50
Tabla 4: Análisis físico-químico de la semilla <i>Theobroma bicolor</i>	51
Tabla 5: Composición nutricional de la semilla de <i>Theobroma bicolor</i> (macambo)	52
Tabla 6: Características físico-químicas de las semillas de macambo durante el proceso de fermentación.	58
Tabla 7: Composición nutricional del licor de <i>Theobroma bicolor</i> (macambo) secado en bandeja y secado solar.	61
Tabla 8: Análisis microbiológicos, según secado solar (P) y bandeja (Q).	63
Tabla 9: Análisis sensorial.	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Árbol de <i>Theobroma bicolor</i> (macambo).	6
Figura 2: Fruto entero de <i>Theobroma bicolor</i> (macambo).	6
Figura 3: Semilla de <i>Theobroma Bicolor</i> (macambo).	7
Figura 4: Pulpa y semilla de macambo.	15
Figura 5: Fruto de macambo en mal estado organoléptico.	16
Figura 6: Flujograma para la elaboración del licor de macambo.	21
Figura 7: Despulpado de la fruta.	22
Figura 8: Fermentación de las habas de macambo.	23
Figura 9: Secado a bandeja y secado solar.	23
Figura 10: Tostado de las semillas de macambo.	24
Figura 11: Triturado y Molido de las habas	24
Figura 12: Envasado del licor de <i>Theobroma bicolor</i> .	25
Figura 13: Flujograma definitivo del proceso para la elaboración de <i>Theobroma bicolar</i> .	53
Figura 14: Fermentación correcta e incorrecta de la semilla de macambo.	56
Figura 15: Variación de la temperatura y el pH en el secado solar y bandeja del <i>Theobroma bicolor</i> .	59
Figura16: Variación de la temperatura y de la acidez en el secado solar y Bandeja del <i>Theobroma bicolor</i> .	59
Figura 17: Balance de la materia prima durante el proceso de obtención del licor de macambo empleados secado solar y en bandeja.	62

ABSTRAC

This research was done with the purpose of elaborating the liqueur from the almond of *Theobroma bicolor* "macambo", giving and added value to it and knowing its nutritional value, by fermentation in wooden boxes at a temperature gradually increasing from 40 to 45 °C. The method that was used for the transformation of the macambo into liqueur was the quantitative approach of drying in tray and solar. Macambo liqueurs submitted to the two drying treatments presented similarity in the percentages of moisture (3,65%), calories (627,03), protein (21,05g), fat (51,35%), carbohydrates (19,81g), fibers (7,76g), ashes (2,77g). in addition, similar mineral content (calcium, phosphorus, iron, magnesium, sodium and copper), vitamin c, pH (6,5) and acidity acetic (a.19%) respectively. The technique used was simple difference paired comparison. The elaborated macambo liquers are a product with high energy and nutritional content with great potential in the chocolate industry.

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con la finalidad de elaborar el licor a partir de la almendra de *Theobroma bicolor* "macambo", dando un valor agregado y conocer su valor nutricional. Mediante una fermentación en cajas de madera a temperatura que aumenta paulatinamente de 40 a 45 °C. El método que se usó para la transformación del macambo en licor fue el enfoque cuantitativo, de secado en bandejas y solar. Los licores de macambo sometidos a los dos tratamientos de secado presentan similitud en los porcentajes de Humedad (3,65%), Calorías (627,03), Proteínas (21,50gr.) Grasa (51,31%), Carbohidratos (19,81 g), Fibras (7,76 g), Cenizas (2,73g) además, similar contenido de minerales (calcio, fosforo, hierro, magnesio, sodio y cobre), vitamina C, pH (6,5) y acidez acética (0,19%) respectivamente. La técnica utilizada fue de comparación pareada de diferencia simple. Los licores de macambo elaborados es un producto con alto contenido energético y nutricional con un gran potencial en la industria chocolatera.

1. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El *Theobroma bicolor* “macambo” presenta un gran potencial para la agroindustria, ya que la parte aprovechable representa el 50% del fruto (pulpa más semilla) (González y Torres, 2010). Nutricionalmente el macambo se destaca por su alto contenido de proteína y de carbohidratos. El macambo presenta características físicas y nutricionales apropiadas para la fabricación de alimentos (Ríos, 2015; Otzoy, 2012). Las semillas de macambo habitualmente son consumidas asadas a la brasa, bebidas, sopas, mazamoras (sopas espesas) y turrónes (Gonzales, 2007).

El macambo tiene un alto potencial como materia prima en la industria del chocolate (Hernández y Calderón 2006). El chocolate es un alimento altamente energético, constituye un excelente suplemente nutricional para atletas o para personas con altos requerimientos de actividad física (maratonistas, soldados en campaña, entre otras), 100g de chocolate aportan 500 calorías, más que el pan (250 Cal), que la carne (170 Cal), o que la leche entera (70 Cal) (Valenzuela, 2007).

La existencia de tecnología apropiada garantiza la utilización sostenible del macambo (Melgarejo, 2006) y por con siguiente impulsa la inversión de nuevas tecnología para obtener un licor con estándares de calidad altos, dichas tecnologías que no contamos, además ayudará al poblador Loretano a dar un valor agregado de la materia prima, de la cual somos provistos en abundancia y no se sabe aprovechar.

Se obtuvo parámetros tecnológicos para la obtención del licor de *Theobroma bicolor* (macambo) con alto valor nutricional para su consumo humano. A través de la fermentación, se determinó el mejor producto con análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales, finalmente se determinó el tiempo de vida útil del producto (licor de *Theobroma bicolor*).

Así mismo, se estableció parámetros tecnológicos para la fermentación y secado que permitan aprovechar sosteniblemente las semillas de macambo y producir los productos intermedios (licor de chocolate) y el chocolate.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. GENERALIDADES DEL *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

2.1.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA ESPECIE.

Es un árbol que al estado natural en el bosque puede alcanzar hasta 25 a 30 m de altura y 20 a 30 cm de diámetro. Cultivado puede tener menores dimensiones, copa oblonga e irregular, conformada por escasos verticilos de 3 ramas pendulares que pueden llegar a tocar el suelo. Corteza externa agrietada color beige gris. (Ruiz, 1993; Flores 1997) citado por (Gonzales y Torres 2010).

Hojas simples, alternas, con estipulas nerviación palmeada con 5 a 7 nervios conspicuos en el envés; haz blanquecino. Láminas dimorfas en el tronco, ampliamente ovado cordadas, de 12 a 15 cm de largo y de 6 a 10 cm de ancho, en las ramas laterales de forma oblonga a elíptico-ovadas. (Flores, 1997; Ruiz 1993) citado por (Gonzales y Torres, 2010).

En general las láminas son cactáceas, enteras de ápice acuminado y base cordada, envés tomentoso, gris plateado y con nerviación conspicua. Pecíolo de 1,2 a 2,5 cm o de 10 a 38 cm de largo. (Flores, 1997; Ruiz 1993) citado por (Gonzales y Torres 2010).

Inflorescencia axilar en ramas jóvenes, flores regulares bisexuales, color rojo purpúreo; cáliz con cinco sépalos, corola con cinco pétalos; cinco estambres unidos con los estaminodios formando un tubo; ovario súpero pentacarpelar. (Flores, 1997; Ruiz 1993) citado por (Gonzales y Torres 2010).



Figura 1: Árbol de *Theobroma bicolor* (macambo).

Fuente: (Gonzales y Torres 2010).

El fruto es de forma elipsoidal, es la más grande del género *Theobroma*, de unos 25 a 35 cm de largo por 12 a 15 cm de ancho, peso entre 0,5 y 3,0 kg, la cáscara es leñosa y dura, de 12 mm de espesor, con cinco o muchas fisuras, de color amarillo cuando maduras. El fruto cae al suelo cuando está maduro. (Flores, 1997; Ruiz 1993) citado por (Gonzales y Torres 2010).



Figura 2: Fruto entero de *Theobroma bicolor* (macambo).

Fuente: (Gonzales y Torres 2010).

Así mismo se describen las características físicas del fruto del macambo con largo del fruto 15,0 cm, peso total 752 g, % peso de pulpa 23,76, % peso de cáscara 62,54, % de peso de semillas 13,70 y número de semillas 38. Semillas son ovales planas de 16 a 30 mm de largo y de 14 mm a 25 mm de ancho, y de 8 a 13 mm de espesor, cubiertas de un arilo grueso, fibroso, succulento de color. (Furlan y Bressani, 1999) citado por (Gonzales y Torres 2010).



Figura 3: Semilla de *Theobroma Bicolor* (macambo).

Fuente: (Gonzales y Torres 2010).

2.1.2. DESCRIPCIÓN Y TAXONÓMICA DE LA ESPECIE.

Tabla 1: Clasificación taxonómica de *Theobroma bicolor*.

Clasificación Científica	
División	Magnoliophyta (Angiospermae)
Clase	Magnoliopsida (Dicotyledonea)
Sub-clase	Dilliniidae
Orden	Malvales
Familia	Sterculiaceae
Genero	Theobroma
Especie	<i>Theobroma bicolor</i>

Fuente: (Cronquist, 1984) citado por (Ríos, 2015)

2.1.3. NOMBRES COMUNES DE LA ESPECIE.

El macambo (*Theobroma bicolor*), se puede conocer por diversos nombres de acuerdo al lugar donde se encuentre. Macambo (**Perú**); cacau do Perú (**Brasil**); bacau (**Colombia**); patashte (**Ingles**). (Flores, 1997) citado por (Gonzales y Torres 2010).

2.1.4. DISTRIBUCION GEOGRÁFICA Y ECOLÓGICA.

2.1.4.1. Fitogeografía.

Está distribuida en la cuenca amazónica en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador y Perú. (Flores, 1997).

Se cultiva en la selva peruana, principalmente en los departamentos de Loreto, Ucayali, San Martín y Junín. (Gonzales, 2007).

2.1.4.2. Hábitat.

Las condiciones ambientales adaptativas son: temperatura media anual de 25-28 °C, precipitación anual de 900-3000 mm, altitud variable desde el nivel del mar hasta 100 mm. (Flores, 1997).

Desarrolla en terrenos no inundables, en ultisoles y oxisoles ácidos y pobres en nutrientes, con textura variable desde arenosos, franco arcilloso hasta arcillosos de buen drenaje. No tolera hidromorfismo. (Flores, 1997).

2.1.5. UTILIZACIÓN.

2.1.5.1. Fruto.

El arilo del fruto maduro es comestible, tiene sabor agridulce agradable, aroma característico fuerte y contiene gran cantidad en proteínas y minerales. Se consume en estado natural o se utiliza en la preparación de refrescos y helados. (Flores, 1997).

Se consume también como materia prima seca para la elaboración de mezclas nutricionales para lactantes y adultos mayores.

Los frutos de segunda calidad son utilizados en alimentos de cerdos, aves y peces. (Flores, 1997).

2.1.5.2. Semilla.

Las semillas se consumen hervidas, asadas, torradas al natural, torradas y saladas, fritas y saladas, torradas acameradas, turrón con chancaca. (Gonzales, 2007).

También son empleadas en repostería en forma similar a las almendras del cacao y en la elaboración de derivados del cacao y chocolate. Contiene grasa de buena calidad. (Flores, 1997).

2.1.5.3. Otras Partes de la Planta.

La madera se utiliza como combustible y accesorios para artesanías. (Flores, 1997).

2.1.6. MÉTODOS DE PROPAGACIÓN.

2.1.6.1. Propagación Sexual.

La propagación por semilla botánica, es el método tradicionalmente utilizado. La semilla tiene viabilidad corta, debe sembrarse inmediatamente. (Flores, 1997).

2.1.7. PRODUCCIÓN Y COSECHA.

La fructificación se inicia a los 5 años después de la plantación. La fructificación ocurre entre los meses de agosto hasta abril. (Flores, 1997).

El fruto maduro fisiológicamente se desprende de la rama y cae al suelo, el pericarpo duro no es afectado al impacto de la caída. La cosecha es manual, directamente del suelo. (Flores, 1997).

2.1.8. VALOR NUTRICIONAL DEL *Theobroma bicolor* (pulpa y semilla).

El macambo es un alimento que suministra calorías, algunos minerales y vitamina C, el valor nutritivo de la pulpa y semilla se indica a continuación:

Tabla 2: Contenido nutricional de 100 g de *Theobroma bicolor* (macambo).

Componentes	100g de Pulpa	100g de Pulpa + Semilla
Energía	44,0 cal	177,0
Agua	88,0 g	61,1
Proteína	2,1 g	6,7
Grasas	0,8 g	9,2
Carbohidrato	8,3 g	21,5
Fibra	0,7 g	18,2
Ceniza	0,8 g	1,5
Calcio	-----	19,0
Fósforo	44,0 mg	165,0
Hierro	0,5 mg	1,7
Vitamina A		
(Retinol)	28,0 mg	----
Tiamina	0,08 mg	0,95
Riboflavina	0,09 mg	1,05
Niacina	3,10 mg	1,20
Vitamina C		
(Ácido ascórbico)	22,80 mg	9,20

Fuente: Tabla peruana de alimentos.

2.1.9. ESTUDIOS REALIZADOS DEL *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

- ❖ En Guatemala, Furlán y Bressan (1998), compararon la composición química del *T. bicolor* y del *T. cacao* y que los datos presentados indicaban que el *T. bicolor* es una especie que tiene potencial para ser utilizado con *T. cacao*, en la elaboración de productos de Chocolate y otros subproductos, también referencia a los resultados encontrados en Costa Rica y Brasil acerca de la similitud de la grasa de *T. bicolor* con la manteca de cacao. Dichos estudios reportan que las semillas de *T. bicolor* poseen un 20 % menos de ácido palmítico y 15 % más de ácido oleico que la manteca de cacao. Lo cual implica que la manteca de *T. bicolor* posea mayor suavidad y un punto de fusión levemente menor al de *T. cacao* por su parte el *T. bicolor* mexicano presenta puntos de fusión, índice de yodo y saponificación muy similares a grasa de las almendras de cacao. Diferenciándose únicamente por la presencia de concentraciones altas de ácido esteárico y la presencia de ácido araquídico y behénico.

Así mismo, el contenido graso de las semillas de *T. bicolor* guatemalteco ha sido evaluado, por Ortiz (2002) encontró menores contenidos de los ácidos palmítico y esteárico, en comparación a *T. cacao* y mayores contenidos de ácido oleico.

La grasa de *T. bicolor* ha sido considerada por estudios previos como una manteca de buena calidad, ya que presenta una actividad antioxidante comparable o mayor que el BHT, presumiblemente por su contenido de ácidos salicílico, transcinámico, sinapínico, clorogénico, protocatequínico, gálico y p-hidroxibenzoico, por lo que se estudia su posible uso como antioxidante en alimentos, especialmente en aceites

- ❖ Claudia Lorena (2007), muestra que, el contenido de Ácidos Grasos de semillas de *Theobroma cacao* y *Theobroma bicolor* lo siguiente que el contenido de humedad de las mezclas trabajadas, fue en general bastante bajo, pues las semillas habían sido sometidas a un proceso de tostado, previo al análisis de composición química. Para el contenido graso se encontró un comportamiento inverso de cenizas y proteína cruda, pues

existió un incremento en el contenido graso a medida que aumentó el porcentaje de *T. cacao* en las muestras. Encontrándose un valor mínimo de 40.91% para la mezcla al 100% de *T. bicolor* y un valor máximo de 50.88 % para la mezcla al 100% de *T. cacao*.

La determinación del contenido de ácidos grasos de las mezclas examinadas, mostró que hay presentes 4 ácidos grasos, ácido esteárico, ácido oleico, ácido palmítico y ácido linoleico. Claramente se evidenció el aumento de ácido esteárico y ácido linoleico a medida que aumentaba el contenido de *T. bicolor* en las mezclas. El ácido palmítico, mostró por otro lado, un aumento a medida que el contenido de *T. cacao* en las muestras fue mayor.

- ❖ Hernández y Calderón (2006). Estudiaron la obtención de una cobertura de chocolate a partir de cacao silvestres, copoazú (*theobroma grandiflorum*), y maraco (*Theobroma bicolor*), de la amazonia colombiana. Donde tuvieron como resultado la diferencia existente entre las características sensoriales de sabor, olor y color de las dos especies de cacao en estudio y la del control, determinando que la muestra de licor de Copoazú presentaba un color y un olor muy cercano al licor comercial, mientras que el licor de Maraco presenta un color mostaza que no se parece en nada al comercial y un olor y sabor poco característicos del licor de cacao. Así mismo, en el contenido de minerales, muestran que el licor de Copoazú tiene un mayor contenido de grasa que los otros licores en estudio, mientras que el licor de Maraco tiene un mayor contenido de azúcares, los niveles de cenizas y humedad es similar en los tres licores.

2.2. LICOR DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

El prensado de las semillas origina tres productos principales el licor de cacao, la manteca de cacao, y del residuo el polvo de cacao. La mezcla de estos componentes origina la pasta de cacao, que es la base para fabricar los diferentes tipos de chocolate (Valenzuela, 2007). El licor de cacao, es la masa

semilíquida que se obtiene cuando las semillas previamente tostadas y descascarilladas son calentadas (70° - 80°) y molidas finamente (Arriaga, 2007) y es utilizado como el principal insumo para la elaboración del chocolate y productos de cacao (Egas, 2015). El licor de cacao mantiene todo el contenido de grasas y las características organolépticas del cacao con que fue preparado (Guerrero, 2006).

El licor en pasta, es el producto obtenido de la semilla del *Theobroma bicolor*, liberada del cotiledón, producto de la desintegración mecánica de granos, limpia y pelada, sin extraer ni añadir ningún de sus componentes, el grano es tostado, descascarado, molido y refinado. Esta pasta obtenida puede servir para la obtención de manteca o polvo de macambo. El licor (datos tomados del licor de cacao) debe tener una composición aproximada de 55% de grasa de cacao y 45% de sólidos. (Carlos, 2014).

La fermentación es un proceso importante, porque se forman ciertos procesos químicos que cuando se calientan a temperaturas de 40-45°C para que las microorganismos actúen sobre la pulpa y el haba, y obtengan sabor, olor y oleosidad al licor de macambo; por tal motivo, se debe tener en cuenta que a diferencia del cacao, el macambo tiene la consistencia del arilo más áspero y grueso por lo que se realizan investigaciones referente al tiempo de fermentación del arilo.

3. MATERIALES Y MÉTODO

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODO

3.1. MATERIALES

3.1.1. MATERIA PRIMA: FRUTO DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

El fruto de *Theobroma bicolor* (macambo) fue obtenido en el Fundo Zungarococha- UNAP; ubicado en carretera Iquitos – Nauta, Distrito de San Juan Bautista; Provincia de Maynas; Departamento de Loreto, conducidos a la Plantas Piloto de la UNAP, para el proceso de investigación.



Figura 4: Pulpa y semilla de macambo.

3.1.1.1. Criterios de inclusión.

- ❖ Fruto de tamaño promedio de 25 a 35 cm largo y 15 cm de ancho, peso de 2 a 3 kilogramos.
- ❖ Colores verde amarillento o amarillo claro.
- ❖ Olor agradable e intenso.
- ❖ Semillas sin daño después de pasar por la despulpadora.
- ❖ Semillas con un promedio de una pulgada.

3.1.1.2. Criterios de exclusión.

- ❖ Frutos con promedios menores.
- ❖ Colores amarillos intensos, marrones claros y manchas marrones oscuros.
- ❖ Frutos con rajaduras (debido al golpe de la caída), fisuras o agujeros ocasionados por animales o insectos.
- ❖ Frutos con presencia de hongos en la corteza.
- ❖ Semillas, al momento de procesar, con presencia negruzcas en el arilo.
- ❖ Semillas muy pequeñas y delgadas (generalmente solo contienen pulpa).



Figura 5: Fruto de macambo no apto para el proceso.

3.1.2. MATERIALES DE LABORATORIO.

- ❖ Crisoles.
- ❖ Cuchillos.
- ❖ Asa bacteriológica o de incubación.
- ❖ Gradillas.
- ❖ Matraces.
- ❖ Pinzas de metal.
- ❖ Mechero de bunsen.
- ❖ Pipetas.
- ❖ Placas Petri.
- ❖ Probeta graduada.
- ❖ Vaso precipitado.
- ❖ Campana de vidrio.
- ❖ Tubo de ensayo.

- ❖ Soporte universal.
- ❖ Bureta.
- ❖ Fiola.
- ❖ Matraz Erlenmeyer.
- ❖ Mesa de acero inoxidable.
- ❖ Papel filtro.
- ❖ Mortero.
- ❖ Bolsa bilaminado.

3.1.3. EQUIPOS DE LABORARIO.

- ❖ **Estufa Eléctrica:** Marca SELECTA. Modelo 209, temperatura máxima de 200 °C.
- ❖ **Incubadora:** Marca Memment.
- ❖ **Balanza analítica:** Marca SARTORIUS. Modelo BP2100S, capacidad máxima de 2,100g. Fabricación Alemana.
- ❖ **Contador de colonias:** Marca HELLIZE-USA
- ❖ **Autoclave:** Marca Gemmy, con capacidad de 16.6LTS, modelo SA-232X.
- ❖ **pH-Metro:** Marca JENWAY, graduable para la temperatura en la muestra y su calibración (buffer 4 y buffer 7), rango medición del equipo de 0-14.
- ❖ **Destilador de agua.**

3.1.4. EQUIPOS DE LA PLANTA.

- ❖ **Balanza digital cap 30 kg:** Marca Cavory – fabricación China.
- ❖ **Moledora manual:** Marca Corona Landersycia – fabricación China.
- ❖ **Licuada:** Marca Oster. Velocidades 3. Capacidad del vaso de 1.25 litros. Vaso de vidrio.
- ❖ **Fermentador:** Creación propia del investigador.
- ❖ **Secadora a Bandeja:** Con variador de ventilador con aire incluido. Electrozone. Motor 1 Hp. Velocidad de aire 5.08 m/s y tiene una temperatura de funcionamiento de 30 °C hasta 250 °C.

- ❖ **Selladora Eléctrica para bolsas de plástico:** Marca BROTHER, modelo PCS 200, 200/240v, 50/60 Hz, con temperatura y duración del desarrollo regulables.
- ❖ **Pulpeadora.**

3.1.5. REACTIVOS.

- ❖ Indicador de pH (buffer).
- ❖ Ácido bórico.
- ❖ Ácido clorhídrico.
- ❖ Sulfato de cobre.
- ❖ Sulfato de potasio.
- ❖ Hidróxido de sodio al 0.1N.
- ❖ Hexano.
- ❖ Etanol 96°.
- ❖ Agua destilada.
- ❖ Solución de fenolftaleína al 1%.

3.1.6. MEDIOS DE CULTIVO.

- ❖ Caldo *E. Coli*.
- ❖ Caldo ENDO.
- ❖ Caldo brilla.
- ❖ Caldo Mac Conkey.
- ❖ Agar nutritivo.
- ❖ Caldo lactosa.
- ❖ Caldo triptona.
- ❖ Agua peptonada.
- ❖ Reactivo de kovacs.
- ❖ Caldo glucosa.
- ❖ Agar citrato de Simmons.
- ❖ Reactivo para Voges Proskaver.
- ❖ Agar dextrosa papa.

- ❖ Caldo de enriquecimiento silenito – cisteína.
- ❖ Caldo de enriquecimiento tetrionato.
- ❖ Agar bismuto – sulfito.
- ❖ Agar salmonella – shigella.
- ❖ Agar XLD.
- ❖ Agar TSI.
- ❖ Agar LIA.
- ❖ Caldo urea.

3.1.7. MATERIALES DE BIOSEGURIDAD.

- ❖ Mandiles.
- ❖ Mascarilla.
- ❖ Guantes estériles.
- ❖ Gorro descartable.

3.1.8. OTROS MATERIALES.

- ❖ Detergente.
- ❖ Lejía.
- ❖ Escobilla.
- ❖ Plumón marcador.
- ❖ Caja de madera.
- ❖ Foco de 50 watts.
- ❖ Tabla d picar.
- ❖ Lava bajilla.
- ❖ Bolsa bilaminado.
- ❖ Bolsa hermética.
- ❖ Bolsa de tocuyo.
- ❖ Papel filtro.
- ❖ Papel toalla.
- ❖ Envase de acero inoxidable.

3.2. METODOLOGÍA.

3.2.1. TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO

El método del estudio se realizó en el enfoque Cuasi experimental.

$$O_1 \text{ ----- } X \text{ ---- } O_2$$

F1 = Tipo de secado

- ❖ Bandeja
- ❖ Solar

		Condiciones de Secado
		Con fermentación
Tipo de Secado	Bandeja	T ₁
	Solar	T ₂

3.2.1.1. POBLACIÓN Y MUESTRA

- a. **Población:** Todas las variedades de *Theobroma bicolor*, existentes en el Fundo Zungarococha- UNAP; provincia de Maynas, región Loreto.
- b. **Muestra:** Todos los frutos de *Theobroma bicolor*, existentes en Fundo Zungarococha- UNAP; Iquitos – Perú.

3.2.2. METODOLOGIA DE PROCESAMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.

3.2.2.1. Proceso de elaboración de licor de *Theobroma bicolor*.

En la Figura 6 se puede observar la elaboración para obtener el licor o pasta de *Theobroma bicolor* (macambo), el proceso se indica a continuación:

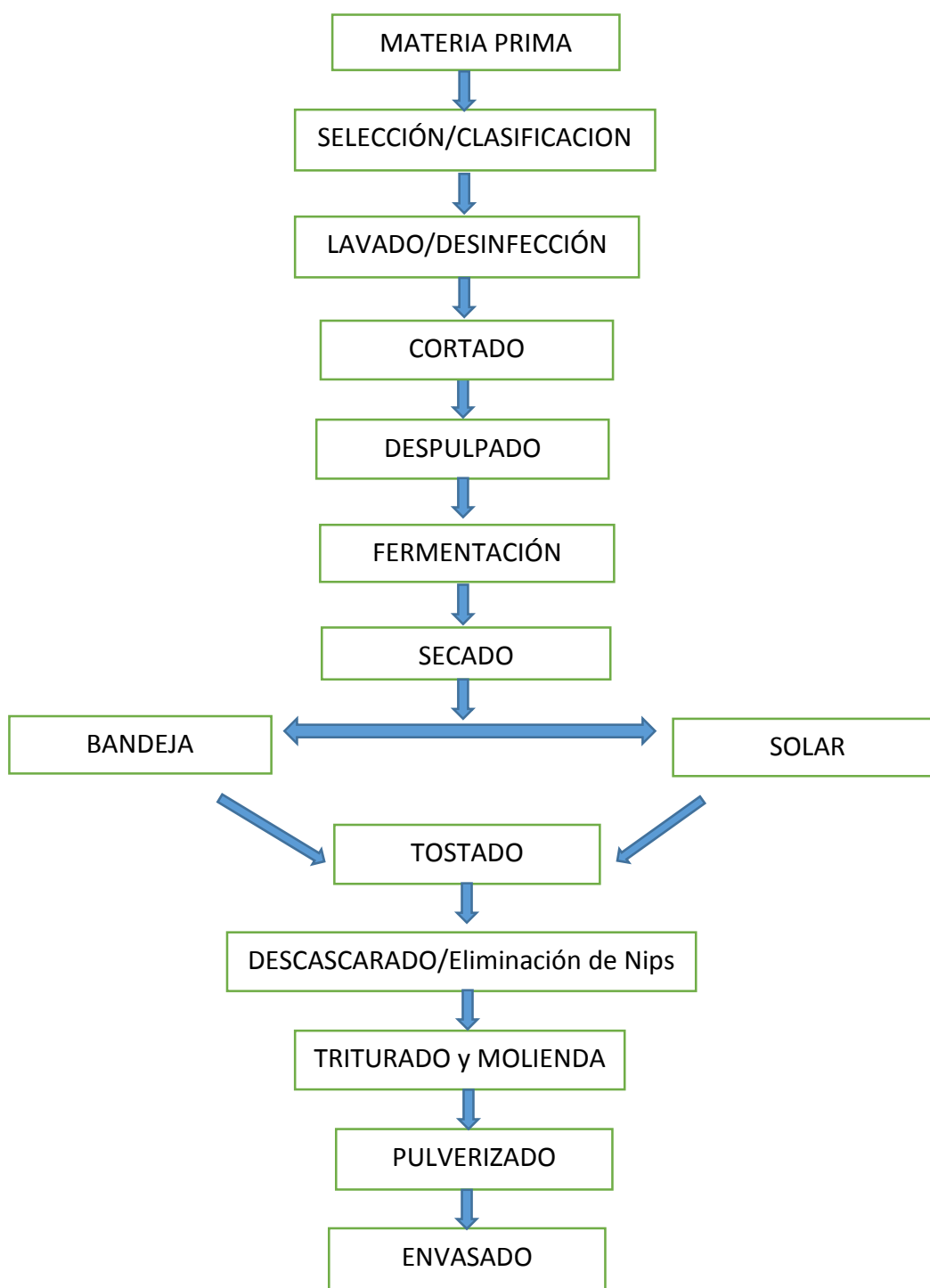


Figura 6: Flujograma para la elaboración del licor de macambo.

a. Materia Prima.

Se utilizó el fruto de *Theobroma bicolor* (macambo) de todas las variedades.

b. Selección y clasificación.

De acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión del fruto se seleccionó y clasifico para la posterior elaboración del licor.

c. Lavado/desinfección.

El fruto del macambo se lavó con agua potable en tina de acero inoxidable, friccionarlo con una escobilla con la finalidad de eliminar residuos impregnados en el fruto tales como arena, piedras, metales, trozos de plantas, etc., para luego ser desinfectado con hipoclorito de sodio más agua en una proporción del 0.03% por diez minutos.

d. Cortado.

Una vez escurridos los frutos, se procede dar golpes con el lomo del cuchillo por todo el ancho de la corteza del fruto, procurando con ello no dañar el haba mucho menos la semilla, cortando las invaciones duras.

e. Despulpado.

El macambo presenta abundante pulpa, un arilo grueso y duro, siendo la capa que no permite una adecuada fermentación, por ello debe pasar por la pulpeadora (malla 1.2 mm) para disminuir la cantidad de pulpa, mecanismo que al ser manual demanda mucho tiempo.



Figura 7: Despulpado de la fruta.

f. Fermentación

Se realiza en una caja de madera con pequeñas aberturas en la base para proporcionar ventilación y drenaje a la pulpa líquida, proceso realizado al principio por acción de las levaduras nativas presentes en la propia pulpa, posteriormente la caja es colocada en una incubadora de acero inoxidable, adecuada con un foco interior de 50 watts, la temperatura inicial es de 40 y final de 45°C por un periodo de 72 horas continuas, para que la fermentación sea homogénea, asimismo, se realizó remociones cada 6 horas, manteniendo la inocuidad del proceso mediante medidas de bioseguridad respectivas.



Figura 8: Fermentación de las habas de macambo.

g. Secado

El secado se realizó de dos tipos: bandeja y solar.

- ❖ **Bandeja:** Las semillas se colocaron en una lata con poros de 1x1 m², luego se colocó en el secador a bandeja Electrozone con una velocidad de aire de 50 herz y a una temperatura de 60 ± 2 °C por un lapso de 5 horas.
- ❖ **Solar:** Las semillas se colocaron en una rejilla de 50x80 cm, se colocó directamente al sol y a una temperatura de 38 a 45°C por 2 – 3 días.

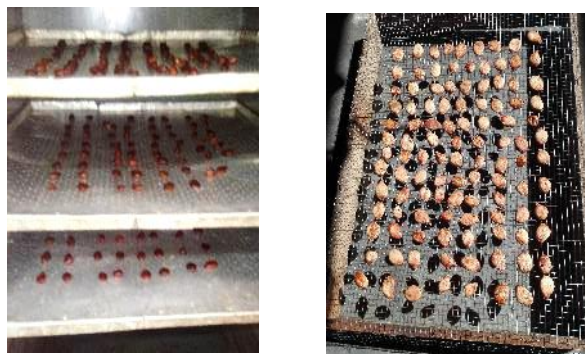


Figura 9: Secado a bandeja y secado solar.

h. Tostado

Se realizó a fuego lento en una sartén a 120 ± 5 °C durante 8 minutos, después se realizó el descascarado en caliente para facilitar la remoción de las cubiertas.



Figura 10: Tostado de las semillas de macambo.

i. Descascarado

Se realizó en caliente para facilitar la extracción de las cubiertas, dando pequeños golpes a las habas y así poder desprender el nips.

j. Triturado y Molienda.

El triturado de forma artesanal, se realizó en un batán con un pilón de forma artesanal en un tiempo de 30 min aprox., hasta obtener una consistencia grasosa al tacto. Posteriormente la masa es molida en molino de tornillo sin fin comercial para reducir el tamaño de partícula, esencial para la extracción de licor de macambo.



Figura 11: Triturado y Molido de las habas

k. Pulverizado.

Se pulverizó en una licuadora marca Oster inmediatamente después de triturar, se realizó este proceso para obtener un producto pastoso.

I. Envasado.

Se envaso en bolsa bilaminado en forma de paquetes pequeños, sellándose de manera que el producto no absorba humedad y tenga más tiempo de vida útil.



Figura 12: Envasado del licor de *Theobroma bicolor*.

3.2.3. METODOS ANALITICO DE CONTROL.

Se realizó el análisis físico-químico, para conocer la composición y características de la semilla de macambo y de los licores con los dos tipos de secado (bandeja y solar).

3.2.3.1. ANALISIS FÍSICO QUÍMICOS.

❖ Determinación de Humedad.

Para la determinación de la humedad se utilizó la Referencia Técnica: 31.005 de A.O.A.C. (1998).

Fundamento:

Se determina por el método de la estufa a 105°C hasta obtener peso constante. Es la cantidad de agua que se encuentra en un alimento o parte de una especie, y se expresa en porcentaje.

Procedimiento:

1. Pesar la placa y seca y se enfrió en el desecador.

2. Pesar 5gr de muestra y transferirlo a la placa
3. La muestra fue colocada en la estufa a una temperatura de 105 °C, por 5 horas, hasta obtener un peso constante.
4. Retirar la placa de la estufa, hacerlo enfriar en el desecador y se toma el peso final.

Se calculó el contenido de humedad utilizando la formula siguiente:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_1 - W_2}{WM} \times 100$$

Donde:

- W_1 = Peso placa con muestra seca.
 W_2 = Peso de la placa vacío.
 WM = Peso de la muestra.
100 = Factores de conversión a porcentaje.

❖ **Determinación de Grasa.**

Para la determinación de grasa se utilizó el método A.O.A.C. 960.39, (1998).

Fundamento:

Se basa en la extracción de la grasa de una determinada muestra mediante un solvente (Éter di etílico, éter de petróleo, cloroformo, hexano, etc.) y luego eliminación del solvente por evaporación.

Procedimiento:

Para la determinación de grasa por este método se debe usar muestras deshidratadas o como máximo con 11% de humedad.

1. Pesar el balón limpio, seco y frio.
2. Se pesó 5g de muestra previamente desecada en papel filtro y armar el cartucho.
3. Colocar el paquete en el centro del extractor soxhlet y agregar el hexano hasta que una parte del mismo descienda a través del sifón del equipo hacia

el balón, conectar la fuente de calor (cocina eléctrica) por un tiempo de 5 horas.

4. Transcurrido el tiempo, se destiló la mezcla de hexano, colocamos el balón y su contenido en una estufa 100 °C, enfriar por espacio de 3 horas.
5. Sacarlo de la estufa y colocarlo en el desecador.
6. Pesar el balón conteniendo la grasa.

El contenido de la grasa se calculó mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{P_1 - P_2}{PM} \times 100$$

Donde:

P_1 = Peso del balón más muestra grasa.

P_2 = Peso del balón vacío.

PM = Peso de la muestra.

❖ **Determinación de Proteína.**

Para la determinación de proteína se utilizó el método ITINTEC-NTP 201.021.

Fundamento:

Las proteínas son polímeros cuyas unidades básicas son aminoácidos. En la molécula de una proteína existen cientos o a veces miles de aminoácidos que se encuentran unidos unos a otros por enlaces peptídicos. En los alimentos por lo general se presentan veinte aminoácidos.

Procedimiento:

- a. Primera etapa: Digestión.
 1. Pesar 0.2 g de muestra seca y adicionar catalizador (1.5g de sulfato de potasio + 0.005g de sulfato de cobre) y colocar en el balón de Kjeldahl.
 2. Adicionar 3.5ml de H₂SO₄ concentrado.
 3. Calentar el balón suavemente hasta que cese la formación de espuma.

4. Digerir por ebullición vigorosa hasta que el contenido del balón muestre transparencia y de un color ligeramente azul-verdoso (continuar la digestión por 45 min) el tiempo total de digestión no debe ser menor de 2 horas.
 5. La digestión termina cuando el contenido del balón está completamente cristalino.
- b. Segunda etapa: Destilación.
1. Dejar enfriar la muestra digerida. Luego adicionar 50ml de agua destilada y colocar en el equipo de destilación. Agregar 15ml de hidróxido de sodio (NaOH) al 50%.
 2. Colocar en un Erlenmeyer 20ml de solución de ácido bórico más 03 gotas de solución indicadora.
 3. Introducir la salida de vapor del destilador en la solución de ácido bórico contenido en el Erlenmeyer para atrapar el destilado producido. Destilar la muestra hasta obtener 40ml de volumen final de destilado.
 4. Titular con HCl a 0.1 N el destilado obtenido y anotar el gasto.

El porcentaje de nitrógeno se calculó:

$$\% N_2 = \frac{V \times N \times \text{Factor } N_2}{PM} \times 100$$

Donde:

V = Gasto de titulación ácido sulfúrico.

N = Normalidad del ácido sulfúrico.

PM = Peso de la muestra

Factor N_2 = 0.014

El porcentaje de proteína se obtiene a través:

$$\% \text{ Proteína} = \% N_2 \times \text{Factor de proteína}$$

Factor de proteína = 6.25

❖ **Determinación de Ceniza.**

Para la determinación de ceniza se utilizó el método de N.T.P. 206.012.

Fundamento:

La ceniza es el residuo inorgánico de una muestra incinerada a 550°C, su cuantificación es el inicio para la determinación de los macro y micro minerales en los alimentos.

Procedimiento

1. Colocar el crisol limpio en estufa a 100°C durante una hora.
2. Colocar el crisol en el desecador para que se enfríe y pesarlo, siempre manipulando con pinzas de metal o guantes para evitar ensuciarlo con la grasa de los dedos.
3. Pesar 1.5 a 2.0 gramos de muestra y colocarlo en el crisol de porcelana.
4. Colocar en la mufla a temperatura de 550°C por 3 - 5 horas.
5. Cumplido el tiempo de incinerado, retirar el crisol de la mufla cuando la temperatura haya descendido a 100°C; colocarlo en un desecador para que se enfríe.
6. Pesar el crisol con las cenizas.

Calculamos el porcentaje de ceniza con la siguiente formula.

$$\% \text{ ceniza} = \frac{(W - W_0) \times 100}{S}$$

Donde:

W° = peso del crisol vacío (g)

W = peso del crisol con cenizas (g)

S = peso de la muestra (g)

❖ **Determinación de Carbohidratos.**

Para determinar carbohidratos se hizo por diferencia de porcentaje (MINSAs, 2009).

Fundamento:

Para determinar carbohidratos, se utiliza los cálculos de humedad, ceniza, grasa y proteína. Los carbohidratos constituyen parte de los compuestos vegetales. Son carbohidratos los diferentes azúcares, almidones, celulosa, hemicelulosas, pectinas y numerosas gomas.

La diferencia de porcentaje se calculó:

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\%H + \%C + \%G + \%P)$$

Donde:

%H = Porcentaje de Humedad.

%C = Porcentaje de Ceniza.

% G = Porcentaje de Grasa.

%P = Porcentaje de Proteína.

❖ **Determinación de Fibra bruta.**

Para determinar fibra bruta se utilizó la Referencia Técnica: A.O.A.C. 920.39, (1998).

Fundamento:

Para determinar fibra bruta, se utiliza una muestra seca desangrada, la cual primero es sometida a una digestión ácida con una solución de ácido sulfúrico al 1.25%, luego el residuo de este proceso es sometido a una digestión alcalina con solución de hidróxido de sodio al 1.25%.

Procedimiento:

1. Pesar 1 – 2 g de muestra y colocar en un Erlenmeyer de 1 lt.
2. Añadir 200ml de ácido sulfúrico al 1.25% que ha sido previamente calentado a ebullición.
3. Añadir agente antiespumante o en todo caso perlas de vidrio.
4. Hervir suavemente durante exactamente 30 minutos bajo condensador de reflujo, rotando periódicamente los matraces Erlenmeyer para homogenizar el contenido y evitando que las partículas se adhieren a la pared del matraz.

5. Filtrar el contenido con embudo de Bunchner (o Hartley) preparado con papel de filtro mojado.
6. Arrastrar por lavado la muestra de nuevo hacia el matraz original utilizando 200ml de hidróxido de sodio al 1.25% y calentar hasta ebullición.
7. Hervir por exactamente 30 minutos y seguir con el mismo cuidado de la ebullición.
8. Transferir todo el material insoluble a un crisol empleando agua hirviendo.
9. Lavar sucesivamente con agua hirviendo, ácido clorhídrico al 1% y finalmente con agua hirviendo hasta que el agua de filtrado quede exento de ácido.
10. Lavar dos veces con etanol.
11. Lavar tres veces con acetona.
12. Desecar a 100°C, hasta peso constante.
13. Incinerar en horno de mufla a 550°C durante una hora.
14. Enfriar el crisol en desecador y volver a pesar.

El porcentaje de fibra se obtuvo aplicando la siguiente formula:

$$\% \text{ de Fibra} = \frac{P_2 - P_3}{PM} \times 100$$

Donde:

P₂ = Peso de la materia insoluble.

P₃ = peso de las cenizas.

PM = peso de la muestra.

❖ **Determinación de Vitamina C.**

Para determinar vitamina C se utilizó el método de volumetría o titulación con la Referencia Técnica: A.OA.C. 43.064 (1984).

Fundamento:

La normativa de la calidad para la comercialización de frutas y hortalizas frescas está regulado mediante la Norma Técnica Peruana.

Procedimiento:

1. Tomamos de 10 a 25 ml. de la muestra y completamos con HPO₃ al 3% filtrar o centrifugar.
2. Tomamos una Alícuota (5ml.) del extracto de la muestra conteniendo el HPO₃.
3. Agregamos 2.5ml de acetona y titulamos con el colorante hasta que persista por 15 segundos el color rosa débil.

Calculamos la Vitamina C expresado con:

Mg de vitamina C / 100 ml. o 100g.

Calculo del factor de colorante: $C = 0.5/B$

C = Factor de colorante.

B = titulación (gasto ml).

Calculo:

$$A = \frac{B \times C \times D \times 100}{E \times F}$$

Donde:

A = Ascórbico ácido mg/100gr

B = Titulación (ml)

C = Factor de Colorante (indicador)

D = Volumen completado

E = Alícuota del extracto

F = peso (g) o volumen de la muestra

❖ **Determinación de Calorías**

Se determinó por cálculo directo, donde intervienen porcentaje de grasas multiplicado por nueve, porcentaje de proteínas multiplicado por cuatro y porcentaje de carbohidratos multiplicado por cuatro (MINSa, 2009):

$$\% \text{Calorías} = (\text{Px}4) + (\text{CHOx}4) + (\text{Gx}9)$$

Donde:

P = % proteína

C = % carbohidrato

G = % de grasa

4 = coeficiente de conversión para proteína y carbohidratos a caloría

9 = coeficiente de conversión de grasa a caloría

• **Determinación de pH (Método Buffer)**

Determinación por el método de solución buffer.

Procedimiento:

1. En un matraz de 100ml se agregó 45ml de agua destilada más 5g de muestra previamente molida.
2. Se removió por aproximadamente 10min hasta homogenizar.
3. Finalmente se calibro el pHmetro con solución buffer, se introdujo en la solución preparada de agua destilada y muestra y se lee cuando se estabiliza los resultados.

❖ **Determinación de acidez Titulable.**

La determinación se realizó con el método AOAC 924.5 Acidity (Titratable).

Reactivo: hidróxido de sodio 0,1N e indicador fenolftaleína.

Procedimiento:

1. Pesamos 10 g de muestra y diluimos con aproximadamente 250 de agua destilada.
2. Añadimos 0.3 mL de fenolftaleína por cada 100 mL de solución a ser titulada.
3. Titulamos con álcali 0.1N hasta coloración rosada persistente.

Calculamos el porcentaje de acidez titulable con la siguiente formula:

$$\text{Gasto ácido cítrico \%} = \text{Vx}0,07\text{xNx}100/\text{w}$$

Donde:

V = mL de solución de hidróxido de sodio.

N = normalidad exacta de álcali.

W = peso de muestra

❖ **Determinación de minerales.**

• **Determinación de Calcio.**

Para determinar calcio se utilizó el método de volumetría complexométrica con la Referencia Técnica: UNE 77040: 2002.

Procedimiento:

✓ Tratamiento previo:

1. Se lleva a ceniza una porción exactamente pesada de la muestra (10 gramos).
2. Se disuelve la ceniza en ácido clorhídrico 0.1 M y se lleva a 100ml.

✓ Procedimiento final:

1. Se pipetea una alícuota de la solución preparada previamente, se añade NaOH 1M hasta hacer a la solución alcalina.
2. Luego se titula con solución de EDTA 0.01 M utilizando como indicador Murexida hasta cambio de color.
3. Se anota el gasto de EDTA para calcular los miligramos de Calcio contenidos en la muestra.

Calculo:

$$\text{Ca} \left(\frac{\text{me}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{ml EDTA} \times \text{N EDTA} \times \text{ml Indicador gastado}}{\text{ml Alicuota} \times \text{Peso en gr}} \times 100$$

• **Determinación de Hierro.**

Para determinar hierro se utilizó el método de espectrofotométrico con O - Fenetrolina con la Referencia Técnica: NTE INEN 0979 (1984).

Procedimiento:

✓ Tratamiento previo:

1. Se lleva a ceniza una porción exactamente pesada de la muestra (10 gramos).
2. Se disuelve la ceniza en ácido clorhídrico 0.1 M y se lleva a 100ml.

✓ Procedimiento final:

1. De la solución preparada previamente se pipetea un volumen exactamente medido y se coloca en una fiola de 100ml. Se añade solución buffer de Acetato y luego solución de clorhidrato de hidroxilamina, dejar en reposo por 5 min.
2. Añadir luego o-fenantrolina con lo cual colorea de rojo naranja con el hierro presente, se enrasa 100ml y se deja reposar 30 min.
3. Se realiza el mismo procedimiento, son diferentes volúmenes de la solución patrón de hierro para la curva de calibración.
4. Luego se mide la absorbancia de la muestra y los patrones a una longitud de onda de 510nm.

Cálculo

$$\text{mg} \frac{\text{Fe}}{\text{l}} = 1000 \times \frac{\text{m}}{\text{cm}^2 \text{ de muestra}}$$

Donde:

M = Cantidad de hierro determinado mediante la curva de calibración en mg.

- **Determinación de Magnesio.**

Procedimiento:

1. Lavamos la muestra, pelamos y maceramos en un mortero.
2. Sometimos a reflujo durante 30 minutos 50 g. de muestra en 250 ml. De etanol del 90%
3. Seguido Filtrar y lavar el precipitado con etanol del 70%.

4. Desecamos el precipitado en estufa de vacío a 350°C.
5. Tomamos las muestras duplicadas de 1g de precipitado e incinerar a 550°C durante otras cuatro horas.
6. Añadimos dos gotas de ácido sulfúrico y continuar la incineración durante otras 4 horas.
7. Disolvimos el residuo en ácido clorhídrico p.a y transferirlo cuantitativamente a un matraz volumétrico de 50ml.
8. Añadimos suficiente cantidad de solución de cloruro de lantano al 0.1 % (como agente quelante) y determinar el contenido en magnesio en espectrofotómetro de absorción atómica.

- **Determinación de Sodio.**

Procedimiento:

1. Evaporamos cantidades de 5 g de muestra líquida a sequedad e incinerar a temperatura no superior a 550 °C o tomar de 0.1 al 0,1 de muestras sólidas e incinerar igualmente a temperatura no superior a 550 °C.
2. Repetimos la adición de ácido clorhídrico concentrado p.a y evaporar cuidadosamente la sequedad.
3. Repetimos la adición de ácido y la evaporación
4. Arrastramos con agua destilada la ceniza tratada a un Erlenmeyer, añadir 50ml. De oxalato amónico al 17,0 % y una cantidad precisa pero suficiente de solución de cloruro de litio al 17,0 % para ajustar la concentración dentro del margen de un fotómetro de llama.
5. Agitamos y filtramos
6. Se atomizó cantidades fijas de solución patrón y construimos una curva con las lecturas obtenidas.
7. Repetimos usando la solución problema.
8. Calculamos la cantidad de sodio presente en la solución problema, finalmente se relacionó al peso original de la muestra

- **Determinación de Fosforo.**

Para la determinación de fosforo se utilizó el método de espectrofotométrico con Molibdovanadato de Amonio con la Referencia Técnica: NTE INEN 0230 (1978).

Procedimiento:

✓ Tratamiento previo:

1. Se lleva a ceniza una porción exactamente pesada de la muestra (10gr).
2. Se disuelve la ceniza en ácido clorhídrico 0.1 M y se lleva a 100 ml.

✓ Procedimiento final:

1. De la solución preparada previamente se pipetea un volumen exactamente medido y se coloca en una fiola de 50ml.
2. Se añade la mezcla 1:1 de Molibdato de Amonio y Vanadato de Amonio con lo cual se colorea de amarillo cuando hay presencia de fosforo en la muestra.
3. Se enrasa hasta 50ml y se deja en reposo durante 30 min. para que desarrolle el color.
4. De la misma manera se trata volúmenes exactamente medidos de la solución patrón de fosforo para obtener la curva de calibración.
5. Luego de transcurridos los 30 minutos medir la absorción de la muestra y patrones a una longitud de onda de 420nm.

Calculo:

$$P_{2O_5} = 50 \times \frac{m_1}{M_2 \times V}$$

Donde:

P_{2O_5} = Contenido de fosforo, expresado como anhídrido fosfórico, en porcentaje de masa.

m_1 = Masa de fosfato, determinado en la curva de calibración en mg.

m_2 = Masa de la muestra en gramos.

V = Volumen de la alícuota empleada para precipitar el fosforo en cm^3 .

3.2.3.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.

PREPARACION Y DISOLUCION DE LA MUESTRA DE ALIMENTO.

1. Se taró el vaso vacío estéril y se pesamos 10 gramos de la muestra problema.
2. Añadimos 90ml. de diluyente (Dilución 10^{-1}).
3. Pipeteamos 1ml. de esta dilución y mezclamos en un tubo que contiene 9ml. de diluyente (Dilución 10^{-2}).
4. Mezclamos el líquido cuidadosamente.
5. Homogenizamos y transferimos 1ml. a otro tubo conteniendo 9ml. de diluyente y mezclamos. (Dilución 10^{-3}).
6. Repetimos este último pasó hasta obtener el número de diluciones deseadas.

❖ **Determinación de numeración de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables.**

Para la determinación de Aerobios mesófilos se utilizó el método de recuento estándar en placa. ICMSF 2000.

Procedimiento:

1. Preparamos las muestras de alimentos de acuerdo al procedimiento sobre preparación de las muestras de alimentos.
2. Pipeteamos 1 ml a partir de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} a dos placas Petri estéril vacías por dilución.
3. Agregamos más o menos 15 ml de agar Plate Count a las placas que contiene las alícuotas y homogenizar mediante movimientos de vaivén y rotación de las placas.
4. Como control de esterilidad, adicionamos a una placa Petri estéril agar sin inocular y a otro 1 ml del diluyente (agua peptonada tamponada), al cual, se le adicionamos 15 ml de agar Plate count.
5. Dejamos solidificar el agar y luego invertimos las placas e incubamos a 35 – 37°C, durante 18 – 48 horas.

❖ **Determinación de Coliformes Totales**

Para la determinación de coliformes totales se utilizó el método APHA, multiples tubes fermentation technique/ total coliforms 9221.B.3 completed phase.

Procedimiento:

1. Preparamos las muestras de alimentos de acuerdo al procedimiento sobre preparación de las muestras de alimentos.
2. Pipeteamos 1ml. de cada uno de las diluciones en tubo de caldo lauril sulfato, utilizando 3 tubos por dilución.
3. Anotamos los tubos que muestran la producción de gas. (Prueba presuntiva).
4. De cada tubo que contiene gas transferir una asada en tubo que contiene caldo brilla, o aislar sobre placas con Agar ENDO. Incubamos a 35-37°C X 24-48 horas.
5. Confirmamos la presencia de bacterias coliformes por:
 - a) Formación de gas en el Caldo BRILLA
 - b) Formación de colonias rojas de halo rojo en agar ENDO.
 - c) Anotamos el número de tubos confirmados, referirse a la tabla del NMP para expresar el resultado.

❖ **Determinación de Enterobacterias**

Para la determinación de Enterobacterias (UFC/g) se utilizó el método horizontal para la detección y numeración de Enterobacterias. Método ISO 21528-2:2004.

Procedimiento:

1. Preparamos las muestras de alimentos de acuerdo al procedimiento sobre preparación de las muestras de alimentos.
2. Pipeteamos 1 ml a partir de las diluciones 10-1, 10-2, 10-3 a dos diluciones.
3. Agregamos más o menos 5 ml de agar Biliado rojo violeta glucosa (VRBG) atemperado a 45-47 °C, a las placas que contienen las muestras y homogenizar mediante movimientos de vaivén y rotación de las placas.

4. Como control de esterilidad, adicionamos a una placa petri estéril agar sin inocular y a otro 1 ml del diluyente (Agua peptonada tamponada) mas 15 ml de agar.
5. Dejamos solidificar el agar y nuevamente agregar unos 10 ml de agar VRBG.
6. Después de 15 minutos invertimos las placas e incubar a 35 - 37 °C, durante 18 a 24 horas.
7. Después del periodo de incubación contamos las placas que se encuentran en un rango de lectura de 30 a 300 colonias típicas. Las colonias típicas son de color rojo violeta rodeadas de un precipitado violeta.
8. Confirmación de colonias. Sembramos como mínimo 3 colonias típicas sobre agar PC e incubar a 35 °C por 18-24 horas. Con el crecimiento obtenido realizar las siguientes pruebas:

Prueba Citocromo - oxidasa

Para la detección de esta enzima se colocó papel filtro de unos 5 cm² en el centro de una placa Petri vacía. En el centro del papel colocamos 3 gotas del reactivo Clorhidrato de N-dimetilparafenilendiamina (100 g en 100 ml de agua destilada) y sobre ella colocamos el cultivo. De lo contrario utilizamos las tiras comerciales al cual de adiciona el cultivo.

Las Enterobacteriaceas son CITOCROMO OXIDASA NEGATIVA.

Prueba de fermentación, gas y SH₂ sobre Agar TSI

La siembra se realizó con la ayuda de un asa, en la superficie inclinada por estría y en fondo por picadura. Incubamos en estufa a 35 °C – 37 °C por 24 horas.

Lectura de resultados.

- Fermentación de la glucosa: fondo amarillo
- No fermentación de la glucosa: fondo sin cambio (rojo grosella)
- Fermentación de la Lactosa: superficie inclinada amarilla.
- No fermentación de la lactosa: superficie inclinada alcalina (rojo grosella)
- Gas: burbuja en la masa del medio, entre el medio y el tubo a veces rotura del medio.

- Producción de SH₂: ennegrecimiento en la zona que separa el fondo de la pendiente o en toda la parte inferior del tubo.

Confirmada las colonias típicas se calculamos las UFC/ g o ml de alimento.

Interpretación del medio Kliger Iron Agar

Microorganismo	Fondo	Superficie	SH ₂
<i>Enterobacter aerogenes</i>	AG	A	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	AG	A	-
<i>Escherichia coli</i>	AG	A	-
<i>Proteus vulgaris</i>	AG	SC	+
<i>Proteus morganii</i>	A o AG	SC	-
<i>Shigella sonnei</i>	A	SC	-
<i>Salmonella typhi</i>	A	SC o ALC	- +
<i>Salmonella typhimuritam</i>	AG	SC o ALC	+
<i>Salmonella enteritidis</i>	AG	SC o ALC	+

AG = formación de ácido y gas (amarillo y burbujas)

A = formación de ácido (Amarillo)

SC = sin cambios

ALC = alcalino (rojo)

(+) = producción de SH₂ (ennegrecimiento)

(-) = sin ennegrecimiento.

❖ Determinación de Mohos y Levaduras

Para la determinación de mohos y levaduras se utilizó el método de recuento de mohos y levadura FDA.

Procedimiento:

1. La obtención de las diluciones de 10⁻¹ 10⁻² 10⁻³, se consiguió mediante la transferencia de 10ml de muestra a 90 ml de diluyente siendo ésta la primera dilución. Para la dilución 10⁻² se agregó 1ml de la dilución 10⁻¹ en 9ml de diluyente y así sucesivamente hasta conseguir la dilución 10⁻³.

2. Pipeteamos por duplicado a placas estériles alícuotas de 1 ml, a partir de las diluciones 10^{-1} 10^{-2} 10^{-3} .
3. Mezclamos las alícuotas con el agar papa dextrosa mediante movimientos de vaivén y rotación de las placas.
4. Como control de esterilidad, adicionamos a placas petri agar sin inocular y agar inoculado con el diluyente.
5. Una vez solidificado el agar invertimos las placas e incubamos a 22-25°C, durante 3-5 días.
6. Después de la incubación contamos las colonias de las placas que contengan entre 20 - 200 colonias.
7. Para el recuento Standard en Placa se sigue el siguiente procedimiento:
 - Seleccionamos las placas correspondientes a una dilución que contengan entre 20 – 200 colonias.
 - Tomamos la medida aritmética de los dos recuentos y multiplicamos por el factor de dilución (recíproco de la dilución utilizada). Reportamos el resultado como un recuento estándar en placa.
 - Si las placas de una misma dilución presentaron recuentos menores de 20 y mayores de 200, tomamos el promedio de los dos recuentos.
 - Si el número de colonias de las placas de dos diluciones consecutivas están dentro del rango de 20 – 200, computar el recuento por separado y establecer la relación de los dos recuentos. Si el cociente es menor de 2 reportamos el promedio de los dos valores, pero si el cociente es 2 o mayor de 2 solo se reportó el recuento menor.

❖ **Determinación de *Staphylococcus aureus***

Para la determinación de *Staphylococcus aureus* se utilizó el método de recuento directo en placa. FDA.

Procedimiento:

1. Preparamos las muestras de alimentos de acuerdo al procedimiento sobre preparación de las muestras de alimentos.

2. A partir de las diluciones colocamos asépticamente 1 ml sobre 3 placas de agar Baird-Parker, dividido equitativamente (0.3, 0.3, 0.4 ml)
3. Extendimos lo sembrado con la ayuda de la varilla de vidrio hasta que sea absorbido completamente.
4. Incubamos las placas en posición invertida a 35-37°C durante 30-48 horas.
5. Pasadas las primeras 30 horas de incubación, elegimos las placas que contengan entre 20-200 colonias aisladas y contamos todas las colonias negras brillantes de margen estrecho blanco y rodeado de halos claros que se extienden en el medio opaco.
6. Marcamos la posición de estas colonias e incubamos las placas hasta que se complete 48 horas.
7. Finalizado la incubación contamos todas las colonias características de *S. aureus* y también aquellas colonias negras con o sin margen estrecho blanco y sin zonas claras.
8. Llevamos a cabo la prueba de la coagulasa con un número significativo de colonias sospechosas (no menos de 5).
9. Se obtiene los resultados con el número de colonias características de *S. aureus* contadas en las 3 placas por dilución y la proporción de las que son coagulasa positiva, y calculamos en función de las diluciones correspondientes. El resultado se reporta como el número total de *S. aureus* por gramo de muestra de alimento.
10. Expresamos los resultados como <10 UFC/g o ml si el crecimiento es negativo.

Prueba de la Coagulasa

1. Pasamos las colonias elegidas a tubos de caldo Infusión cerebro corazón (BHI) e incubamos durante 20-24 horas a 35-37°C. Así mismo, también sembramos en agar TSA inclinado como cultivo para las pruebas adicionales.
2. Pasamos 0.2-0.3 ml de los cultivos a tubos que contienen 0.5 ml de plasma de conejo e incuba a 35°C por 6 horas.

3. Terminado este tiempo examinar con el fin de detectar la presencia de los coágulos, sino se observan, mantener los tubos a temperatura ambiente y leer a las 24 horas. La aparición de un coágulo bien diferenciado (4+) es indicativa de la actividad de la coagulasa
4. Para las colonias que presentan coagulasa 2+ y 3+, realizamos pruebas adicionales, realizando coloración Gram, pruebas de control con un organismo negativo y positivo. Incluso se puede realizar una prueba de aglutinación en látex (Staphylococcus Test™) que sustituya a la prueba de coagulasa para un resultado más rápido.

Exámenes Complementarios

1. Prueba de la catalasa. Utilizamos el cultivo inclinado de TSA para la prueba de catalasa en portaobjetos de vidrio, e iluminar adecuadamente para observar la producción de burbujas de gas.
2. Utilización Anaeróbica de la glucosa. Inoculamos abundantemente con el cultivo en TSA el tubo que contiene medio de fermentación de hidratos de carbono con 0,5% de glucosa, llevando el inóculo hasta el fondo del tubo. Cubrimos la superficie de agar con una capa de aceite de parafina estéril por lo menos 25 mm de espesor. Incubamos 5 días a 37 °C. El ácido es producido anaeróticamente si el indicador cambia a amarillo en todo el tubo, lo que indica la presencia de *S. aureus*. Ejecutar controles al mismo tiempo (cultivos positivos y negativos).
3. Utilización Anaeróbica de manitol. Repetimos lo mismo que la prueba anterior, solo cambiar glucosa por manitol como hidratos de carbono en el medio. *S. aureus* es por lo general positivo, pero algunas cepas son negativas. Ejecutamos controles al mismo tiempo.
4. Sensibilidad lisostafina. Transferimos del cultivo aislador con el asa de inoculación a 0.2 ml de tampón fosfato salino, y emulsionar. La mitad de células suspendidas transferir a otro tubo (13 x 100 mm) y mezclamos con 0.1 ml de tampón fosfato salino como control. Añadimos 0,1 ml lisostafina (solución de 25 microgramo/litro) a la otra mitad de la suspensión (tubo de prueba). Incubamos los tubos a 35 °C durante no más de 2 h. Si la turbiedad desaparece en el tubo de prueba, la reacción se considera positiva. Si por el

contrario la turbidez se mantiene después de 2 h, la prueba es negativo. *S. aureus* es generalmente positiva.

5. Producción de la Nucleasa Termoestable. Esta prueba se afirma que es tan específico como la prueba de coagulasa, pero menos subjetiva, porque se trata de un cambio de color de azul a rosa brillante. No es un sustituto para la prueba de coagulasa, sino más bien es una prueba de apoyo, en particular para las reacciones 2+ coagulasa. Preparamos microslides mediante la difusión de 3 ml de agar-azul de toluidina ácido desoxirribonucleico en la superficie de cada portaobjetos. Cuando el agar se ha solidificado, cortamos pozos de 2 mm de diámetro (10-12 por diapositiva) y retiramos el tapón de agar por aspiración. Añadimos 0.01 ml de muestra calentada (15 min en baño de agua hirviendo) de caldos de cultivo utilizado para la prueba de coagulasa en porta bien preparado. Incubamos los portaobjetos en cámara húmeda por 4 horas a 35 ' C. Desarrollo de un halo de color rosa brillante de por lo menos 1 mm de la periferia indica una reacción positiva.
6. G. Algunas características típicas de las dos especies de estafilococos y micrococos, lo que puede ser útil para su identificación, se muestran en la Tabla.

Las características típicas de *S. aureus*, *S. epidermidis*, y micrococos (a)

Característica de	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>Micrococos</i>
Actividad de catalasa	+	+	+
Coagulasa producción	+	-	-
Termonucleasa producción	+	-	-
Sensibilidad lisostafina	+	+	-
Anaeróbica utilización de			
Glucosa	+	+	-
Manitol	+	-	-

❖ **Determinación de Salmonella**

Para la determinación de *Salmonella sp.* se utilizó el método de Investigación de Salmonella sp. FDA.

Procedimiento:

Se realizó siguiendo las siguientes etapas:

1. Enriquecimiento No Selectivo

Pesamos 25 gramos de muestra y sembramos en 225ml de Caldo Lactosa. Incubamos a 37°C x 16-24 horas.

2. Enriquecimiento Selectivo

De la etapa anterior llevamos 1 ml de cultivo a Caldo de enriquecimiento Selenit Cisteina y Caldo de enriquecimiento Tetracionato. Incubamos a 37°C y 43°C por 24 horas.

3. Enriquecimiento en Placas de Agar Selectivo

- A partir de los cultivos anteriores sembramos por estría sobre agar S-S, B-S, y XLD a 35-37°C por 24-48 horas.
- Examinamos las colonias sospechosas de Salmonella.

4. Pruebas Bioquímicas

- Elegimos 2 o más colonias sospechosas y purificamos en placas de agar nutritivo o MacConker por 24 horas.
- Comprobamos la pureza de los cultivos mediante la coloración Gram.
- De los cultivos purificados realizamos las siguientes pruebas:

a) Degradación de Lactosa, Sacarosa y Glucosa con producción de H₂S:

Sembramos en agar TSI por picadura y estría e incubamos a 35-37°C por 24 horas.

b) Descarboxilación de Lisina:

Sembramos por picadura y estría en agar Lisina Hierro (LIA) a 35-37°C por 24 horas.

c) Hidrólisis Urea:

Inoculamos en forma abundante en caldo Urea. Incubamos a 35-37°C por 24-48horas.

5. Pruebas Serológicas

- Prueba final de confirmación de colonias sospechosas de Salmonella, que requiere la reacción con Suero Polivalente anti O (somático) y suero anti H (flagelar).

3.2.3.3. ANÁLISIS SENSORIAL.

3.2.3.3.1. Selección de jueces

Se seleccionó a personas que tengan conocimiento en la evaluación sensorial de los alimentos. En este caso se convocó a egresados de la Escuela de Formación Profesional de Bromatología y Nutrición Humana y de Ingeniería en Industrias Alimentarias, todos ellos pertenecientes a la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Previo a la selección, se tomó en cuenta el interés, disponibilidad y habilidad de los candidatos a jueces.

3.2.3.3.2. Entrenamiento de jueces

Se aplicó un entrenamiento para obtener jueces semi entrenados o de laboratorio. Los jueces semi entrenados son personas que han recibido un entrenamiento teórico, realizan pruebas sensoriales con frecuencia y poseen suficiente habilidad, pero que generalmente participan en pruebas discriminativas sencillas. Las pruebas con jueces semi entrenados o de laboratorio deben efectuarse con un mínimo de 10 jueces y un máximo de 20, con tres o cuatro repeticiones por cada juez para cada muestra (Anzaldúa, 1994).

Se explicó a los jueces seleccionados en qué consiste la evaluación sensorial, cuál es su importancia tanto para la investigación como para el control de calidad y otras aplicaciones en la industria alimentaria, cuáles son los métodos en los que ellos van a participar, qué consecuencias puede tener el que no contesten adecuadamente. Además se dio una explicación detallada del uso de los cuestionarios.

3.2.3.3.3. Prueba sensorial

Para la prueba sensorial se tuvo en cuenta el área de prueba, 10 jueces semientrenados, el horario de la prueba (09:00 horas), el tipo de empaque para las muestras (empaque de bolsa bilaminado), la cantidad necesaria de muestra, agua, formatos, lapiceros y luminosidad del ambiente.

Los resultados de esta prueba fueron analizados sensorialmente a través de la técnica de comparación pareada de diferencia simple, de acuerdo a la metodología de Ureña *et al.* (1999).

Los atributos sensoriales analizados a los licores de macambo fueron olor, color y oleosidad. Con la ayuda de 10 jueces fueron evaluados los atributos, donde se les indicó en una ficha sensorial (Anexo 3, 4 y 5) si perciben diferencias o no entre los tratamientos. La prueba fue repetida en 3 series de evaluación por atributo. Los resultados obtenidos fueron basados en el número de aciertos (“hay diferencias entre los tratamientos”) en las respuestas de los jueces por cada atributo, y este resultado final fue comparado con el valor de la tabla (Anexo 2) que indica el número mínimo de aciertos para que exista diferencia significativa. El análisis fue desarrollado al 95% de confianza ($\alpha = 0.05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

El fruto de macambo en comparación con el cacao, posee una mayor cantidad en número de semilla, menor cantidad de pulpa y la cantidad de corteza es la mitad del peso total del fruto (tabla 3); por lo que, tiende a producir un mayor rendimiento en la fabricación de chocolate que el cacao, debido a su mayor proporción de semillas. (Gonzales 2007, Gonzales y Torres 2010).

Tabla 3: Peso promedio del fruto de macambo.

Fruto total	Cascara	Pulpa	Semilla
100%	52%	28%	20%
1690gr.	879 gr.	473 gr.	338 gr.

Al realizar los análisis físico-químico de la semilla de macambo (Tabla 4) se encontró el pH en 7,3; un índice de acidez titulable de 0,40 en ácido cítrico, humedad (39,05%) y cenizas (1,92g). Melgarejo (2006), encontró una humedad (31, 23%) en la pulpa un valor significativamente menor, caso contrario al dato obtenido por Reyes (2009) donde la humedad (61,1) en la pulpa y la semilla que es mucho mayor. Lo mismo ocurre en cuanto a cenizas, donde ambos autores mencionados anteriormente, obtiene 3,6g y 1,5g respectivamente con diferencias significativas comparadas a la presente investigación.

Miranda (2011), reportó contenidos de humedad entre 54,06 – 57,13%, un pH que fluctuó entre 5,37 - 6,40, una acidez titulable que fluctuó entre 0,31 – 2,14 pero del cacao. Datos diferentes al macambo.

Tabla 4: Análisis físico-químico de la semilla de *Theobroma bicolor*.

Componentes %	Rixe y Vela (2017)	Melgarejo (2006)	Reyes (2009)
Humedad	39,05	31,23	61,1
pH	7,30	---	---
Cenizas	1,92	3,86	1,5
Acidez/Ac. Cítrico	0,40	---	---

Los resultados de la composición nutricional de las semillas de *Theobroma bicolor* (macambo) empleados en el proceso de obtención del licor se observa en la Tabla 5; cuyo contenido calórico es de 262,07Kcal proteínas (9,86%), grasas, carbohidratos (43,98%); presenta fibras (12,50%), alto porcentaje de carbohidratos.

La concentración de proteína (9,86 g) reportada en la semilla de *T. bicolor* en la investigación fueron más bajos a los reportados por Oztzy (2012) y Melgarejo (2006), quienes analizaron a la pulpa y semilla, obtuvieron concentraciones proteínas de 18,10g y 14,48g respectivamente. Así mismo, el porcentaje de proteína presente en la semilla de *T. bicolor* es menor a los reportados en las semillas de *Theobroma cacao* “cacao” (12.0 g) (Reyes, 2009), pero es mayor *Theobroma grandifolium*.

Anteriormente se realizó una caracterización química y evaluación antioxidante del macambo encontrándose un 32,95% de lípidos, proteínas 13,30 % y fibras alimentarias insolubles 9,90% en comparación con las solubles al 2,30%.

En ácidos grasos saturados hasta un 57,94 % donde destaca en ácido esteárico; mientras que en los ácidos insaturados hasta 42,03% donde abundan los ácidos oleicos con 39,9 %, ácido linoleico 2,2 % respectivamente (García *et al*, 2002; citado por Gonzales, 2010).

En la Tabla 5 también se puede observar que las semillas de macambo contienen minerales, tales como el calcio (19mg), fósforo (165mg), hierro (1,72 mg), magnesio (10,73 mg) y sodio (3,26mg). No se encontraron presencia de manganeso, potasio y zinc.

El Hierro (Fe) es un elemento esencial en la vida, participa casi en todos los procesos oxido-reducción. Las necesidades de Fe⁺ varían según edad y el estado fisiológico de las personas, en el caso de las embarazadas requieren 6mg/día, por lo que consumo de semillas de macambo puede cubrir aproximadamente el 28,6% del requerimiento de Fe⁺ para este grupo (Reyes, 2009).

Tabla 5: Composición Nutricional de la semilla de *Theobroma bicolor* (macambo).

Componente (100g)	Rixe y Vela (2017)	Melgarejo, (2006)	Reyes (2009)
	Semilla	Pulpa + semilla	
Calorías/ Kcal	262,07	---	177,0
Proteínas %	9,86	14,48	6,7
Grasa %	5,19	---	9,2
Carbohidratos %	43,98	---	21,5
Fibras %	12,50	---	18,2
Calcio mg	19,00		19,00
Fosforo mg	165,00		165,00
Hierro mg	1,72		1,70
Magnesio mg	10,73		-
Manganeso mg	ND		
Sodio mg	3,26		-
Potasio mg	ND		
Cobre mg	15,75		-
Zinc mg	ND		
Ácido Ascórbico	6,07		9,20

De acuerdo a lo reportado por Garzaro *et al.* (1998) nutricionalmente la semilla de cacao contiene seis veces más contenido de calcio (106mg), tres veces más fosforo (537mg), dos veces más contenido de hierro (3.6mg), pero contiene menos contenido de ascórbico (3mg) que las semillas de macambo analizadas en la presente investigación. (Garzaro *et al.*, 1998; Reyes, 2009).

4.2. PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

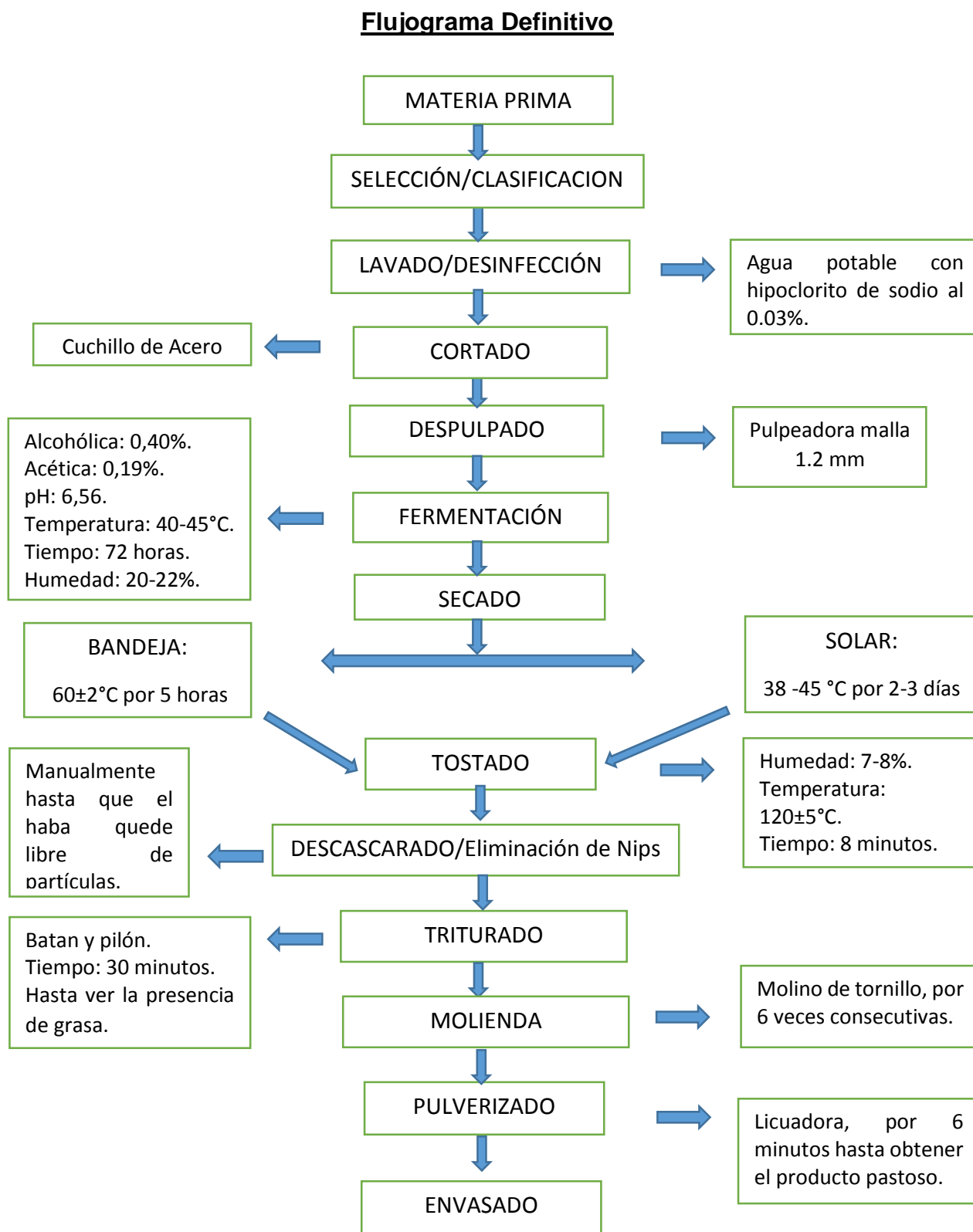


Figura 13: Flujograma definitivo del proceso para la elaboración de *Theobroma bicolor*.

En la Tabla 6, observamos el comportamiento de las variables fisicoquímicas de las semillas de macambo durante el proceso de fermentación. Los valores de temperatura, pH, acidez y humedad son similares durante las 72 horas, ya que presentan un patrón definido; es decir, la temperatura aumenta al pasar los días de fermentación y disminuyen los valores de pH, acidez y humedad. La máxima temperatura (43,6°C y 43,3°C) se obtuvo a las 72 horas; siendo este resultado similar a lo obtenido por Castro (2010), que obtuvo la máxima temperatura (41°C y 46°C) a las 72 horas de iniciado el proceso.

En la presente investigación se elaboró un protocolo para la fermentación de semillas de macambo empleando cajas de madera y tiempo de remoción cada 6 horas por tres días lo que nos permitió obtener parámetros adecuados de temperatura para lograr una adecuada fermentación en 72 horas. La mayor frecuencia de remoción permite una mayor aireación de la masa de cacao la cual favorece a la fermentación homogénea al incrementarse la temperatura (Loayza, 2014).

Fernández *et al.* (2012), Demostraron que el mejor proceso de fermentación de las semillas de cacao se realiza en cajas de madera durante 4 a 5 días; así mismo, Castro (2010), empleando la combinación del método de sacos y canastas para fermentar semillas de copoazú, observo que la temperatura, frecuencia de remoción y presencia de microorganismos condicionan al proceso de fermentación; resultando mejor la remoción cada 24 horas por 5 días y añadiendo azúcar.

Durante la fermentación existen dos fases la fermentación alcohólica (anaerobia) y la fermentación acética que ocurre posteriormente. La temperatura de la masa del haba es muy importante, porque gracias a ella se libera los polifenoles que debe estar entre 40 y 45°C, durante este proceso la temperatura crece a niveles que acaban impidiendo la germinación. La fermentación acética proporciona más o menos ácidos al haba. Durante este procedimiento se concentran los colores, sabores y aromas. (Arriaga, 2007).

Una correcta fermentación es esencial para obtener un licor con un flavor agradable. Es un proceso por el cual se mata el haba de manera que ésta no pueda verse alterada por la germinación. Además, se forman ciertos compuestos

químicos que cuando se calientan darán el sabor, ya que ellos por sí mismos tienen un sabor completamente diferentes o puede que incluso no sepan a nada. A estos compuestos se les conoce como precursores de flavor ya que originan los aromas, pero ellos en sí mismos no lo proporcionan. (Beckett, 1999)

En el exterior del haba las levaduras actúan sobre los azúcares y mucilagos presentes en la pulpa, transformándolos en alcohol, dióxido de carbono y agua. Las bacterias acéticas transforman el alcohol en ácido acético provocando un aumento de temperatura y una reducción de pH de 6,5 a 4,6 relativamente. (Arriaga, 2007)

En el interior del grano del haba la degradación de las membranas celulares producidas principalmente por la disminución del pH y el aumento de temperatura provoca que las células del cotiledón queden expuestas tanto más modificaciones químicas como a la acción enzimática, así las enzimas hidrolíticas actúan sobre las antocianinas que posteriormente sufren reacciones oxidativas, ocurren también reacciones químicas sobre los polifenoles esenciales para el desarrollo del color. (Arriaga, 2007; Ortiz, 2004)

En el flujograma definitivo (Figura 13), nos explica el proceso para obtener el licor de macambo. En la parte de fermentación es un de puntos críticos con relación a la humedad, ya que se necesita obtener de 20-22 %, para pasar a lo que es el secado (solar y bandeja), donde también se necesita de 7-8 %; así mismo es necesario que en tostado se obtenga de 3-4 % de humedad para poder envasar y el producto final tenga más tiempo de vida útil. En la Figura 14, se puede observar las condiciones de fermentación, la forma correcta es que en el exterior del haba el color sea un marrón pardo y parejo, en el interior obtenga un color amarillento y haya la presencia de grasa; la forma incorrecta de fermentación es que en el exterior haya presencia de mohos, bacterias y hongos y en el interior se apreció un color marrón oscuro lo cual nos indica que hubo una mala germinación, presenta un mal olor, color y sabor.

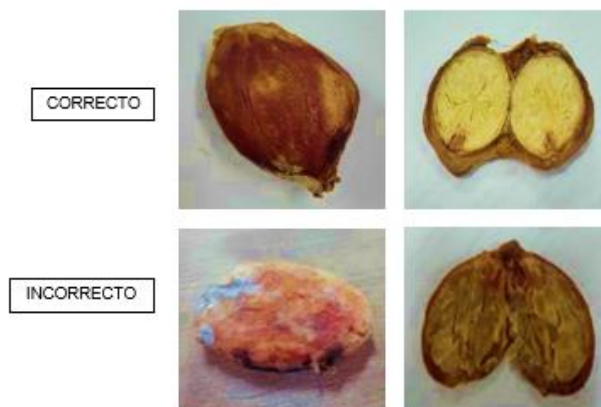


Figura 14: Fermentación correcta e incorrecta de la semilla de macambo.

4.2.1. Cambios microbiológicos y químicos.

Lo que ocurre realmente en la fermentación ha sido objeto de muchas investigaciones y no está completamente claro. Además, como la cascara del haba permanece intacta, no es posible que los microorganismos reaccionen directamente con los cotiledones, que son la parte utilizada para la fabricación de chocolate. Por ello, en cierto modo no es realmente un proceso de fermentación verdadero. (Beckett, 1999).

Sin embargo, durante la fermentación la temperatura aumenta progresivamente durante las primeras etapas y se piensa que tres días de calor son suficientes para anular la germinación del haba. Este hecho provoca la rápida descomposición de las reservas nutritivas del haba para dar azúcares y ácidos, que son los precursores del flavor del chocolate. (Beckett, 1999).

Los diferentes modos de fermentación también proporcionan diferencias en el flavor. Por ejemplo, en una caja, las habas se remueven cada día. Esto produce aireación de las habas y estimula a aquellas bacterias que requieren oxígeno (por ejemplo, *Acetobacter*) con lo que favorece la producción de ácido enanoico. Otras reacciones, por ejemplo aquellas en las que participan las levaduras, se ven rodeadas por la presencia de oxígeno, de manera que se forma menos etanol. (Beckett, 1999).

Como se muestra en la Tabla 6 los microorganismos llevan a cabo la fermentación en la pulpa, que contiene carbohidratos (glucosa, fructosa,

sacarosa) e inicia con un valor de acidez de 0.40% debido a la presencia de ácido cítrico. La pulpa es viscosa porque contiene pectina y otros polisacáridos, que además dificultan la difusión del aire. (Wacher, 2011)

El proceso de fermentación es natural o espontaneo, ya que no se añaden intencionalmente los microorganismos a los granos, que de hecho se encuentran estériles dentro de las vainas. Se contaminan con microorganismos provenientes de todas las superficies con las que entran en contacto. (Wacher, 2011) Si la fermentación es excesiva el haba puede alterarse si es insuficiente puede adquirir un sabor de papa cruda y son atacados por los hongos. (Beckett, 1999).

Existen dos fases:

En la fase anaeróbica durante las primeras 20 horas (la pulpa no permite la circulación de aire); la fermentación del azúcar en la pulpa se transforma en etanol, aumentando la temperatura (reacción exotérmica), una pequeña formación de ácido láctico y la pulpa se deshace produciendo un escurrimiento y finalmente penetra aire. (Beckett 1999)

Las levaduras llevan a cabo el proceso de fermentación, transformando los azúcares sencillos del mucílago o pulpa en etanol, degradando la pectina, lo que modifica la textura del grano y elimina el ácido cítrico, proceso que es reportado y notorio en la investigación, lo que trae como consecuencia una disminución de la acidez de 0.25% progresivamente expresada en ácido acético . Por otro lado, el consorcio de levaduras consume el oxígeno, creando un ambiente anaerobio que favorece el desarrollo de bacterias lácticas. (Wacher, 2011)

Fase aeróbica: *Acetobacter* transforma el alcohol en el ácido acético. Ocurre un cambio importante en términos de los productos de la fermentación, ya que intervienen bacterias acéticas que llevan a cabo la transformación del etanol que produjeron las levaduras en ácido acético, tal como ocurre en la industria productora de vinagre. Dado que la transformación de etanol en ácido acético es una reacción exotérmica, se produce calor. El etanol y el ácido acético se difunden hacia el interior de los granos y, junto con la temperatura alta, matan al embrión. (Beckett 1999)

La tabla 6 muestra el cambio de acidez en todo el proceso de fermentación, iniciando con ácido cítrico de 0.40 % y terminando con la disminución brusca en ácido acético de 0,19 %.

En la investigación realizada, se empleó las cajas de madera, porque se descubrió y corroboró que eran un vehículo adecuado para las enzimas, lo que no ocurrió al usar un balde con un pequeño filtro de aire, donde por el proceso fermentativo el envase sudó, además de tener presencia de hongos y la pronta descomposición del haba.

Tabla 6: Características físico-químicas de las semillas de macambo durante el proceso de fermentación.

Tiempo (Horas)	Secado Solar				Secado en Bandeja			
	T. °C	pH	Acidez titulable %	Humedad (%)	T. °C	pH	Acidez titulable %	Humedad (%)
0:00	30,9	7,30	0,40 Ac. cítrico	42,99	30,3	7,30	0.40 Ac. cítrico	42,29
6:00	37,5	7,15	0,40 Ac. cítrico	.	37,5	7,26	0.40 Ac. cítrico	-
18:00	40,7	6,97	0,25 Ac. acético	31,27	40,5	7,06	0.25 Ac. acético	30,65
24:00	40,9	6,83	0,25 Ac. acético	-	40,7	6,95	0.25 Ac. acético	-
30:00	41,8	6,86	0,25 Ac. acético	-	41,4	6,89	0.25 Ac. acético	-
42:00	42,1	6,72	0,23 Ac. acético	26,21	41,8	6,83	0.23 Ac. acético	25,24
48:00	42,8	6,77	0,23 Ac. acético	-	42,4	6,78	0.22 Ac. acético	-
54:00	42,9	6,66	0,22 Ac. acético	-	42,6	6,71	0.22 Ac. acético	-
66:00	43,4	6,58	0,21 Ac. acético	21,64	43,1	6,65	0.21 Ac. acético	21,45
72:00	43,6	6,55	0,19 Ac. acético	-	43,3	6,56	0.19 Ac. acético	-

En la Figura 15, se observó que a mayores días en la fase de fermentación el pH tiende a disminuir a partir de las 5 horas y continua disminuyendo hasta las 72 horas, se recalca que dichas disminuciones no son significativas. También se observó que a mayores sean las horas en fermentación la temperatura a partir de las 30 hasta las 72 horas se mantiene ligeramente constantes, ambas variaciones se asemejan en los dos tipos de secado.

g

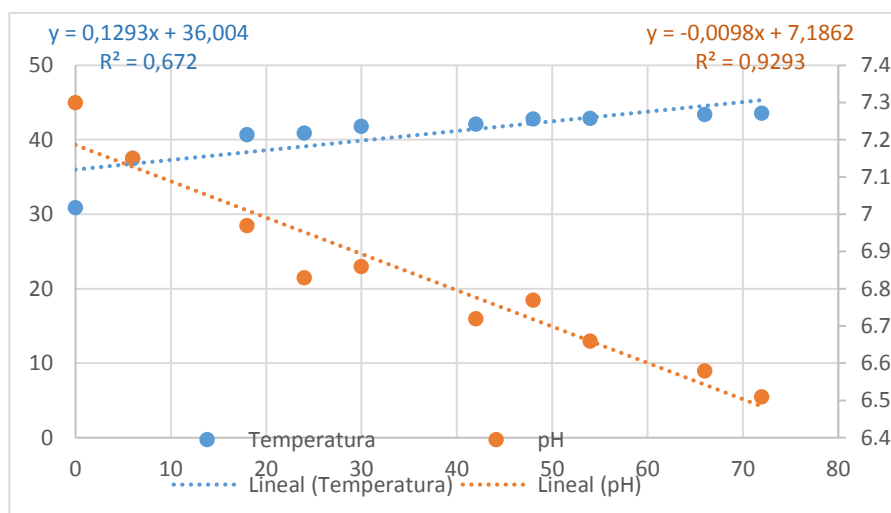


Figura N° 15: Variación de la temperatura y el pH en el secado solar y bandeja del *Theobroma bicolor*.

En la figura 16, se observó que a mayores días en la fase de fermentación la acidez que inicia con 0,40% de ácido cítrico tiende a disminuir a partir de las 18 horas y continua disminuyendo hasta las 72 horas la cual termina con un índice de acidez de 0,19% de ácido acético, se recalca q dichas disminuciones no son significativas. También se observó que a mayores sean las horas en fermentación la temperatura a partir de las 30 hasta las 72 horas se mantiene ligeramente constantes, ambas variaciones se asemejan en los dos tipos de secado.

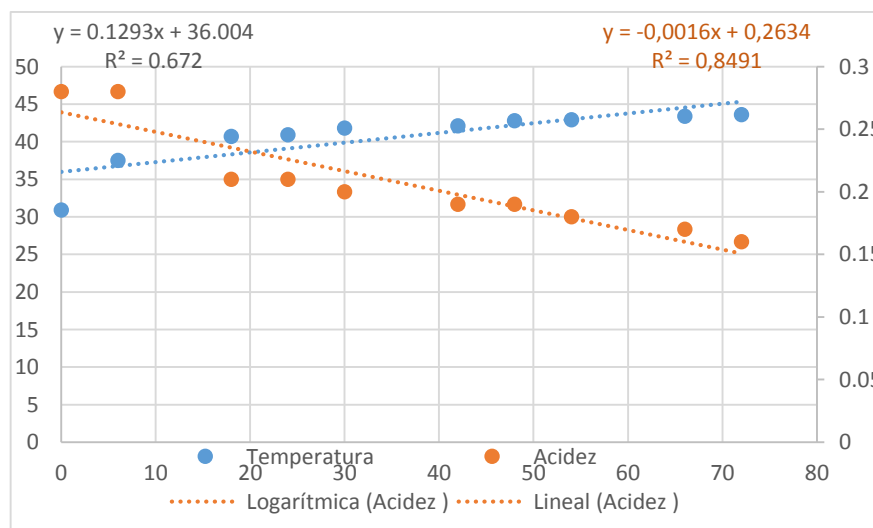


Figura 16: Variación de la temperatura y de la acidez en el secado solar y bandeja del *Theobroma bicolor*.

4.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL LICOR DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO).

En la Tabla 7, se observa que los licores de macambo sometidos los dos tratamientos de secado presentan similitud en los porcentajes de humedad, calorías, proteínas y cenizas; además, similar contenido de minerales (calcio, fósforo, hierro, magnesio, sodio y cobre), vitamina C (ácido ascórbico). El licor tratado con secado a bandeja entre $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5 horas presentó ligeramente un mayor contenido de carbohidratos, grasas y cenizas. El pH (6,5) y acidez acética (0,19) de los licores de macambo son similares en los dos tratamientos de secado; tampoco existe diferencias en el pH y acidez del macambo fermentado y el licor.

La humedad del licor de macambo es mayor al 3% al contenido del licor de cacao sin embargo, es adecuado para su comercialización. Estos resultados probablemente es producto del tiempo de secado y al tostado empleado en el proceso de la elaboración del licor de cacao.

El secado reduce el contenido de humedad del grano de rangos entre el 50% y el 70% hasta un 7% a 8%. Esta reducción en el contenido de humedad permite la conservación y el almacenamiento del haba secada en condiciones de seguridad en cuanto a su integridad y calidad (Villamizar de Borrero *et al.* 1989). La velocidad de secado y la humedad crítica del grano se incrementa al aumentar la temperatura. (Miranda, 2011).

Arriaga (2007), secando a temperatura ambiente por 2 días y tostando las semillas de macambo a $115^{\circ}\text{C}/1\text{hora}$ en un tostador eléctrico previo a la elaboración de licor, reportó porcentajes menores de humedad (1,52%), grasas (40,91%), ácido linoleico (1.87 %), ácido oleico (46.84 %), ácido palmítico (6.36 %) y proteínas (20.38%) en comparación al licor de macambo obtenido en la presente investigación, que fue tostado en una sartén a temperaturas entre $120\pm 5^{\circ}\text{C}$ por 8 minutos. Así mismo, el licor de macambo producido por Hernández y Calderón (2010), empleando un sistema de secado de bandejas por aire caliente a temperatura de secado de 150°C , obteniendo menores porcentajes de humedad (4,45%), proteínas (2,13%) y carbohidratos (14,96%), pero un mayor rendimiento de grasas (61,03%); así mismo, el licor de

Theobroma grandiflorum “copoazu” tiene mayor contenido de grasa (63,06%) que el licor de macambo, que presenta grasa más susceptible a la oxidación y alto contenido de glicéridos. Reportaron que el índice de peróxidos es más alto en la grasa de macambo, lo cual indica que esta grasa tiene una mayor susceptibilidad a la oxidación, también el índice de saponificación es más alto en la grasa del macambo, lo cual indica un contenido alto de glicéridos.

Los niveles de minerales reportados en el licor de macambo tratados con dos tipos de secado en comparación con el licor de copoazú presenta similar contenido de hierro (2,56mg); pero tres veces más magnesio (37,28mg) y calcio (73,65mg), y dos veces más sodio (10,93mg) (Hernández y Calderón, 2010).

Tabla 7: Composición nutricional del licor de *Theobroma bicolor* (macambo) secado en bandeja y secado solar.

Componentes (100 g)	Secado a bandeja (58-60°C/5h)	Secado solar (38-45°C/10h)
Humedad %	4,65	4,62
Calorías. Kcal	627,03	612,76
Proteínas %	21,50	21,61
Grasa %	51,31	48,48
Carbohidratos %	19,81	22,50
Fibras %	7,76	9,72
Cenizas %	2,73	2,79
pH	6,56	6,55
Acidez / Ac. Acético %	0.19	0,19
Calcio mg	25,00	23,45
Fosforo mg	172,00	171,70
Hierro mg	2,11	2,25
Magnesio mg	12,44	12,00
Manganeso mg	ND	ND
Sodio mg	4,00	4,05
Potasio mg	ND	ND
Cobre mg	16,85	17,00
Zinc mg	ND	ND
Ácido Ascórbico mg	16,49	16,50

4.4. RENDIMIENTO DE LA SEMILLA DE *Theobroma bicolor* (MACAMBO) DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DEL LICOR.

Durante la obtención del licor se obtuvo rendimientos similares en el secado solar (28,1%) y el secado en bandeja (29,4%). En el proceso de fermentación y secado se perdió el 63,7% (secado solar) y 61,6% (secado en bandeja) del peso bruto de la semilla, ya que se elimina la cascara y abundante humedad. Como se muestra en la Figura 17.

El peso bruto promedio de los frutos de macambo fluctúan entre 523,1g a 1912g del cual aproximadamente, el 15% es semilla, cuyo peso promedio fluctúa entre 86,2g a 258,8g (Gonzales y Torres, 2010). El fruto de macambo en comparación con el cacao, posee una mayor cantidad de semilla, menor cantidad de pulpa, por ello, tiende a producir un mayor rendimiento en la fabricación de licor. (Ríos, 2015).

Jacome (2010), obtuvo un rendimiento del 61% de cacao seco y una humedad de entre 7% y 8,5%, empleado un secador de túnel a una temperatura de 70°C por 12 horas. El rendimiento del despulpado mecanizado de macambo, genera pérdidas principalmente de semilla representan un 12,1%, valor aceptable, debido a que el despulpado manual no es rentable, pues el tiempo empleado es muy largo y los costos de mano de obra son muy altos.

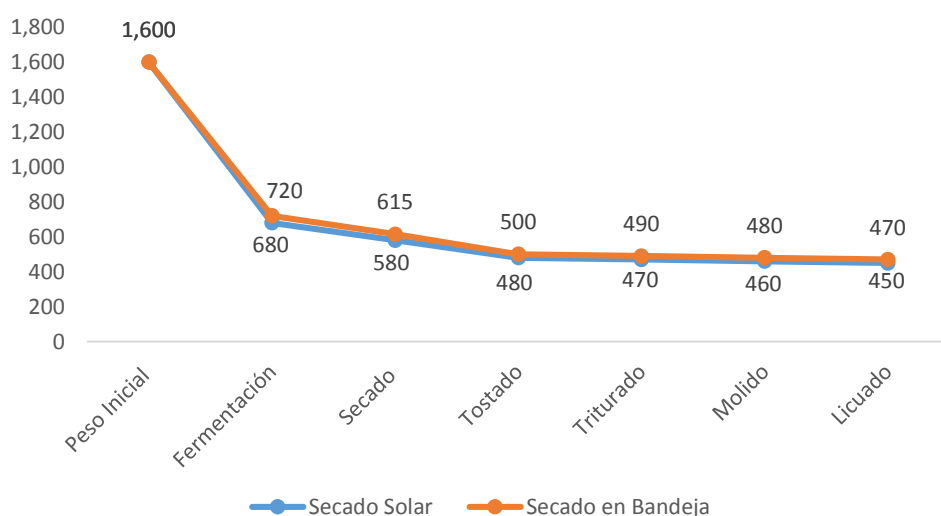


Figura 17: Balance de la materia prima durante el proceso de obtención del licor de macambo empleados secado solar y en bandeja.

4.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.

En los análisis microbiológicos en ambos licores encontramos una ausencia *salmonella*, < de 10 UFC de *Staphylococcus aureus*, coliformes totales < 3, levaduras en el secado solar $1,5 \times 10$ UFC y en secado a bandeja 10 UFC/g. En cuanto a mohos <10 UFC, y en recuento de bacterias aerobios Mesófilos viables en secado solar $1,5 \times 10$ UFC y en el de bandeja $5,0 \times 10$ UFC. Y finalmente enterobacterias existe una presencia < 10 UFC

El licor de macambo empleando los tratamientos de secado, cumple con los criterios microbiológicos establecidos por la norma sanitaria que establece criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Las UFC/g de las bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, mohos, levaduras, *Staphylococcus aureus* están por debajo de los máximos niveles permitidos para las muestras de licor en los diferentes tipos de secado, secado solar y secado en bandeja. Por lo que es considerado un producto apto para el consumo humano. (MINSA/DIGESA, 2003; Andrade 2017).

Comparando además con Hernández y Calderón (2007), que solo realizó recuento de mesófilos aerobios fue de 63 UFC/g, coliformes < 3 y recuento de mohos y levadura. En los resultados del análisis microbiológico están en similitud con la presente investigación.

Tabla 8: Análisis microbiológicos, según secado solar (P) y bandeja (Q).

Análisis Microbiológico	P	Q
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos (UFC/g)	1,5 X 10	5,0 X 10
Mohos (UFC/g)	< 10	< 10
Levaduras (UFC/g)	1,5 X 10	10
Coliformes Totales	< 3	< 3
Enterobacterias (UFC/g)	< 10	< 10
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	< 10	< 10
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia en 25g	Ausencia en 25g

4.6. ANÁLISIS SENSORIAL.

En el presente trabajo fueron analizados tres atributos sensoriales que son considerados indicadores de calidad para el licor de macambo. Diferencias entre los métodos de secado pueden verse reflejadas en la calidad final del producto, de esta forma para definir la calidad sensorial fueron tomados como atributos principales al olor, color y oleosidad.

Fue utilizada la técnica de comparación pareada de diferencia simple para determinar diferencias sensoriales en el olor, color, oleosidad. Esta técnica es basada en determinar la cantidad de veces que un juez acierta en su respuesta para definir si existen diferencias entre dos tratamientos (Ureña et al., 1999). De esta manera, para el análisis de color y oleosidad los jueces respondieron 24 veces que si hubo diferencia siendo que 7 veces indicaron que no hubo diferencia. Tabla 9.

Observando la tabla en el anexo 2 se tiene que para 30 respuestas obtenidas (10 jueces por 3 repeticiones) y para el nivel de significancia de 5%, el número mínimo de respuesta para obtener diferencias significativas es de 24. Teniendo en cuenta este valor, podemos decir que hubo diferencias significativas entre los tratamientos para el atributo olor, el cual, se podrá estar relacionado con el flujo de aire entre los métodos de secado, es decir, compuestos aromáticos pueden ser perdidos en el método de secado a bandeja mientras que estos compuestos pueden ser mejor conservados en secado a sol, dando ventaja a este último, y consecuentemente obteniendo un producto más cercano al natural.

Por otro lado, el número de respuestas igual a 23 para los atributos de color y oleosidad es \geq al de la tabla del anexo 2, quiere decir que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos para los atributos sensoriales, es decir, del punto de vista estadístico, no habrá inconvenientes en el color y oleosidad si el producto fuera secado en bandejas o secado al sol. Sin embargo, 23 es un valor límite, lo que indica que existe una tendencia hacia diferencias entre los tratamientos, que podría ser verificado utilizando un número mayor de muestras en el análisis.

Para Arriaga (2007), en las mezclas descritas al 100% de *Theobroma bicolor* obtuvo el menor % de aceptación en comparación a la mezcla al 100% de

Theobroma cacao. En el cuestionario aplicado a los jueces obtuvo un total de 34 respuestas a “Me Disgusta”, 0 respuestas a “Me Gusta Mucho”, 16 respuestas a “Me Gusta” y 42 respuestas a “Ni Me Gusta Ni Me Disgusta”; en comparación al *Theobroma cacao* que obtuvo 2, 30, 52 y 16 respuestas a las mismas preguntas anterior mencionadas. Se relaciona dichas respuestas con el % de pH y Acidez que son parámetros fundamentales para las pruebas sensoriales.

Tabla 9: Análisis sensorial.

Atributo sensorial	Respuestas	
	Hay diferencia	No hay diferencia
Olor	24	6
Color	23	7
Oleosidad	23	7

5. CONCLUSIONES

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES.

Los licores de macambo elaborados con los dos tratamientos de secado es un producto con alto contenido energético, ya que posee niveles altos de proteínas, grasas, carbohidratos; además puede ser considerado una fuente adecuada de fosforo, calcio, magnesio, sodio y hierro.

La fermentación en cajas de madera de las semillas de macambo son las que mejor resultado fisicoquímico presentaron siendo ambas similares en los dos tipos.

El licor obtenido en ambas tratamientos son similares en los análisis sensoriales y en los análisis microbiológicos son aptos para ser usados en la industria de alimentos y cosmeceutricos.

6. RECOMENDACIONES

CAPITULO VI

6. RECOMENDACIONES

Generar la metodología adecuada para producir manteca y chocolate de macambo.

Desarrollar estudios de composición de la parte de lípidos y otros tipos de nutrientes.

Continuar con estudios de investigación para dar valor agregado tanto a la cascara, pulpa y semilla.

Realizar estudios del tipo de levaduras nativas responsables de la fermentación en frutas de la amazonia.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPITULO VI

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade Serrano SM. 2017 Análisis y evaluación del riesgo microbiológico de *Clostridium perfringens* en hornado del mercado 10 de Agosto. Universidad del Azuay. Disponible en: <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/6673>

Anzaldúa, A 1994. La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica. 1ª ed; Zaragoza: Editorial Acribia S.A.

Arriaga C., 2007. Contenido de Ácidos Grasos de la manteca proveniente de mezclas, en distintas fracciones, de semillas de *Theobroma cacao* y *Theobroma bicolor* y su uso en la manufactura de chocolate. Colombia

Beckett, S. T. 2000. The Science in Chocolate. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. U.K. 10-11, 38-40 pp. (18)

Bejarano H y Solanyi A. 2010. Obtención de una cobertura de chocolate a partir de cacao silvestre, copoazú (*Theobroma Grandiflorum*), y maraco (*Theobroma bicolor*), de la Amazonia Colombiana. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/15720/T43.06%20H43o.pdf?sequence=1>

Buenaño R., Sancán P. y Velasco J., 2011. Estandarización del proceso de elaboración de licor de cacao y aplicación de un plan HACCP. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Colombia.

Castro Robayo ZR, others. Caracterización del proceso de fermentación del grano de Copoazú (*Theobroma grandiflorum Willd. ex Spreng*)/Characterization of fermentation process of Copoazú (*Theobroma grandiflorum Willd. ex Spreng*) Seeds . Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2388/>

Codex alimentario. 2003. Norma para el chocolate y los productos del chocolate. codex stan 87-1981, rev.1

Codex Alimentarios. 2014. Norma para el cacao en pasta (licor de cacao/chocolate) y torta de cacao. Adoptada en 1983. Revisada en 2001. Enmendada en 2014. CODEX STAN 141-1983

Codini M, Vélez FD, Ghirardi M, Villavicencio I. 2004. Obtención y utilización de la manteca de cacao. Invenio: Revista de investigación académica; Vol.(12), pag: 143–148.

Coral AG, Rios JS, Tafur CC, Reyna GT.2011. *Comportamiento de especies de frutales amazónicos de un modelo diversificado en áreas de la “asociación de productores agropecuarios veinticuatro de octubre”*. Ciencia Amazónica (Iquitos).; vol(2), pag:119–124.

Egas MA. 2015. Evaluación y análisis técnico financiero del proceso de prensado de licor de cacao (*Theobroma cacao*) para la obtención de manteca y polvo de cacao. Escuela Politécnica Nacional. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/11477>

Fernández RDR, Gallo FWM, Cedeño ÁMG, Galeas MMP, Quinteros HNM, Ferrín LMC, et al. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*theobroma cacao* l.) tipo nacional. ciencia y tecnología (1390-4051). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4149700.pdf>

Flores P., 1997. Cultivo de flores nativos amazónicos. Tratado de cooperación. Amazonia – Lima. Pág.307

Furlan, A. Bressani R 1999. Vegetable resource with agroindustrial potential from Guatemala. Chemical characterization of the pulp and of the sedes of *Theobroma bicolor*. Dec; 49 (4): 373-

Garzaro D, Cedezo FG, Kalvatchev Z.1998. *Theobroma cacao* L.: Un nuevo enfoque para nutrición y salud. Agroalimentaria. Disponible en: http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/17703/1/articulo6_2.pdf

Gonzales A, Torres G., 2010. Cultivo de Macambo *Theobroma bicoor* (*Humb.* & *bompl*). Instituto de la Amazonia Peruana – IIAP. Iquitos, Perú

Gonzales A., 2007. Frutales Nativos Amazónicos Patrimonio Alimenticio De La Humanidad, IIAP; Disponible en: http://.iiap.org.pe/archivos/publicaciones/publicacion_1484.pdf

Hernandez A. y Calderon S. 2006. Obtención de una cobertura de chocolate a partir de cacao silvestres, copoazú (*Theobroma grandiflorum*), y maraco (*theobroma bicolor*), de la Amazonia.

Loayza W. 2014. Influencia de la frecuencia de remoción, durante la fermentación, en la calidad sensorial del cacao (*Theobroma Cacao*, L.) de Satipo. Universidad Nacional de San Marcos; Disponible en: <http://http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/3877>.

Liendo Rigel. 2005. Procesamiento del cacao para la fabricación de chocolate y sus subproductos. INIA. Centro Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracay, estado Aragua. Disponible en <http://www.icco.org/questions/process.htm>

Melgarejo LM. 2006. Oferta y potencialidades de un banco de germoplasma del género *Theobroma* en el enriquecimiento de los sistemas productivos de la región amazónica. 1. ed. Bogotá: Inst. Amazónico de Investigaciones Científicas. SINCHI. Pag: 224.

Miranda G., 2011. Evaluación de procesos de secado de granos de cacao fermentado, en un secador de bandejas con convención forzada de aire. Universidad del oriente. Venezuela. Disponible en : <http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/handle/123456789/1578>.

Otzoy MR. 2012. Evaluación de la variabilidad y preservación de parientes silvestres de cacao (*Theobroma bicolor*) y (*Theobroma angustifolium*) provenientes de la Región suroccidental de Guatemala: Informe Final. Guatemala. Pág. 57

NIÑO Carlos. 2015. Proceso de elaboración de chocolates “una nueva visión del mundo actual”. Iquitos, Perú. (Exposición)

NIÑO Carlos. 2016. Elaboración de chocolate y derivados del cacao. Taller: chocolatería. UNAP Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos, Perú. (Exposición)

Ortiz, Julieta. 2004. Caracterización Fisicoquímica de la Grasa de semillas de Theobroma Bicolor de Guatemala. Trabajo de Investigación para optar al grado de maestría de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad del Valle de Guatemala. 1-32 pp. (24)

Reyes M. 2009 Tablas peruanas de composición de alimentos. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. Pag: 34

Ríos Marlín. 2015, Estudio del Arte para la Elaboración de Productos de Snack a partir del Macambo. Universidad de la Amazonia Peruana. Iquitos, Perú.

Ureña M, Arrigo M. 1999. Evaluación sensorial los alimentos. Profesores de la Facultad de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

Vargas. 2005 Determinación de Parámetros de Procesamiento de la semilla de *Theobroma bicolor* Humb & Bonpl (Macambo).

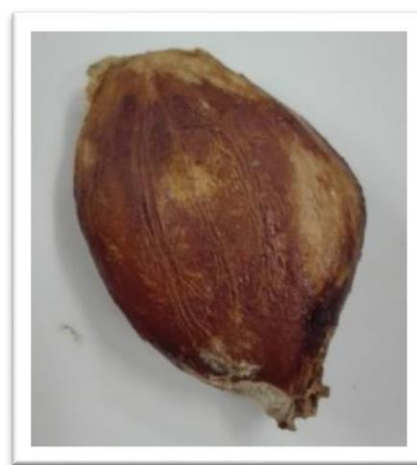
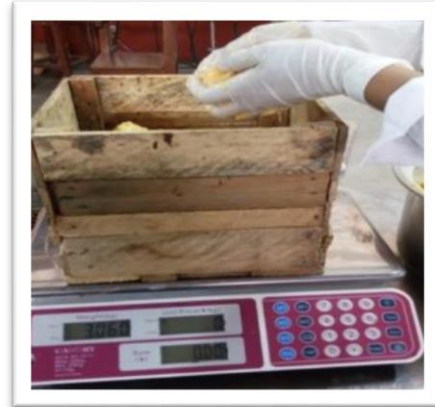
Valenzuela A.2007. El chocolate, un placer saludable: Revista Chilena de Nutrición. Pag. 39.

CDC PARTNERT IN EXPORT S. A. C. ficha técnica en parámetros microbiológicos del cacao.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1. Elaboración del licor de macambo.





Anexo 2. Tabla de comparación pareada y duo-trio, para los análisis sensoriales.

NÚMERO DE SELECCIONES CORRECTAS REQUERIDAS PARA INDICAR DIFERENCIA SIGNIFICATIVA A DIFERENTES NIVELES			
	NÚMERO DE OBSERVACIONES CORRECTAS NÚMERO TOTAL DE OBSERVACIONES		
	95.1 (NIVEL 5%)	99.1 (NIVEL 1%)	999.1 (NIVEL 0.1%)
6	6	-	-
8	7	8	-
10	9	10	-
12	10	11	-
14	11	12	14
16	13	14	15
18	14	15	17
20	15	16	18
25	18	20	22
30	21	23	25
35	24	26	28
40	27	29	32
45	30	32	35
50	33	35	38
60	38	41	44
70	44	46	50
80	50	52	56
90	55	58	62
100	60	63	67
200	113	116	121
300	165	169	175
400	218	223	230
500	270	276	284
600	332	338	347
700	374	480	490
800	427	484	445
900	439	487	499
1000	531	539	552

Anexo 3. Test de valoración de calidad del olor.

Nombre: _____ Fecha: _____

Muestra evaluada: _____

1. Marque con una "X" si encuentra o no diferencia en el OLOR de los siguientes pares de muestras.

PAR DE MUESTRAS	HAY DIFERENCIA	NO HAY DIFERENCIA
A		
B		
C		

Comentarios:

Anexo 4. Test de valoración de calidad del color

Nombre: _____ Fecha: _____

Muestra evaluada: _____

1. Marque con una "X" si encuentra o no diferencia en el COLOR de los siguientes pares de muestras.

PAR DE MUESTRAS	HAY DIFERENCIA	NO HAY DIFERENCIA
A		
B		
C		

Comentarios:

Anexo 5. Test de valoración de calidad de la oleosidad.

Nombre: _____ Fecha: _____

Muestra evaluada: _____

1. Marque con una "X" si encuentra o no diferencia en la OLEOSIDAD de los siguientes pares de muestras.

PAR DE MUESTRAS	HAY DIFERENCIA	NO HAY DIFERENCIA
A		
B		
C		

Comentarios:

Anexo 06. Análisis físico-químico



Anexo 7: Análisis físico-químico de la pulpa de macambo.**UNAP**

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**

Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

**Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos
INFORME DE ENSAYO N° 003-2017**

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	DIANA ISABEL RIXE FASABI CELIA MARINA VELA RENGIFO
Dirección	-.-
Telefax	-.-

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	3/2017
Fecha de solicitud de servicio	18/04/17
Servicio solicitado	Análisis Físico Químico

II. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	SEMILLA FRESCA DE MACAMBO
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	80 Gr.
Muestra	Traída por el cliente
Código	"C"
Tamaño del lote	-.-
Forma de presentación	Envoltura Bilaminada
Fecha de producción	-.-
Fecha de vencimiento	-.-

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO FISICO QUIMICO	RESULTADOS %
Humedad	39.05
Ceniza	1.92
Grasa	5.19
Proteína	9.86
Carbohidratos	43.98
Calorías	262.07 Kcal
Fibra Total	12.50
Acidez Titulable (Ácido Cítrico)	0.40
Ph	7.3
Vitamina "C"	6.07 mg/100gr.



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

**UNAP****Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto****Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"****NORMA QUE REGULA EL CONTROL DE CALIDAD**

N.T.P. 206.011
N.T.P. 206.012
A.O.A.C 960.32
ITINTEC-N.T.N 201.021
A.O.A.C 920.39
A.O.A.C. 942.15
N.T.P. 205.040
A.O.A.C 1984

METODOS USADOS

- Gravimetría
- KJELDAHL
- Calculo
- Digestión
- Volumetría
- Potenciometria

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL DE LA FIIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 25 de Abril de 2017


ING. LUIS E. SILVA RAMOS
Jefe del Laboratorio de Control Calidad de
Alimentos FIA - UNAP

Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

Anexo 8: Análisis físico-químico del licor de macambo (secado solar)**UNAP**

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**

Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

**Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos
INFORME DE ENSAYO N° 002-2017**

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	DIANA ISABELE RIXE FASABI CELIA MARINA VELA RENGIFO
Dirección	.-.
Telefax	.-.

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	2/2017
Fecha de solicitud de servicio	18/04/17
Servicio solicitado	Análisis Físico Químico

II. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	LICOR DE MACAMBO "SOLAR"
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	80 Gr.
Muestra	Traída por el cliente
Código	"B"
Tamaño del lote	.-.
Forma de presentación	Envoltura Bilaminada
Fecha de producción	.-.
Fecha de vencimiento	.-.

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO FISICO QUIMICO	RESULTADOS %
Humedad	4.62
Ceniza	2.79
Grasa	48.43
Proteína	21.61
Carbohidratos	22.50
Calorías	612.76 Kcal
Fibra Total	9.72
Acidez Titulable (Ácido Acético)	0.19
Ph	6.55
Vitamina "C"	16.50 mg/100gr.



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001



UNAP

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**

Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

NORMA QUE REGULA EL CONTROL DE CALIDAD

N.T.P. 206.011
N.T.P. 206.012
A.O.A.C 960.32
ITINTEC-N.T.N 201.021
A.O.A.C 920.39
A.O.A.C. 942.15
N.T.P. 205.040
A.O.A.C 1984

METODOS USADOS

- Gravimetría
- KJELDAHL
- Calculo
- Digestión
- Volumetría
- Potenciometría

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL DE LA FIIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 25 de Abril de 2017

ING. LUIS E. SILVA RAMOS
Jefe del Laboratorio de Control Calidad de
Alimentos FIA - UNAP



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

Anexo 9: Análisis físico-químico del licor de macambo (secado bandeja).**UNAP**

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**

Centro de Prestación de Servicio en Control de
Calidad de Alimentos.

“CEPRESE COCAL”

**Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos
INFORME DE ENSAYO N° 001-2017**

I. DATOS DEL SOLICITANTE

Nombre	DIANA ISABEL RIXE FASABI CELIA MARINA VELA RENGIFO
Dirección	--
Telefax	--

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	1/2017
Fecha de solicitud de servicio	18/04/17
Servicio solicitado	Análisis Físico Químico

III. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>LICOR DE MACAMBO “BANDEJA”</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	80 Gr.
Muestra	Traída por el cliente
Código	“A”
Tamaño del lote	--
Forma de presentación	Envoltura Bilaminada
Fecha de producción	--
Fecha de vencimiento	--

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO FISICO QUIMICO	RESULTADOS %
Humedad	4.65
Ceniza	2.73
Grasa	51.31
Proteína	21.50
Carbohidratos	19.81
Calorías	627.03 Kcal
Fibra Total	7.76
Acidez Titulable (Ácido Acético)	0.19
Ph	6.56
Vitamina “C”	16.49 mg/100gr.



Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001



UNAP

Facultad de Industrias Alimentarias
Planta Piloto
Centro de Prestación de Servicio en Control de Calidad de Alimentos.
"CEPRESE COCAL"

NORMA QUE REGULA EL CONTROL DE CALIDAD
N.T.P. 206.011
N.T.P. 206.012
A.O.A.C 960.32
ITINTEC-N.T.N 201.021
A.O.A.C 920.39
A.O.A.C. 942.15
N.T.P. 205.040
A.O.A.C 1984

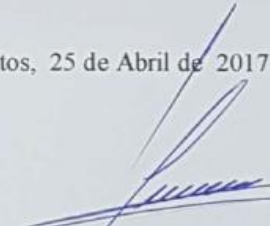
METODOS USADOS

- Gravimetría
- KJELDAHL
- Calculo
- Digestión
- Volumetría
- Potenciometría

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL DE LA FIIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 25 de Abril de 2017



ING. LUIS E. SILVA RAMOS
Jefe del Laboratorio de Control Calidad de Alimentos FIA - UNAP

Dirección: calle Freyre N° 610, Iquitos, Perú www.unapiquitos.edu.pe
Teléfono: (5165)234458, 242922 Telefax: (5165)242001

Anexo 10: Análisis de minerales del licor de macambo (secado solar y bandeja).**UNAP**Facultad de
Ingeniería Química

RESULTADO DE ANALISIS



Estudio LICOR A PARTIR DE THEOBROMA BICOLOR (MACAMBO)
 Solicitado por CELIA MARINA VELA RENGIFO
 DIANA ISABEL RIXE FASABI
 Fecha de Análisis 17 – 04 al 25 – 04 del 2017

DETERMINACIONES	SEMILLA DE MACAMBO	LICOR SECADO BANDEJA	LICOR SECADO SOLAR
Calcio, mg/100	19,00	25,00	23,45
Fósforo, mg/100	165,00	172,00	171,70
Hierro, mg/100	1,72	2,11	2,25
Magnesio, mg/100	10,73	12,44	12,00
Manganeso, mg/100	N. D.	N. D.	N. D.
Sodio, mg/100	3,26	4,00	4,05
Cobre, mg/100	N. D.	N. D.	N. D.
Potasio, mg/100	15,75	16,85	17,00
Zinc, mg/100	N. D.	N. D.	N. D.

Iquitos, 26 de Abril del 2017.

Laura Rosa García Panduro
Ingeniero Químico
Reg. CIP 23792

Anexo 11: Análisis microbiológico del licor de macambo (secado solar).

 UNAP	Facultad de Industrias Alimentarias Planta Piloto Centro de Prestación de Servicio en Control de Calidad de Alimentos "CEPRESE COCAL"	
	Laboratorio de Microbiología de Alimentos INFORME DE ENSAYO N° 001-2017	
I. DATOS DEL SOLICITANTE		
Nombre	DIANA ISABEL RIXE FASABI CELIA MARINA VELA RENGIFO	
Dirección	-.-	
Telefax	-.-	
II. DATOS DEL SERVICIO		
N° de solicitud de servicio	01/2017	
Fecha de solicitud de servicio	18/04/17	
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico	
III. DATOS DEL PRODUCTO		
Nombre del producto	<i>Licor de Theobrama bicolor (macambo)</i>	
Numero de muestra	UNO (01)	
Tamaño de muestra	80 Gr.	
Muestra	1	
Muestra	Traída por el cliente	
Código	"P"	
Forma de presentación	Envasado en bolsa de polietileno	
Fecha de producción	-.-	
Fecha de vencimiento	-.-	
IV. RESULTADOS DEL ENSAYO		
ENSAYO MICROBIOLÓGICO		RESULTADOS
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos (ufc/g a 35-37°C)		1,5 x 10 ¹
Mohos (ufc/g)		< 10
Levaduras (ufc/g)		1,5 x 10 ¹
Coliformes Totales (NMP/g a 35°C)		< 3
Enterobacterias (UFC/g)		< 10
Staphylococcus aureus (ufc/g)		< 10
Salmonella sp.		Ausencia en 25g
Dirección: calle Nauta 5ta. Cdra., Iquitos, Perú Teléfono: (5165) 234458 Telefax 242001		 www.unapiquitos.edu.pe

**UNAP****Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto****Centro de Prestación de Servicio
en Control de Calidad de Alimentos
"CEPRESE COCAL"****METODOS USADOS.**

- ✓ Recuento de estándar en placa. ICMSF 2000. 2da. Ed. Pág. 120-124
- ✓ Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18 7ma. Ed.
- ✓ APHA Multiple Tubes Fermentation Technique/ Total Coliforms.9221.B.3. Completed Phase.
- ✓ Método Horizontal para la detección y numeración de Enterobacterias. Método ISO 21528-2:2004.
- ✓ Staphylococcus aureus. Recuento Directo en Placa. FDA. BAM. Capítulo 12. Rev. 8ava. Ed. 2001.
- ✓ Salmonella FDA. BAM. Capítulo 5 Rev. 8ava ed. 2007

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL FIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 11 de Mayo de 2017

Blga. JESSY P. VASQUEZ CHUMBE
Jefa del Laboratorio de Microbiología de
Alimentos F.I.A.-UNAP





FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
 SISTEMA DE CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS
 LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS
 Iquitos - Perú

TARJETA DE RESULTADOS DEL ANÁLISIS

MUESTRA N°: 44
 Nombre y apellido del analista: Alexander Javier Iman Torres
 Código de la muestra: "p"
 Fecha de ingreso de la muestra: 18/04/2017
 Observación: Producto muestreado por el cliente
 Producto: Licor de *Theobroma bicolor* (macambo)
 Fechas y días de análisis: 18/04/2017 al 25/04/2017
 Orden de Servicio N°: 000126

Análisis	Resultado	Método del análisis empleado
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos (UFC/g a 35-37°C).	1,5 X 10 ¹	Recuento estándar en placa. ICMSF 2000. 2da. Ed. Pág. 120-124.
Mohos (UFC/g)	< 10	Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18. 7ma. Ed.
Levaduras (UFC/g)	1,5 X 10 ¹	Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18. 7ma. Ed.
Coliformes Totales (NMP /g a 35°C)	< 3	APHA. Múltiple Tubes Fermentation Technique/ Total Coliforms. 9221.B. 3. Completed Phase.
Enterobacterias (UFC/g)	< 10	Método Horizontal para la detección y numeración de Enterobacterias. Método ISO 21528-2:2004.
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	< 10	<i>Staphylococcus aureus</i> . Recuento Directo en Placa. FDA. BAM. Capítulo 12. Rev. 8ava. Ed. 2001.
<i>Salmonella</i> sp.	Ausencia en 25g	<i>Salmonella</i> . FDA. BAM. Capítulo 5. Rev. 8ava ed. 2007

Sello y firma del analista

 V°B° Jefe de Laboratorio
 Iquitos, 11 Mayo de 2017

Anexo 12: Análisis microbiológico del licor de macambo (secado bandeja).**UNAP**

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**
Centro de Prestación de Servicio
en Control de Calidad de Alimentos
"CEPRESE COCAL"

Laboratorio de Microbiología de Alimentos**INFORME DE ENSAYO N° 002-2017****I. DATOS DEL SOLICITANTE**

Nombre	DIANA ISABEL RIXE FASABI CELIA MARINA VELA RENGIFO
Dirección	-.-
Telefax	-.-

II. DATOS DEL SERVICIO

N° de solicitud de servicio	02/2017
Fecha de solicitud de servicio	18/04/17
Servicio solicitado	Análisis Microbiológico

III. DATOS DEL PRODUCTO

Nombre del producto	<i>Licor de Theobrama bicolor (macambo)</i>
Numero de muestra	UNO (01)
Tamaño de muestra	80 Gr.
Muestra	2
Muestra	Traída por el cliente
Código	"Q"
Forma de presentación	Envasado en bolsa de polietileno
Fecha de producción	-.-
Fecha de vencimiento	-.-

IV. RESULTADOS DEL ENSAYO

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	RESULTADOS
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos (ufc/g a 35-37°C)	5,0 x 10 ¹
Mohos (ufc/g)	< 10
Levaduras (ufc/g)	10
Coliformes Totales (NMP/g a 35°C)	< 3
Enterobacterias (UFC/g)	< 10
Staphylococcus aureus (ufc/g)	< 10
Salmonella sp.	Ausencia en 25g





UNAP

**Facultad de
Industrias Alimentarias
Planta Piloto**
Centro de Prestación de Servicio
en Control de Calidad de Alimentos
"CEPRESE COCAL"

METODOS USADOS.

- ✓ Recuento de estándar en placa. ICMSF 2000. 2da. Ed. Pág. 120-124
- ✓ Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18 7ma. Ed.
- ✓ APHA Multiple Tubes Fermentation Technique/ Total Coliforms.9221.B.3. Completed Phase.
- ✓ Método Horizontal para la detección y numeración de Enterobacterias. Método ISO 21528-2:2004.
- ✓ Staphylococcus aureus. Recuento Directo en Placa. FDA. BAM. Capítulo 12. Rev. 8ava. Ed. 2001.
- ✓ Salmonella FDA. BAM. Capítulo 5 Rev. 8ava ed. 2007

NOTA:

- Se prohíbe la reproducción total o parcial del presente documento, sin la autorización de CEPRESE – COCAL. FIA-UNAP (Laboratorios).

Iquitos, 11 de Mayo de 2017

B|ga. JESSY P. VÁSQUEZ CHUMBE
Jefa del Laboratorio de Microbiología de
Alimentos F.I.A.-UNAP







FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
 SISTEMA DE CONTROL DE CALIDAD DE ALIMENTOS
 LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS
 Iquitos - Perú

TARJETA DE RESULTADOS DEL ANÁLISIS

MUESTRA N°: 44
 Nombre y apellido del analista: Alexander Javier Iman Torres
 Código de la muestra: "p"
 Fecha de ingreso de la muestra: 18/04/2017
 Observación: Producto muestreado por el cliente
 Producto: Licor de *Theobroma bicolor* (macambo)
 Fechas y días de análisis: 18/04/2017 al 25/04/2017
 Orden de Servicio N°: 000126

Análisis	Resultado	Método del análisis empleado
Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos (UFC/g a 35-37°C).	1,5 X 10 ¹	Recuento estándar en placa. ICMSF 2000. 2da. Ed. Pág. 120-124.
Mohos (UFC/g)	< 10	Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18. 7ma. Ed.
Levaduras (UFC/g)	1,5 X 10 ¹	Recuento de mohos y levaduras. FDA. 1992. Cap. 18. 7ma. Ed.
Coliformes Totales (NMP /g a 35°C)	< 3	APHA. Múltiple Tubes Fermentation Technique/ Total Colliforms. 9221.B. 3. Completed Phase.
Enterobacterias (UFC/g)	< 10	Método Horizontal para la detección y numeración de Enterobacterias. Método ISO 21528-2:2004.
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	< 10	<i>Staphylococcus aureus</i> . Recuento Directo en Placa. FDA. BAM. Capítulo 12. Rev. 8ava. Ed. 2001.
<i>Salmonella</i> sp.	Ausencia en 25g	<i>Salmonella</i> . FDA. BAM. Capítulo 5. Rev. 8ava ed. 2007

Sello y firma del analista  V°B° Jefe de Laboratorio 

Iquitos, 11 Mayo de 2017

Anexo 13: Ubicación del Fundo Zungarococha- UNAP; ubicado en carretera Iquitos – Nauta.

