



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE
SHIITAKE (*Lentinula edodes*) COMO AGENTE
ANTIMICROBIANO EN LA ELABORACIÓN DE UN
EMBUTIDO TIPO CERVECERO
TRABAJO EXPERIMENTAL

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA
NIETO TRIGUERO EVELYN GABRIELA

TUTOR
ING. ZÚÑIGA MORENO LUIS EDUARDO, M.Sc

GUAYAQUIL – ECUADOR

2024



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **ZÚÑIGA MORENO LUIS EDUARDO**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETÁNICOS DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA ELABORACIÓN DE UN EMBUTIDO TIPO CERVECERO**, realizado por la estudiante **NIETO TRIGUERO EVELYN GABRIELA**; con cédula de identidad N° 0940536337 de la carrera **AGROINDUSTRIA**, Unidad Académica Campus Dr. Jacobo Bucaram Ortíz-Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Ing. Luis Zúñiga Moreno M,sc

Guayaquil, 1 de julio del 2024



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETÁNICOS DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA ELABORACIÓN DE UN EMBUTIDO TIPO CERVECERO”**, realizado por la estudiante **NIETO TRIGUERO EVELYN GABRIELA**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Nadia Cadena Iturralde M,Sc
PRESIDENTE

Lcda. Carolina Paz, Phd
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Yoansy García Ortega M,Sc
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Luis Zúñiga Moreno M,Sc
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 19 de junio del 2024

Dedicatoria

Mi tesis se la dedico con todo amor y cariño a mis padres porque han sabido educarme y sobre todo confiaron en mi proceso, jamás dudaron de mi capacidad y pusieron su confianza en mi sabiendo que no los iba a defraudar, también les agradezco por haberme inculcado buenos modales y muchos de mis logros se los debo a ellos por haber sido mi motivación y mi pilar fundamental a lo largo de mi etapa universitaria.

Agradecimiento

En primer lugar, le agradezco a Dios quien me ha brindado la sabiduría y la capacidad de seguir adelante y no detenerme en ningún momento.

A mis padres que me han brindado su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera universitaria.

Y a todas las personas que de una u otra forma me ofrecieron su apoyo emocional y me motivaron cada día con buenos consejos a que me siga preparando y sea una buena profesional.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo **NIETO TRIGUERO EVELYN GABRIELA**, en calidad de autora del proyecto realizado, sobre **“EVALUACIÓN DE EXTRACTOS ETÁNICOS DE SHIITAKE (*Lentinula edodes*) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA ELABORACIÓN DE UN EMBUTIDO TIPO CERVECERO”** para optar el título de **INGENIERA AGROINDUSTRIAL**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 1 de julio del 2024

NIETO TRIGUERO EVELYN GABRIELA
C.I. 0940536337

Índice general

PORTADA.....	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice general	7
Índice de tablas	12
Índice de figuras.....	14
Resumen	17
Abstract.....	18
1. Introducción.....	19
1.1 Antecedentes.....	19
1.2 Planteamiento y formulación del problema	21
1.2.1. Planteamiento del problema.	21
1.2.2. Formulación del problema.	24
1.3 Justificación de la investigación	24
1.4 Delimitación de la investigación	24
1.5 Objetivo general	25
1.6 Objetivos específicos.....	25
1.7 Hipótesis	25

2. Marco teórico	26
2.1. Estado del arte	26
2.2 Bases teóricas	30
2.2.1. Cultivo de shiitake (<i>Lentinula edodes</i>)	30
2.2.1.1. Clasificación taxonómica de shiitake (<i>Lentinula edodes</i>)	30
2.2.1.2. Valor nutricional	31
2.2.1.3. Composición	31
2.2.1.4. Composición fisicoquímica	32
2.2.1.5. Metabolitos	33
2.2.2. Propiedades del hongo shiitake	34
2.2.2.1. Propiedades medicinales	34
2.2.2.2. Propiedades antimicrobianas	35
2.2.3. Embutido	37
2.2.3.1. Embutidos crudos	39
2.2.3.2. Embutidos escaldados	39
2.2.3.3. Embutidos ahumados	40
2.2.4. Chorizo cervecero	40
2.2.4.1. Información de los ingredientes	41
2.2.5. Microbiología de los productos cárnicos	43
2.2.5.1. Aerobios mesófilos	43
2.3 Marco legal	45

3. Materiales y métodos	47
3.1 Enfoque de la investigación	47
3.1.1. Tipo de investigación	47
3.1.2. Diseño de investigación.	47
3.2 Metodología	48
3.2.1. Variables.	48
3.2.1.1. Variable independiente.	48
3.2.1.2. Variable dependiente.	48
3.2.2. Tratamientos	48
3.2.3. Diseño experimental.	49
3.2.4. Recolección de datos.	49
3.2.4.1. Recursos	49
3.2.4.1.1. Indumentaria.	49
3.2.4.1.2. Insumos.	49
3.2.4.1.3. Materiales y equipos para su elaboración.	50
3.2.4.1.4. Materiales y equipos para los análisis.	50
3.2.5. Métodos y técnicas.	51
3.2.5.1. Diagrama de flujo del procedimiento general para la extracción del hongo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>) por maceración.	52
3.2.5.2. Descripción del diagrama de flujo de la extracción del hongo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).	53
3.2.5.3. Diagrama de flujo de la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).	54

3.2.5.4. Descripción del diagrama de flujo de la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).	55
3.2.5.5. Determinación del análisis físico químico (pH).	56
3.2.5.6 Determinación de aerobios mesófilos mediante análisis microbiológico.	57
3.1.3. Análisis estadístico.....	58
4. Resultados.....	60
4.1 Obtención del extracto del hongo shiitake por el método de maceración empleando el solvente etanol en distintas concentraciones	60
4.2 Determinación del pH y la actividad antimicrobiana del extracto del hongo shiitake frente a microorganismos (<i>aerobios mesófilos</i>) en la elaboración de un embutido tipo cervecero	61
4.2.1. Determinación de pH.	61
4.2.2. Resultados microbiológicos de <i>aerobios mesófilos</i>	62
4.3 Comparación de los requisitos microbiológicos (<i>aerobios mesófilos</i>) del embutido según la norma NTE INEN 1330:2012	63
4.4 Evaluación de las características sensoriales del embutido tipo cervecero con extractos de shiitake.....	64
4.4.1 Resultados del parámetro color en los tratamientos.....	65
4.4.2 Resultados del parámetro olor en los tratamientos.....	65
4.4.3 Resultados del parámetro sabor en los tratamientos.....	66
4.4.4 Interpretación de resultados de evaluación sensorial de todos los parámetros (color, olor y sabor).	67

5. Discusión	69
6. Conclusiones.....	73
7. Recomendaciones.....	75
8. Bibliografías.....	77
9. Anexos	86
9.1 Anexo 1. Hongo shiitake.....	86
9.2 Anexo 2. Normativa INEN productos cárnicos	87
9.2 Anexo 3. Proceso de obtención de extracto del hongo shiitake y elaboración de embutido tipo cervecero.....	87
9.3 Anexo 4. Determinación de pH y actividad antimicrobiana de <i>aerobios mesófilos</i>	98
9.4 Anexo 5. Análisis sensorial	109

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación taxonómica del shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).....	30
Tabla 2. Requisitos microbiológicos del embutido.....	45
Tabla 3. Formulación para la elaboración del embutido	48
Tabla 4. Análisis general de la elaboración del embutido tipo cervecero	51
Tabla 5. Frecuencia en la que se realizó los análisis al embutido.....	57
Tabla 6. Formato de resultados.....	58
Tabla 7. Recolección de datos-Tabla ANOVA para DCA para los análisis de laboratorio	58
Tabla 8. Esquema del análisis de varianza para el análisis sensorial	59
Tabla 9. Cantidades empleadas en la maceración del hongo.....	60
Tabla 10. Valores del pH en la elaboración del embutido en los días 0,4 y 8	62
Tabla 11. Crecimiento UFC por tratamiento y por día	63
Tabla 12. Comparación de resultados análisis microbiológico con norma NTE INEN 1330:2012.....	64
Tabla 13. Resultados de aceptación sensorial del parámetro color.....	65
Tabla 14. Resultados de aceptación sensorial del parámetro olor.....	66
Tabla 15. Resultados de aceptación sensorial del parámetro sabor	67
Tabla 16. Tratamiento de mayor aceptación sensorial.....	68
Tabla 17. Tratamiento 0, análisis microbiológico.....	104
Tabla 18. Tratamiento 1, análisis microbiológico.....	105
Tabla 19. Tratamiento 2, análisis microbiológico.....	106
Tabla 20. Tratamiento 3, análisis microbiológico.....	107
Tabla 21. Datos sensoriales tratamiento 0	112
Tabla 22. Datos sensoriales tratamiento 1	115

Tabla 23. Datos sensoriales tratamiento 2	118
Tabla 24. Datos sensoriales tratamiento 3	121

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de extracción de shiitake (<i>Lentinula edodes</i>) por maceración.....	52
Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de la elaboración de un embutido cervecero con extracto del hongo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>).....	54
Figura 3. Portada Norma INEN	87
Figura 4. Hongo shiitake en fresco.....	87
Figura 5. Pesaje de hongo shiitake en fresco.....	88
Figura 6. Proceso de deshidratación hongo shiitake.....	88
Figura 7. Deshidratación hongos shiitake	89
Figura 8. Pesaje de harina de hongo shiitake	89
Figura 9. Proceso de molienda del hongo shiitake.....	89
Figura 10. Dilución de etanol al 50 %.....	90
Figura 11. Dilución de etanol al 60 %.....	90
Figura 12. Macerados de hongo shiitake	91
Figura 13. Proceso de filtrado de macerado hongo shiitake	91
Figura 14. Filtrado de macerado hongo shiitake	92
Figura 15. Residuos proceso de filtrado de macerados	92
Figura 16. Proceso de concentrado de macerados en rotavapor.....	92
Figura 17. Proceso de concentrado de macerados en rotavapor.....	93
Figura 18. Concentrado de hongo shiitake.....	93
Figura 19. Pesaje de extracto concentrado de hongo shiitake.....	94
Figura 20. Proceso de elaboración de embutido	94
Figura 21. Mezcla de ingredientes	95
Figura 22. Pesaje de ingredientes.....	95

Figura 23. Pesaje de ingredientes.....	96
Figura 24. Mezcla de ingredientes con concentrados	96
Figura 25. Embutido	97
Figura 26. Embutido	97
Figura 27. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero	98
Figura 28. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero	98
Figura 29. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero	99
Figura 30. Media y desviación estándar de datos de pH.....	99
Figura 31. Análisis de Tukey pH.....	100
Figura 32. Preparación para siembra en Petri film	100
Figura 33. Análisis microbiológico para <i>aerobios mesófilos</i>	101
Figura 34. Recuento microbiológico de <i>aerobios mesófilos</i>	101
Figura 37. Petrifilm T1, recuento <i>aerobios mesófilos</i>	102
Figura 36. Recuento UFC/g de <i>aerobios mesófilos</i>	102
Figura 35. Petrifilm T0, recuento <i>aerobios mesófilos</i>	102
Figura 38. Petrifilm T2, recuento <i>aerobios mesófilos</i>	103
Figura 39. Petrifilm T3, recuento <i>aerobios mesófilos</i>	103
Figura 40. Promedio y desviación estándar, análisis microbiológico.....	108
Figura 41. Análisis de varianza y prueba de comparaciones de Tukey.....	108
Figura 42. Ficha de análisis sensorial	109
Figura 43. Análisis sensorial de las muestras, panel no entrenado.....	109
Figura 44. Panel sensorial.....	110
Figura 45. Panel sensorial, panelistas no entrenados	110
Figura 46. Panelistas no entrenados	111
Figura 47. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de color	123

Figura 48. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de olor . 124

Figura 49. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de sabor

..... 124

Resumen

Este estudio investigó los impactos del extracto de hongo shiitake en embutido tipo cervecero, considerando su potencial como agente natural para regular el desarrollo microbiano. Los extractos de hongo shiitake fueron obtenidos mediante maceración en solventes de etanol con distintas concentraciones (50 %, 60 % y 70 %). Después, se elaboró el embutido, utilizando los extractos obtenidos, donde los tratamientos fueron: T0 embutido sin extracto, T1 embutido con extracto al 50 %, T2 embutido con extracto al 60 %, T3 embutido con extracto al 70 %). Se llevó a cabo un análisis microbiológico de aerobios mesófilos utilizando películas de Petri y se procedió a la evaluación del pH. Los resultados del análisis de pH revelaron diferencias significativas entre los valores registrados en los días 0, 4 y 8. A partir del día 4, se observó que T0 no mantuvo estabilidad, mientras que T1, T2 y T3 mantuvieron niveles estables de pH. Los resultados de los análisis microbiológicos señalaron que los embutidos con extracto de hongo shiitake (T1 con extracto al 50%, T2 con extracto al 60%, T3 con extracto al 70%) mantuvieron niveles de aerobios mesófilos dentro de los parámetros aceptables establecidos por la NTE INEN 1338: 2012. Esto indica una calidad microbiológica satisfactoria. Se observó que el T2 exhibió el recuento más bajo de aerobios mesófilos hasta el día 8. Finalmente, se llevaron a cabo análisis sensoriales de color, olor y sabor en los embutidos enriquecidos, destacando T0 siendo el mejor aceptado sensorialmente.

Palabras claves: Calidad, embutido, extracto, hongo, shiitake.

Abstract

This research assessed the effects of shiitake mushroom extract on beer-type sausage, with the extract emerging as a natural alternative for controlling microbial growth. Shiitake mushroom extracts were obtained through maceration with ethanol (50%, 60%, and 70%). After, preparing the sausage was carried out, resulting in the following treatments: T0 sausage without extract, T1 sausage with 50% extract, T2 sausage with 60% extract, T3 sausage with 70% extract. Subsequently, microbiological analyses of mesophilic aerobes were conducted using Petri film, and pH was evaluated. The pH analysis revealed that the values recorded on days 0, 4, and 8 showed significant differences starting from day 4, where T0 was not stable, while T1, T2, and T3 remained stable. Microbiological analysis results indicated that sausages enriched with shiitake mushroom extract (T1 50% extract, T2 60% extract, T3 70% extract) maintained mesophilic aerobe levels within the permissible limits according to national regulations, demonstrating adequate microbiological quality. Among the three treatments, T2 had the lowest mesophilic aerobe count until day 8. Additionally, sensory analyses of color, odor, and taste were conducted on the enriched sausages, highlighting that T0 was the treatment approved by the panelists.

Keywords: Extract, mushroom, quality, sausage, shiitake.

1. Introducción

1.1 Antecedentes

Las industrias enfrentan en la actualidad varios desafíos, no solo por innovaciones tecnológicas si no por satisfacer las exigencias del consumidor en cuanto al desarrollo de nuevos productos que se perciban más naturales y menos artificiales. Las industrias alimentarias buscan desarrollar productos funcionales por la alta demanda del mercado, ya que los consumidores eligen alimentos más saludables, con componentes naturales como los extractos provenientes de las plantas, reduciendo así la aplicación de ingredientes artificiales. Es por lo que las reformulaciones en embutidos con la incorporación de extractos o aceites esenciales tienen como finalidad conseguir alimentos saludables y seguros, aportando múltiples beneficios y por ende mejorar la calidad de vida del consumidor (Espinel, 2020).

Las nuevas tendencias prefieren que las industrias alimentarias utilicen conservantes naturales como los antioxidantes procedentes de las plantas y de esta manera reducir los conservantes artificiales perjudiciales para la salud. En las industrias de alimentos es común usar antimicrobianos sintetizados químicamente que pueden dañar la salud humana, surgiendo la necesidad de buscar alternativas de origen natural en sustitución de los tradicionales, con el fin de evitar intoxicaciones y posibles enfermedades a futuro por parte de los consumidores. Estudios han demostrado que los extractos y los aceites esenciales tienen propiedades antimicrobianas y son usados desde la antigüedad (García, 2023).

Como mencionan Zapata, Restrepo y Mejía (2019) en los últimos años existe un creciente interés por el uso de antimicrobianos de origen natural. Los aceites

esenciales extraídos de los hongos y las plantas son ricos en fenoles de reconocida actividad como eugenol y timol, compuestos que ayudan a aumentar la vida útil de una gran variedad de alimentos. Estudios previos han demostrado que el extracto de romero y de otras plantas han sido de utilidad en las industrias alimentarias para la elaboración de salchichas y mortadelas, con el fin de impedir el crecimiento de distintos microorganismos como *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, los cuales son responsables de numerosos casos de enfermedades transmitidas por alimentos.

Los hongos hoy en día cumplen un papel importante tanto en la dieta alimentaria como en la medicina. Hongos comestibles han sido incorporados en la dieta de algunos grupos étnicos y se han utilizado para el tratamiento de algunas enfermedades debido a su gran importancia y alto valor nutritivo. Existen numerosos estudios sobre las actividades antimicrobianas y antioxidantes de extractos de hongos, los cuales han registrado inhibición de los microorganismos a diferentes concentraciones. Los extractos de etanol y metanol mostraron actividad antimicrobiana un poco más elevada, en relación con los dos extractos el etanol ejerció una actividad antimicrobiana más fuerte que el metanol (Martinez *et al.*, 2021).

Lentinula edodes conocido como hongo shiitake pertenece a la familia *Tricholomataceae*, es originario de Asia, siendo Japón y China sus mayores productores. El hongo shiitake posee propiedades alimenticias y medicinales beneficiosas para el ser humano. El shiitake contiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana, también es una buena fuente de vitaminas, principalmente el complejo B, B1, B2, B3 y B12. Además, el shiitake contiene casi todos los aminoácidos esenciales para la buena nutrición del cuerpo humano con

cantidades especialmente abundantes de arginina, alanina y leucina mientras que la histidina es menos abundante. Su actividad antimicrobiana se ha evaluado *in vitro* con distintos extractos y compuestos puros contra bacterias patógenas importantes como *Escherichia coli* y *Pseudomonas spp*, entre otras (Gaitán y Mata, 2020).

Según Bermúdez, Granados y Molina (2019), las plantas producen una gran variedad de metabolitos secundarios o fitoquímicos, mucho de los cuales cumplen con una función protectora contra predadores y patógenos, dentro de los metabolitos secundarios se conocen actualmente diversos aceites esenciales, los cuales son importantes a nivel comercial e industria, debido a su sabor y fragancia, siendo utilizados principalmente en la industria de alimentos y la perfumería. Los aceites esenciales son sustancias volátiles, fragantes de consistencia aceitosa, típicamente producida por todos los órganos de las plantas. Los aceites esenciales tienen propiedades antimicrobianas y antioxidantes, lo que los hace útil en la industria alimentaria, ya que así inhiben el crecimiento de microorganismos y prolongan la vida útil de los alimentos sin necesidad de utilizar aditivos químicos.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1. Planteamiento del problema.

Hoy es muy importante descubrir nuevos compuestos naturales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes para combatir posibles enfermedades contraída por alimentos que afectan principalmente a los consumidores. Se ha reconocido a los como una fuente prometedora de moléculas bioactivas, debido a su diversidad metabólica y capacidad de sintetizar compuestos con actividades biológicas diversas. La infección microbiana en la

flora intestinal es una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo, por ende, se busca generar nuevas alternativas para contrarrestar el uso de aditivos o conservantes sintéticos, por ello es importante la búsqueda de material vegetal que tenga algún potencial antimicrobiano beneficioso para la salud humana (Mena, Ramírez y Arango, 2021).

El objetivo principal de la fabricación de productos cárnicos es aumentar la vida útil del producto, ofrecer un producto inocuo, beneficioso y llamativos para la vista del consumidor. En las industrias cárnicas ecuatorianas el producto más consumido y de preferencia para los consumidores son los embutidos y las mortadelas. La creciente población y demanda por productos alimenticios variados y de alta calidad requieren una amplia gama de opciones. Esto implica la necesidad de agregar valor a los productos, innovar en su elaboración y responder a una demanda más precisa en términos de calidad y cantidad (Aguilar, 2022)

La industria de la carne es papel fundamental en la cadena alimentaria humana y ha mejorado significativamente con el tiempo. Uno de los aspectos más relevantes, especialmente para los consumidores, es el uso de agentes químicos, estos agentes se utilizan principalmente como conservantes, aditivos para mejorar las características organolépticas de los productos cárnicos. Sin embargo, debido al desconocimiento y la falta de estudios enfocados en determinar los compuestos y beneficios que ofrecen las plantas tanto para la salud humana y animal, dificulta el uso de las plantas o de sus componentes como sustitutos de muchos de los agentes químicos presentes en los medicamentos, aditivos alimentarios y otros productos utilizados actualmente para

tratar enfermedades y prolongar la vida útil de los alimentos con el fin de ofrecer algo natural y algo beneficioso (Arias, 2022).

Los alimentos pueden exponerse a microorganismos alterantes que afectan a las propiedades, organolépticas y nutricionales, y a microorganismos patógenos que pueden causar enfermedades mortales en el ser humano. El uso de agentes antimicrobianos en las industrias alimentarias es crucial para garantizar la seguridad y la calidad de los productos procesados. Los embutidos cervenceros son alimentos reconocidos a nivel mundial y su producción conlleva el riesgo de contaminación por parte de los microorganismos patógenos, lo que puede causar enfermedades perjudiciales para el consumidor, debido a las limitaciones y los efectos negativos que causan estos antimicrobianos artificiales de esta manera se están desarrollando nuevos métodos de conservación de alimentos con el fin de seguir asegurando la inocuidad del producto (Montenegro, 2022).

Es de desconocimiento general el término *Lentinula edodes*, conocido como shiitake, este producto se desarrolla por lo general en árboles muertos de roble provenientes de Asia. El shiitake es altamente solicitado debido a su exquisito sabor, sus cualidades sensoriales y los compuestos bioactivos que contiene. Se usa en la cocina oriental desde hace ciento de años debido a su sabor, textura y beneficios que otorga al consumidor. Dentro del contexto de la investigación, se pretende demostrar los significativos y beneficios que este producto contiene capacidad antioxidante y antimicrobiana, también se lo usa como un producto medicinal ya que contiene componentes químicos relacionados con propiedades anticancerígenas, antiinfecciosas, antidiabéticas y antiinflamatorias (Yashima y Ogawa, 2023).

1.2.2. Formulación del problema.

¿La aplicación del extracto del hongo shiitake servirá como agente antimicrobiano en la elaboración de un embutido tipo cervecero?

1.3 Justificación de la investigación

La presencia de microorganismos patógenos y alterantes en los alimentos es una preocupación importante, ya que pueden causar enfermedades transmitidas por alimentos e impactar negativamente en la vida útil del producto. El shiitake es un hongo comestible ampliamente reconocido por sus propiedades medicinales y beneficios en la salud. Por eso se planteó realizar este proyecto de investigación donde se utilizará el extracto del hongo shiitake como una alternativa natural y efectiva para controlar el crecimiento microbiano no deseado en el embutido, sin comprometer la calidad ni la seguridad del producto final, por el momento no hay evidencia de la aplicación del extracto de shiitake en la producción de alimento, es por tal motivo que se desea emplear este extracto de shiitake para comprobar su eficacia lo que traerá consigo múltiples beneficios.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** La presente investigación se realizó en los siguientes laboratorios: Laboratorio de cárnicos, laboratorio de suelos y laboratorio de microbiología de la Universidad Agraria del Ecuador, Unidad académica campus Dr. Jacobo Bucaram Ortiz - Guayaquil.
- **Tiempo:** La investigación tuvo una duración de 6 meses.
- **Población:** Para consumidores de productos cárnicos.

1.5 Objetivo general

Evaluar el extracto del hongo shiitake (*Lentinula edodes*) como agente antimicrobiano en la elaboración de un embutido tipo cervecero, con el fin de comprobar su efectividad y mejorar la calidad microbiológica

1.6 Objetivos específicos

- Obtener el extracto del hongo shiitake por el método de maceración empleando el solvente etanol en distintas concentraciones.
- Determinar el pH y la actividad antimicrobiana del extracto del hongo shiitake frente a microorganismos (*aerobios mesófilos*) en la elaboración de un embutido tipo cervecero.
- Comparar los requisitos microbiológicos (*aerobios mesófilos*) del embutido según la norma NTE INEN 1338:2012.
- Evaluar las características sensoriales del embutido tipo cervecero con extracto de shiitake.

1.7 Hipótesis

Una de las concentraciones del extracto etanólico del shiitake aplicados en el embutido tipo cervecero presentará efectiva actividad antimicrobiana frente a microorganismos *aerobios mesófilos* cumpliendo los requisitos microbiológicos señalados por la norma NTE INEN1338: 2012.

2. Marco teórico

2.1. Estado del arte

Checalla y Sánchez (2021) llevaron a cabo una minuciosa investigación sobre el extracto de propóleo. Durante el proceso, se realizó la recolección y eliminación de impurezas, resultando en una muestra final de 150 gramos, almacenada apropiadamente para su posterior uso. La obtención del extracto etanólico del propóleo (EEP) implicó la maceración de 100 gramos de propóleo en 500 mL de alcohol al 70%, seguido por un proceso de filtración y evaporación del solvente. El EEP resultante fue reactivado con alcohol al 70%, generando un polvo fino con un peso final de 3,5 gramos. Posteriormente, se prepararon tres concentraciones distintas (25%, 50% y 75%) diluyendo el EEP puro en agua destilada en el día 4 y en el día 15. Para la preparación de las soluciones, se añadieron 2,5 mL, 5 mL y 7,5 mL de EEP puro a frascos conteniendo agua destilada en volúmenes ajustados según la concentración respectiva: 7,5 mL, 5 mL y 2,5 mL.

En el estudio realizado por Rodríguez y Martínez (2023) de los extractos de residuos de mamey, se llevaron a cabo diversas etapas metodológicas. Inicialmente, se realizó una molienda seca de la cáscara del fruto y la cascarilla de almendra, seguida de un tamizado con malla #30 para recuperar la fracción que pasó a través de la malla. Asimismo, para la almendra, se efectuó una molienda seca seguida de un desengrasado utilizando el método 920.39 de la AOAC (1990). Cada uno de los polvos resultantes, a saber, la cáscara de fruto, la almendra desengrasada y la cascarilla de almendra, se sometieron a un proceso individual de mezcla con etanol en una relación de 1:5 p/v. Este paso fue crucial, ya que la agitación a 120 rpm durante 72 horas permitió la adecuada extracción de los componentes deseados. Después, los extractos fueron filtrados y

concentrados mediante el uso de un rotavapor. El extracto se obtuvo en una menor cantidad del 5 % a la de la concentración deseada.

Torres-Martínez et al. (2021), en su estudio titulado "Efecto del solvente de extracción sobre la composición química, propiedades fisicoquímicas y biológicas de extractos de hongos comestibles", señalan que los hongos comestibles representan una valiosa fuente de compuestos biológicos con capacidad para reducir la presencia de bacterias patógenas en los alimentos. El estudio investigó el impacto de diferentes solventes (agua, etanol y etanol-agua) en las propiedades fisicoquímicas, el contenido de fenoles y la actividad antimicrobiana de los extractos. Se encontró que los extractos de *Pleurotus ostreatus* exhibieron un alto rendimiento de extracción (>40 %), así como niveles significativos de pH, fenoles y flavonoides ($p < 0.05$). Además, tanto los extractos etanólicos como acuosos de *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus* mostraron una fuerte actividad inhibitoria contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, entre otras. Los resultados sugieren que los extractos de hongos comestibles evaluados podrían ser utilizados como ingredientes con propiedades antimicrobianas y antioxidantes en la industria alimentaria.

Van Ba et al. (2017), en su investigación sobre los "efectos de los métodos de extracción de subproductos de shiitake sobre sus antioxidantes y capacidad antimicrobiana en salchichas fermentadas durante su almacenamiento" utilizó dos solventes agua y etanol/ agua en proporción 50/50 para la extracción de los contenidos fenólicos de shiitake. Se investigaron las eficacias antioxidantes y antimicrobianas de las salchichas fermentadas enriquecidas con estos dos extractos. Las muestras tratadas con extractos etanólicos mostraron una tasa de aumento de manera lenta del recuento aeróbico total (6.54-6.95 \log_{10} UFC/g) que

las tratadas con extracto acuoso ($6.74-7.16 \log_{10}$ UFC/g) durante su almacenamiento. Finalmente se observó que las muestras tratadas con extracto etanólico tuvieron mayor actividad antimicrobiana contra patógenos a diferencia de las otras muestras tratadas con extracto acuoso.

Ruilova, Hernández, Díaz y Niño-Ruiz (2016) en su trabajo titulado “Desarrollo de una formulación de salchicha saludable empelando al hongo *Pleurotus ostreatus* como sustituto de la carne de cerdo” determinaron la composición físico-química y las propiedades funcionales del *Pleurotus ostreatus* y la emulsión carne-hongo-grasa para la utilización de productos cárnicos saludables. Se agregó una formulación (carne de res 40 %, hongo 27 % y grasa 8 %) para la elaboración de una salchicha saludable y se utilizó el hongo *Pleurotus ostreatus* como sustituto de la carne de cerdo. La adición del hongo no afectó la calidad del producto ni perjudicó la composición nutricional, presentando características beneficiosas para los consumidores como la presencia de β - glucanos y fibra, una textura adecuada y mayor vida de almacenamiento.

Muñoz (2022) evaluó la adición del hongo *Agaricus bisporus* en la calidad del chorizo ahumado tipo I en distintas proporciones de 20 %, 30 %, 40 %, 50 % y 60 %. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, grasa y proteína); sensoriales (sabor, olor y color) y perfil de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad). En la evaluación sensorial el mejor tratamiento que fue T1 (20 % de adición del hongo) el cual obtuvo un perfil de textura con parámetros de dureza 6,78 N y adhesividad -0,56KG. Se determinó que el T1 cumple con la norma técnica de carnes y productos cárnicos NTE INEN (1338:2012) por lo que es considerado como el mejor tratamiento.

Verdugo (2017) en su trabajo titulado “Caracterización química y sensorial de un chorizo vegano” se elaboró tres tipos de chorizos sustituyendo la materia prima cárnica por hongos comestibles de la variedad *Cremini mushrooms*, soya texturizada y una mezcla de ambas materias prima. Se realizó una prueba de comparación de medias para las variables que presentaron diferencias significativas, utilizando las pruebas de Tukey al 0.05. En los atributos de apariencia global, color, sabor, textura y aceptación global no se encontró diferencia significativa a una $p > 0.05$ en el atributo de olor. Se considera como mejor chorizo el elaborado a base de hongos comestibles ya que este se puede considerar como un producto natural. Además, este chorizo contiene más minerales y fibra cruda sumada a una buena cantidad de proteínas en comparación con otros embutidos.

Tofiño-Rivera, Ortega-Cuadros, Herrera-Hinojosa, Fragoso-Castilla y Pedraza-Claros (2017) en su investigación sobre “La conservación microbiológica de embutido cárnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* y *Thymus vulgaris*” evaluaron la calidad microbiológica y características sensoriales de chorizos artesanales conservados en aceites esenciales de *T. vulgaris* y *E. caryophytalla*. Se determinó la caracterización físico-química y organolépticas de los aceites, análisis de la actividad antimicrobiana sobre *Salmonella spp*, *S aureus* y *E. coli*, calidad microbiológica hasta 24 días y prueba sensorial al chorizo. Los aceites presentaron características físico químicas similares *T. vulgaris* (47 % de timol) y *E. caryophytalla* (eugenol al 84 %), y presentaron halos de inhibición *in vitro* de 28,3 y 27,3 mm respectivamente. Se registró mejor percepción sensorial de color y olor sin diferencias significativas ($p > 0,05$).

2.2 Bases teóricas

2.2.1. Cultivo de shiitake (*Lentinula edodes*).

Dentro de los distintos métodos utilizados para aprovechar los residuos agrícolas y forestales en todo el mundo, ninguno se compara el proceso de cultivar hongos comestibles. En 1994, se estimó el valor global de la producción de hongos ascendía a casi 16 billones de dólares anuales. Esta cifra se sitúa al cultivo de hongos comestibles en un nivel similar al de la industria del café, aunque ambos mercados tienen características y comportamientos distintos. En naturaleza, el hongo *Lentinula edodes* se desarrolla como un organismo saprófito en maderas de hojas anchas de la familia *Fagaceae*, siendo el sustrato más comúnmente colonizado por este hongo (Romero-Arenas, Martínez, Huato, Ramírez y López-Olguín, 2015).

2.2.1.1. Clasificación taxonómica de shiitake (*Lentinula edodes*).

El shiitake, *Lentinula edodes* es un hongo comestible ampliamente cultivado y consumido en todo el mundo. Se clasificación taxonómica se basa en el sistema de clasificación biológica que organiza los organismos en categorías jerárquicas según sus características como se lo indica la Tabla 1, acerca de la clasificación taxonómica del shiitake (Niu *et al.*, 2023).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del shiitake (*Lentinula edodes*)

División	Nombre
Reino	<i>Fungi</i>
División	<i>Basidiomycota</i>
Clase	<i>Homobasidiomycetes</i>
Orden	<i>Agaricales</i>
Familia	<i>Tricholomataceae</i>
Género	<i>Lentinula</i>
Especie	<i>L. edodes</i>

Clasificación taxonómica del hongo shiitake.
Niu *et al.*, 2023

2.2.1.2. Valor nutricional.

La seta *Lentinula edodes* contiene los siguientes porcentajes en bases secas: 17,48 % de proteínas, 58,49 % de carbohidratos, 1,77 % de grasa, 17,79 % de fibra y 0,66% de cenizas. Estas setas son una buena fuente de minerales y vitaminas B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina) y D, además de contener varios aminoácidos esenciales y fibra dietética. El valor calórico de 100g de shiitake seco es de 261 kcal, lo cual es mayor que el de papas crudas (80 kcal) o lomo de res (224kcal), 3 gramos de hongos frescos pueden proporcionar la dosis diaria necesaria de vitamina B12, vitamina D y niacina. *Lentinula edodes* contienen 17 de los 20 aminoácidos esenciales presentes en las proteínas, según se determinó mediante HPLC (en g/100g): Histidina 1,77; Isoleucina 2,5; Leucina 4,92; Lisina 3,83; Metionina 0,11; Treonina 3,20; Valina 3,60; Alanina 3,83; Arginina 3,83; Glicina 3,15; Ácido Glutámico 144,13 entre otros (Niu *et al.*, 2023).

2.2.1.3. Composición.

Según Guiné, Correia y Goncalves (2019), el shiitake y otras setas son altamente perecederas, lo que significa que empiezan a deteriorarse poco después de ser recolectadas. El consumo creciente del shiitake ha llevado a generar una cantidad considerable de estipe diariamente. Sin embargo, este abundante recurso tiene el potencial de ofrecer oportunidades a la industria alimentaria para aumentar su rentabilidad económica mediante un adecuado procesamiento y uso de estos subproductos. Además, los agricultores a menudo se enfrentan a la situación de que algunos productos no cumplen con los estándares de venta debido a su tamaño o forma irregular, a pesar de que son perfectamente sabrosos y nutritivos.

2.2.1.4. Composición fisicoquímica.

El shiitake contiene una variedad de compuestos que contribuyen a su valor nutricional y beneficios para la salud. Algunos componentes más destacados son:

- **Hidratos de carbono:** El shiitake es una fuente de carbohidratos, principalmente en forma de glucosa, manitol y otros polisacáridos.
- **Proteínas:** Contiene una cantidad significativa de proteínas, aunque no tan alta como las legumbres o las carnes. Las proteínas en el shiitake son de alta calidad y contiene aminoácidos esenciales.
- **Grasas:** El bajo contenido de grasa en el shiitake es muy bueno y se compone de ácidos grasos insaturados, que son considerados más saludables para el corazón.
- **Fibra dietética:** El hongo shiitake es rico en fibra dietética, lo que puede ser beneficioso para la digestión y la salud intestinal.
- **Vitaminas:** Es una fuente de varias vitaminas, incluyendo la vitamina B2 (riboflavina), B3 (niacina), vitamina B5 (ácido pantoténico) y ácido fólico (vitamina B9).
- **Minerales:** El shiitake posee minerales como el fósforo, potasio, zinc, manganeso, magnesio y calcio que son importantes para diversas funciones corporales.
- **Polisacáridos:** Entre los más destacados se encuentra la lentinan, el beta glucano que se consideran inmunomoduladores y tienen propiedades antioxidantes.
- **Compuestos bioactivos:** El shiitake es conocido por contener compuestos bioactivos como lentinan, ergosterol, eritadenina y otros

fitoquímicos con propiedades antioxidantes y potenciales beneficiosos para la salud (Guiné *et al.*, 2019).

2.2.1.5. Metabolitos.

El hongo shiitake y otros microorganismos utilizan fuentes de carbono y energía presentes en su entorno para su crecimiento y producción. Lo hacen degradando estas fuentes con enzimas que se encuentran fuera de la célula. Los productos resultantes son absorbidos selectivamente y luego transformados en moléculas más pequeñas mediante enzimas dentro de la célula. Estas moléculas proporcionan la energía y los precursores necesarios para la biosíntesis de diversos compuestos esenciales como aminoácidos, nucleótidos, vitaminas, azúcares y ácidos grasos. Estos compuestos esenciales se conocen como metabolitos primarios y constituyen los elementos fundamentales para la síntesis de moléculas esenciales (Fan *et al.*, 2023).

Desde hace mucho tiempo se ha conocido a China, Japón y Corea las propiedades medicinales de algunos metabolitos liberado por los hongos. En los últimos años ha habido un gran avance en las actividades relacionadas con productos medicinales derivadas de los hongos, especialmente del hongo *L. edodes*. El hongo *L. edodes* se considera como un producto natural y nutracéutico, ya que contiene compuestos extraídos de las setas y el micelio vegetativo que poseen propiedades nutricionales y medicinales, de esta manera se aprovechará todas sus propiedades y se le dará un uso adicional en la elaboración de un embutido tipo cervecero (Vargas, Hernández-Chaverri y Jiménez-Silva, 2019).

2.2.2. Propiedades del hongo shiitake.

2.2.2.1. Propiedades medicinales.

Hoy en día el shiitake no solo se lo usa de manera gastronómica, sino que también constituye un modelo de estudio por sus propiedades funcionales y medicinales. Se ha encontrado que este hongo tiene propiedades antitumorales, anticancerígenas, anti mutagénicas, antivirales, antibacterianas, antifúngicas entre otras. Uno de los componentes importantes del shiitake es la enzima súper óxido dismutasa, que ha demostrado reducir la peroxidación de lípidos. Esta acción es relevante para prevenir enfermedades como el cáncer de arteria coronaria y podría estar relacionada con la longevidad. Gracias a sus propiedades, el shiitake muestra un aspecto beneficioso en la salud pública, ya que puede combatir la presión arterial alta y tratar infecciones hepáticas, entre otros aspectos positivos. Por lo tanto, este producto se ha convertido de interés para el bienestar general (Gaitan, Mata y Salmones, 2020).

De acuerdo con Watanabe *et al.*, 2024, el hongo shiitake, además de ser una fuente de nutrientes para los consumidores, ha sido utilizado como tónico medicinal durante más de dos milenios. En las últimas décadas, la ciencia ha demostrado muchas de las propiedades atribuidas a este hongo por la medicina tradicional asiática. De shiitake se han extraído y purificado numerosos compuestos biológicamente activos ya que algunas de estas sustancias tienen múltiples efectos. Entre los compuestos más estudiados del hongo se encuentra el *Lentinano*, un extracto de azúcar el cual ha sido objeto de experimentación tanto en humanos como en animales demostrando actividad anticancerígena, por ejemplo, contra el cáncer de estómago y ovarios. Se destaca que el *lentinano*

estimula la producción de linfocitos y controla la proliferación de células en infecciones cancerosas.

Las setas son consideradas productos valiosos debido a sus múltiples aplicaciones en la industria alimentaria y sanitaria, con la complejidad creciente de la ciencia médica y el problema de la resistencia a los antibióticos, se ha buscado activamente alternativas para el tratamiento y prevención de enfermedades. El shiitake ofrece una combinación beneficiosa de nutrientes y compuestos bioactivos que pueden contribuir significativamente a mantener una buena salud y prevenir enfermedades en los consumidores. Las setas se han vuelto un componente esencial en la dieta humana, investigaciones realizadas en las últimas décadas han revelado sus beneficios tanto del punto de vista medicinal como nutricional lo que las ha convertido en una fuente atractiva de alimento. Se ha demostrado que varios hongos como *Ganoderma*, *Lentinula*, *Agaricus* entre otros tienen efectos farmacológicos significativos (Ishtiaq *et al.*, 2023).

2.2.2.2. Propiedades antimicrobianas.

El aumento problemático de bacterias multirresistentes ha generado una urgente necesidad de encontrar nuevas y efectivas sustancias antimicrobianas. Los hongos podrían ser una interesante alternativa como fuente natural de antimicrobianos novedosos. En la actualidad, estamos sufriendo un dramático incremento de bacterias resistentes a múltiples medicamentos, resultado del uso excesivo de antibióticos y otros factores, lo que ha convertido enfermedades antes fácilmente curables en un grave problema. Uno de los aspectos más preocupantes de la resistencia de antibióticos son las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria, el cual estas infecciones conllevan a un aumento de

morbilidad y mortalidad. Dado que no es posible prevenir la evolución de bacterias, es crucial descubrir nuevas sustancias antimicrobianas de origen vegetal que sean eficaces contra microorganismos y patógenos (Bach *et al.*, 2019).

Según García *et al.*, (2021), los extractos acuosos de *Lentinula edodes* y *Clitocybe geotropa* muestran mayor actividad antimicrobiana en la cepa MSSA y MRSA. Los resultados más destacados fueron obtenidos con los extractos acuoso *L. edodes* especialmente frente a la cepa MRSA ya que es una de las más elevadas en los hospitales portugueses al 45 %. Las diferencias en la actividad antimicrobiana entre las dos variedades de hongos y los disolventes pueden ser atribuidas al contenido total de fenoles y ortodifenoles. Es común que las diferencias entre variedades puedan explicarse por múltiples factores, como características genéticas, fisiológicas y morfológicas, así como las condiciones agroclimáticas y estado de maduración. Las variaciones del contenido de fenoles y actividad antioxidantes se deben probablemente a las características genéticas, morfológicas y las condiciones de cultivo.

El shiitake es conocido por sus diversas propiedades antimicrobianas, que incluyen:

- **Compuestos activos:** Contiene varios compuestos bioactivos eritadina y otros polisacáridos, que son reconocidos por su efecto antibacterianos y por su capacidad para estimular el sistema inmunológico
- **Acción contra bacterias:** Diversos estudios han demostrado que el extracto de shiitake tiene propiedades antimicrobianas efectivas contra bacterias patógenas, incluyendo ciertas cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella* entre otras.

- **Efecto antifúngico:** El shiitake presenta propiedades antifúngicas, lo que permite combatir hongos perjudiciales para la salud humana.
- **Inhibición del crecimiento de microorganismos:** Los componentes activos del shiitake interfieren en el crecimiento y reproducción de microorganismo, lo que nos ayuda a prevenir infecciones.
- **Fortalecimiento del sistema inmunológico:** Los beta-glucano presentes en el shiitake estimulan el sistema inmunológico, mejorando la capacidad del cuerpo para combatir contra microorganismos.
- **Potencial terapéutico:** Las propiedades antimicrobianas del shiitake han sido objeto de investigación para su posible uso en medicina y como aditivos naturales en alimentos para prolongar la vida útil de los alimentos (Atila & Cetin, 2024).

2.2.3. Embutido.

En la historia, se ha modificado la carne para preservarla, dando lugar a los conocidos embutidos o carnes procesadas. El consumo de este tipo de alimento ha aumentado mucho por su precio asequible y la conveniencia que ofrece a los consumidores. El embutido es uno de los alimentos más consumidos actualmente, son transformaciones cárnicas las cuales se les añade grasa, harina, carne, especias entre otras, por ende, la inocuidad y la calidad son dos aspectos importantes para los consumidores ya que ellos prefieren un producto inocuo y 100% confiables (Grameros-Colin, Monroy-García, Morales-Sánchez, Alanís-García y Ramírez-Moreno, 2017).

Los embutidos son derivados cárnicos que se caracterizan por estar hechos de una mezcla de carne, grasa de cerdo, vísceras, especias entre otros. Esta mezcla se moldea en forma de masa y se introduce en una envoltura, ya sea natural o

artificial con el objetivo de darle forma, aumentar su consistencia y permitir que puedan ser sometido a tratamientos posteriores como ahumado, salado, fermentado, curado o cocción. El embutido tipo cervecero es un alimento muy apetecido debido a su sabor ahumado y a sus características organolépticas lo que permite tener un producto final seguro y beneficioso para los consumidores (Yashima y Ogawa, 2023).

Según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 774: 2006, los productos cárnicos son los productos elaborados a base de carne y/o despojos comestibles provenientes de animales de abasto los cuales se clasifican de acuerdo con dos criterios (NTE INEN 774: 2006):

a) Según su presentación

- Embutidos (salchichas, mortadela, chorizo, morcilla, paté, salami y otros)
- No embutidos (tocino, jamón, chuletas y otros)
- Envasado en recipientes herméticos

b) Según su proceso

- Cocidos
- Crudos
- Madurados
- Curados
- Ahumados
- En envases herméticamente sellados

En la producción de embutidos, se dispone de una amplia selección de ingredientes, así como de un proceso para obtenerlos. La variedad de ingredientes es enorme, se ha logrado clasificar en categorías según los procesos

de producción que han experimentado, detallaremos los más importantes: crudos, escaldados y ahumados, siendo los más utilizados a su vez (INEN 1338; 2012).

2.2.3.1. Embutidos crudos.

Los embutidos crudos se crean utilizando trozos de carnes crudo de cerdo o de vaca junto con tejido graso desmenuzado. Esta mezcla se sazona con especias y otros ingredientes, y se deja curar durante un periodo específico. Después de un tiempo determinado, el producto adquiere su textura y aroma característicos (INEN 1338; 2012).

La elaboración de embutidos crudos requiere una amplia experiencia. La complejidad radica en el proceso de elaboración, ya que deben tener en cuenta diferentes factores:

- La calidad de la carne, los ingredientes y las especias utilizadas
- La composición bacteriana de los ingredientes iniciales y el desarrollo posterior de los microorganismos.
- La temperatura

2.2.3.2. Embutidos escaldados.

Los embutidos escaldados son productos hechos de carne cruda y grasa finamente picada, mezclada con agua, sales y condimentos. Mediante tratamiento térmico, se coagulan y adquieren una consistencia sólida que se mantienen incluso al ser calentados nuevamente. Un embutido escaldado de calidad no debe mostrar una separación clara entre la carne y la grasa; la carne debe de tener buena consistencia, un aspecto atractivo al cortarla, buen aroma, un color rojo intenso y estable. Uno de los componentes más importantes para alcanzar los criterios de calidad es la carne magra del embutido escaldado, que consiste en proteína muscular fibrilar responsable de retener el agua y la mioglobina

presente en la carne el cual es el responsable del color rojo y su estabilidad, otros componentes del embutido escaldado como la grasa, hielo, aditivos entre otros también tienen un gran impacto en la calidad y las características adecuadas de los productos finales (Luis, Lourdes, Pérez y Martínéz, 2017).

2.2.3.3. Embutidos ahumados.

El chorizo ahumado es un embutido tradicionalmente consumido en diversas culturas culinarias alrededor del mundo. Se caracteriza por su sabor intenso y distintivo, el cual se logra gracias al proceso de ahumado que se somete. Este proceso no solo mejora el sabor del chorizo, sino que también contribuye a su conservación lo que garantiza la seguridad al consumidor. El humo generado a través de la lenta combustión del aserrín derivado de maderas duras desempeña varias funciones. En primer lugar, actúa como inhibidor del crecimiento de microorganismos, ralentiza la oxidación de las grasas y proporciona aroma y sabor a las carnes curadas (Chicaiza, 2015).

2.2.4. Chorizo cervecero.

El chorizo cervecero es un tipo de embutido que se elabora principalmente con carne de cerdo y de res, también se le añade especias y otros condimentos y se presenta en trozos atados de aproximadamente 8 cm de largo y hasta 3 de diámetro. Antes de ser consumido, el chorizo se somete a un proceso de deshidratación parcial para su ahumado o secado. Es un producto ampliamente conocido tanto como a nivel local como nacional, y su elaboración artesanal no requiere de maquinarias costosa o sofisticada. El chorizo cervecero se embute sea tripa natural o artificial este embutido se caracteriza por tener grados de cerveza en cantidades normales adecuada para ser consumido por las personas (Yashima y Ogawa, 2023).

El salchichón cervecero es un embutido escaldado y ahumado que se distingue por la inclusión de trozos de carne y la mezcla, junto con aditivos permitidos. Luego se introduce en una envoltura artificial con una textura semifina, que es su característica principal perceptible al tacto, de tal manera que se recomienda refrigerar y vender estos embutidos frescos, pues muchos productores y vendedores tienen dificultades para mantener la cadena de frío de manera efectiva. Por lo tanto, durante su comercialización estos productos pueden estar expuestos a temperaturas no controladas durante periodo que varían, ya que van desde un día hasta algunas semanas. Durante este tiempo es posible que ocurra la fermentación y secado en el producto (Tirado, Acevedo y Montero, 2016).

Existe un alto contenido de fosfatos y nitritos en muchos alimentos cárnicos procesados. Varios países han implementado programas nacionales para reducir significativamente estos componentes en los alimentos procesados, para promover una disminución de aditivos y utilizar productos vegetales. Los fosfatos son ampliamente utilizados en productos cárnicos debido a sus múltiples funciones, que incluye la retención de agua, prevención de la rancidez oxidativas, estabilización de las emulsiones de carne, la mejora de la jugosidad, el desarrollo del color y el sabor, así como la estabilización de los productos cárnicos elaborados y la mejora de la firmeza (Tirado *et al.*, 2016).

2.2.4.1. Información de los ingredientes.

Los ingredientes presentados a continuación serán enfocados a la elaboración del embutido tipo cervecero, cuál es su aplicación y para qué sirven.

- **Carne:** La carne se refiere al tejido muscular de los animales utilizado como alimento. Al seleccionar la carne, se consideran características como el olor y el estado, asegurando que este provenga de animales

sanos y evitando el estrés del animal al momento de su sacrificio para prevenir cambios en el pH. Para la elaboración del embutido tipo cervecero se utilizará carne de res y carne de cerdo (FAO, 2017).

- **Grasa:** La grasa utilizada para la elaboración del embutido tipo cervecero es la grasa del tocino, que se obtiene de la panceta del cerdo. La grasa de tocino aporta sabor y jugosidad a las salchichas cervecera lo que las hace especialmente deliciosas (FAO, 2017).
- **Agua:** El agua es un componente fundamental en los alimentos, y específicamente en la carne, ya que representa entre 65 % y un 80 % de su peso (FAO, 2017).
- **Sal:** La sal es un componente esencial en la producción de embutidos, ya que ayuda a controlar el crecimiento de bacterias y contribuye a la textura y el sabor característicos de los productos. La cantidad de sal varia, pero puede oscilar entre el 2 % y el 3 % del peso total de la carne utilizada en la elaboración del producto (FAO, 2017).
- **Espicias y condimentos:** Sustancias aromáticas de origen vegetal agregados a los embutidos con el fin de adicionarles olores característicos que modifiquen y mejoren el aroma del embutido (FAO, 2017).
- **Tripas naturales o sintéticas:** Su función principal es proporcionar una envoltura segura y conveniente para contener la carne picada o mezclas de carne y otros ingredientes utilizados para la elaboración del embutido tipo cervecero (FAO, 2017).

2.2.5. Microbiología de los productos cárnicos.

Para prevenir o al menos retrasar el deterioro de los productos cárnicos, hay que reducir la cantidad de microorganismos que acceden al interior o a la superficie del alimento. Por las condiciones de elaboración, es inevitable que los alimentos se contaminen con microorganismos. Por lo tanto, es crucial asegurarse de que los microorganismos presentes se reproduzcan lo más lentamente posible o incluso no puedan hacerlo. Por lo general, se considera que el deterioro ha comenzado cuando hay 10 millones de bacterias por centímetro cuadrado o por gramo, con esta cantidad comienza el producto a sufrir alteraciones de color (Chen *et al.*, 2023).

Algunos factores que afectan la calidad microbiana de los productos cárnicos crudos refrigerados, comúnmente son: el tipo y la cantidad de bacterias psicotróficas presentes, la cuales causan daños directos; el pH natural de la carne, el cual puede alterarse debido a el estrés sufrido por el animal antes de su muerte o sacrificio; la temperatura de almacenamiento; la cual debe controlarse para evitar variaciones que favorezcan la proliferación de bacterias y microorganismos que pueda afectar la calidad de la carne; y el tipo de envase, en particular aquellos con atmósfera de dióxido de carbono en comparación con los envases que permiten la entrada de oxígeno. La presencia de pequeñas cantidades de oxígeno puede influir en la velocidad de deterioro de los productos cárnicos envasados al vacío (INEN 1338; 2012).

2.2.5.1. Aerobios mesófilos.

La carne fresca puede contaminarse durante el sacrificio, ya sea por agente patógenos durante el sacrificio o por utensilios que penetren el tejido muscular. Los productos de origen vacuno pueden contaminarse durante varias etapas del

procesamiento debido a que el ganado vacuno es un reservorio natural de microbiota intestinal y patógenos que pueden afectar a los humanos. Los *aerobios mesófilos* pueden crecer en un rango de temperatura de 10 a 37 °C, pero también pueden sobrevivir a temperaturas más bajas. Por lo tanto, los efectos letales de la refrigeración y la congelación dependen del tipo de microorganismo, las condiciones de almacenamiento y el tiempo (Watanabe *et al.*, 2024).

Estas bacterias, mohos y levaduras tienen la capacidad de crecer a una temperatura de 30 °C bajo condiciones establecidas. Al realizar este recuento, se considera la suma total de los microorganismos presentes sin especificar los tipos exactos. Este recuento refleja la calidad higiénica de un alimento, así como las condiciones de manipulación y la higiene de materia prima utilizada (Xiao *et al.*, 2023).

Los *aerobios mesófilos* son microorganismos que requieren oxígeno para su crecimiento y se desarrollan mejor a temperaturas moderadas. Los *aerobios mesófilos* son una de las categorías de microorganismos que pueden estar presentes y su presencia es un indicador común de la calidad microbiológica de los productos cárnicos. Durante el proceso de elaboración y almacenamiento de los embutidos los *aerobios mesófilos* pueden colonizar la superficie de los productos. La presencia de *aerobios mesófilos* en los embutidos puede ser resultado de una contaminación inicial de las materias primas utilizadas en la elaboración, la falta de higiene durante el proceso de fabricación, la contaminación cruzada o las condiciones inadecuadas de almacenamiento (Zea y Selgrad, 2004).

2.3 Marco legal

Para la elaboración de embutidos crudos, ahumados y específicamente del chorizo las normas NTE INEN (Anexo 2, figura 3) requeridas son:

NTE INEN 1338: 2012

Tabla 2. Requisitos microbiológicos del embutido

Requisito	N	c	m	M	Método de ensayo
<i>Aerobios mesófilos</i>	5	1	$5,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN1529-5

Requisitos microbiológicos *aerobios mesófilos*.
INEN 1338, 2012

En la Tabla 2 se puede observar los límites establecidos para carne y productos cárnicos, específicamente embutidos en la norma NTE INEN 1338; 2012. Un producto cárnico procesado se refiere a un producto hecho con carne, grasa, vísceras u otros subproductos de origen animal comestibles, que se someten a procesos tecnológicos apropiados. Se considera que el producto cárnico está terminado cuando ha pasado por todas las etapas de procesamiento y listo para su venta. La materia prima refrigerada utilizada para la fabricación no debe tener una temperatura superior a 7°C. Las envolturas adecuadas para su uso son tripas naturales sanas que han sido debidamente higienizadas o envolturas artificiales aprobada por la autoridad competente.

Requisitos específicos

- El producto no debe presentar alteraciones de deterioro causados por microorganismos u otros agentes biológicos, debe estar libre de materias extrañas.
- Se permite el uso de sal, especias, humo líquido, humo en polvo o humo natural.

- El producto no debe contener residuos de plaguicidas, contaminantes y residuos de medicamentos veterinarios.
- Los requisitos organolépticos deben ser característicos para cada tipo de producto durante su tiempo de vida útil.

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación.

En este tema se consideraron tres tipos de investigación.

- Investigación documental: Se utilizó fuentes bibliográficas tales como: revistas científicas, Google académico, artículos científicos, libros, enciclopedias, entre otros que sustenten teóricamente la investigación.
- Investigación de laboratorio: El estudio pretendía evaluar de la actividad antimicrobiana del extracto de hongo shiitake, así como el análisis del pH y las propiedades sensoriales del producto final obtenido.
- Investigación experimental: Se manipuló diferentes variables a investigar y determinar cuál de las combinaciones y tratamientos son las apropiadas y las más factibles para la elaboración de un embutido tipo cervecero usando el extracto del hongo shiitake como agente antimicrobiano.

El nivel de conocimiento del proyecto fue descriptivo, debido a que se evaluó si la adición del extracto del hongo shiitake tuvo un efecto antimicrobiano significativo, reduciendo la carga microbiana del embutido y mejorando su calidad.

3.1.2. Diseño de investigación.

El diseño investigación del presente trabajo consistió en un diseño experimental, se basó de manera cuantitativa y cualitativa, se obtuvo el extracto del hongo shiitake, se evaluó el pH y se determinó la actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *aerobios mesófilos* en la elaboración de un embutido tipo cervecero.

3.2 Metodología

3.2.1. Variables.

3.2.1.1. Variable independiente.

- Concentración del extracto del hongo shiitake en cantidades diferentes
- Contenido de harina de trigo en la formulación
- Tiempo de almacenamiento (día 0, 4 y 8)

3.2.1.2. Variable dependiente.

- Actividad antimicrobiana de los extractos
- pH de los tratamientos
- Calidad sensorial (color, olor y sabor)

3.2.2. Tratamientos.

Para el presente trabajo se realizó cuatro tratamientos y tres repeticiones incluido el tratamiento testigo, con la variable independiente mencionada. Los valores considerados en cuenta se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Formulación para la elaboración del embutido

Ingredientes	Testigo		Tratamiento 1 (50%)		Tratamiento 2 (60%)		Tratamiento 3 (70%)	
	g	%	g	%	g	%	g	%
Extracto del hongo shiitake	0	0%	4.44	0.50%	8.88	1%	13.31	1.50%
Carne de res	266.25	30%	266.25	30%	266.25	30%	266.25	30%
Carne de cerdo	266.25	30%	266.25	30%	266.25	30%	266.25	30%
Tocino de cerdo	177.5	20%	177.5	20%	177.5	20%	177.5	20%
Harina de trigo	159.76	18%	155.32	17.50%	150.88	17%	150.88	16,5%
Orégano en polvo	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%
Comino	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%
Ajo en polvo	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%
Pimienta	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%
Pimentón	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%	0.89	0.10%
Sal (Cloruro de sodio)	6.21	0.70%	6.21	0.70%	6.21	0.70%	1.78	0.70%
Hielo	4.44	0.50%	4.44	0.50%	4.44	0.50%	4.44	0.50%
Fécula de almidón	2.66	0.30%	2.66	0.30%	2.66	0.30%	2.66	0.30%
Total	887.52	100%	887.52	100%	887.52	100%	887.52	100%

Ingredientes para la formulación del embutido.

Nieto, 2024

3.2.3. Diseño experimental.

Se empleó un diseño completamente al azar compuesto por cuatro tratamientos y tres repeticiones para las variables de laboratorio. Para el análisis sensorial se empleó una prueba hedónica de cinco puntos conformada por cuatro tratamientos y 100 panelistas no entrenados.

3.2.4. Recolección de datos.

Los datos recolectados se realizaron mediante un panel sensorial de 100 personas no entrenadas para conseguir un nivel objetivo con significación estadística, las cuales fueron estudiantes de 23 a 25 años elegidos de manera aleatoria y se eligieron productos con mayor aceptabilidad donde se utilizó como herramienta una tabla hedónica evaluando 3 ítems, para medir los aspectos a evaluar como: color, olor y sabor.

3.2.4.1. Recursos.

El trabajo de investigación se realizó basándose en estudios previos, artículos, revistas científicas, tesis y estudios similares encontrados. También se empleó diversos recursos especificados a continuación:

3.2.4.1.1. Indumentaria.

- Cofia
- Mandil
- Guantes quirúrgicos
- Mascarilla

3.2.4.1.2. Insumos.

- Carne (res y cerdo)
- Ajo en polvo
- Tocino de cerdo
- Pimentón
- Hielo picado

- Sal común (Cloruro de sodio)
- Pimienta
- Comino
- Fécula de almidón
- Orégano en polvo
- Harina de trigo
- Extracto del hongo shiitake
- Harina de trigo

3.2.4.1.3. Materiales y equipos para su elaboración.

- Tabla de picar
- Cuchillo de acero inoxidable
- Tripa sintética
- Cocina industrial a gas de acero inoxidable (Marca: Dimetal) (Modelo: IR-6)
- Olla de acero
- Mesas de acero
- Hilo de algodón
- Balanza electrónica calibrada en gr (Marca: Labolan) (Modelo: LT-D500)
- Termómetro digital de sonda larga (10°C a 200°C)
- Cutter (5kg) Marca: (Dimetal) (Modelo: CU0118)
- Embutidor (3,4 Kg/min.) (Marca: Torrey) (Modelo: ET-25)
- Refrigerador (Marca: Indurama) (Modelo: RI-480 CR)

3.2.4.1.4. Materiales y equipos para los análisis.

➤ **Análisis de pH**

- Mortero
- Medidor de pH digital (HACCP)
- Vaso de precipitación 250
- Placas de Petri

➤ **Análisis microbiológico (aerobios mesófilos)**

- Contador de colonias
- Mechero de alcohol
- Placas petrifilm 3M
- Autoclave vertical 24 L
- Pipetas automáticas de 10 a 100 μL

3.2.5. Métodos y técnicas.

Los análisis sensorial y físico químicos (pH), se realizaron en los laboratorios de la Universidad Agraria del Ecuador juntos con los análisis microbiológicos (*aerobios mesófilos*). Se tomó de referencia aerobios mesófilos debido a que ayudará a garantizar la calidad del producto, mejorará los indicadores de calidad e higiene entre otros. Se utilizó el método estadístico como el análisis de varianza Anova para poder tabular y analizar los datos resultantes. Los análisis que se realizaron se detallan a continuación mediante la Tabla 4.

Tabla 4. Análisis general de la elaboración del embutido tipo cervecero

Análisis fisicoquímicos	Análisis microbiológicos
pH	<i>Aerobios mesófilos</i>

Análisis al embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake.
Nieto, 2024

3.2.5.1. Diagrama de flujo del procedimiento general para la extracción del hongo shiitake (*Lentinula edodes*) por maceración.

En la Figura 1 se observa el diagrama de flujo que describe los procesos de la extracción del shiitake por maceración.

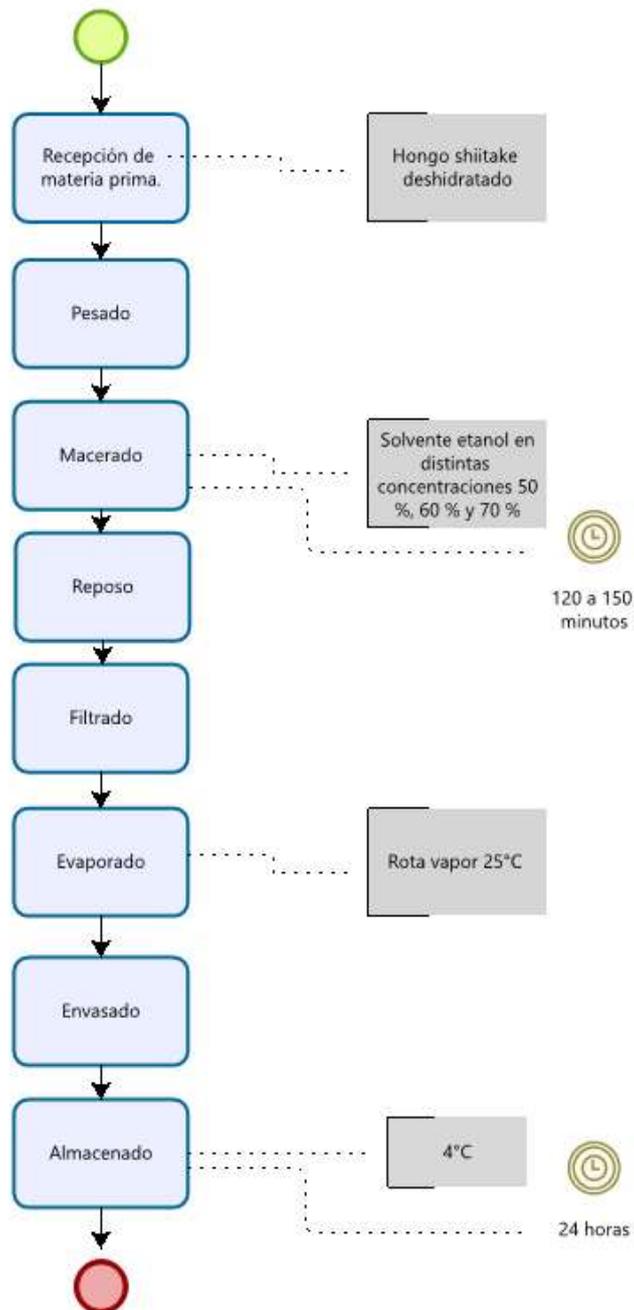


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de extracción de shiitake (*Lentinula edodes*) por maceración
Nieto, 2024

3.2.5.2. Descripción del diagrama de flujo de la extracción del hongo shiitake (*Lentinula edodes*).

Recepción de la muestra: Se recibió el shiitake deshidratado, observando que el producto se encuentre en buenas condiciones y cumpla con todos los estándares de calidad (Libre de mohos y perfecto estado de madurez).

Pesado: Se pesó 30 gramos de muestra pulverizada.

Macerado: La muestra después del pesado se procedió a macerarse con solvente etanol en 3 concentraciones 50%, 60% y 70% durante 120 a 150 minutos (Van Ba *et al.*, 2017).

Reposo: La muestra una vez macerada se la colocó en un vaso de precipitado sobre una plancha calefactora a temperatura ambiente con agitación constante y con el uso de un agitador magnético para lograr una mayor interacción entre la muestra y el solvente.

Filtrado: Se recogió el sobrenadante y se procedió a filtrar con un papel filtro corrugado para la obtención del extracto puro y libre de residuos.

Evaporado: Se procedió a eliminar el exceso de solvente a través de un rota vapor a una temperatura de 25 °C para poder obtener el extracto del hongo shiitake.

Envasado: Una vez obtenido el extracto se envaso en un frasco de vidrio color ámbar para evitar que esta sufra alteraciones o pérdidas.

Almacenamiento: Se almacenó a temperatura ambiente por 24 horas a 4 °C y envuelto en papel aluminio para proceder a utilizarlo en la elaboración del embutido tipo cervecero.

3.2.5.3. Diagrama de flujo de la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake (*Lentinula edodes*).

En la Figura 2 se observa el diagrama de flujo que describe la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake.

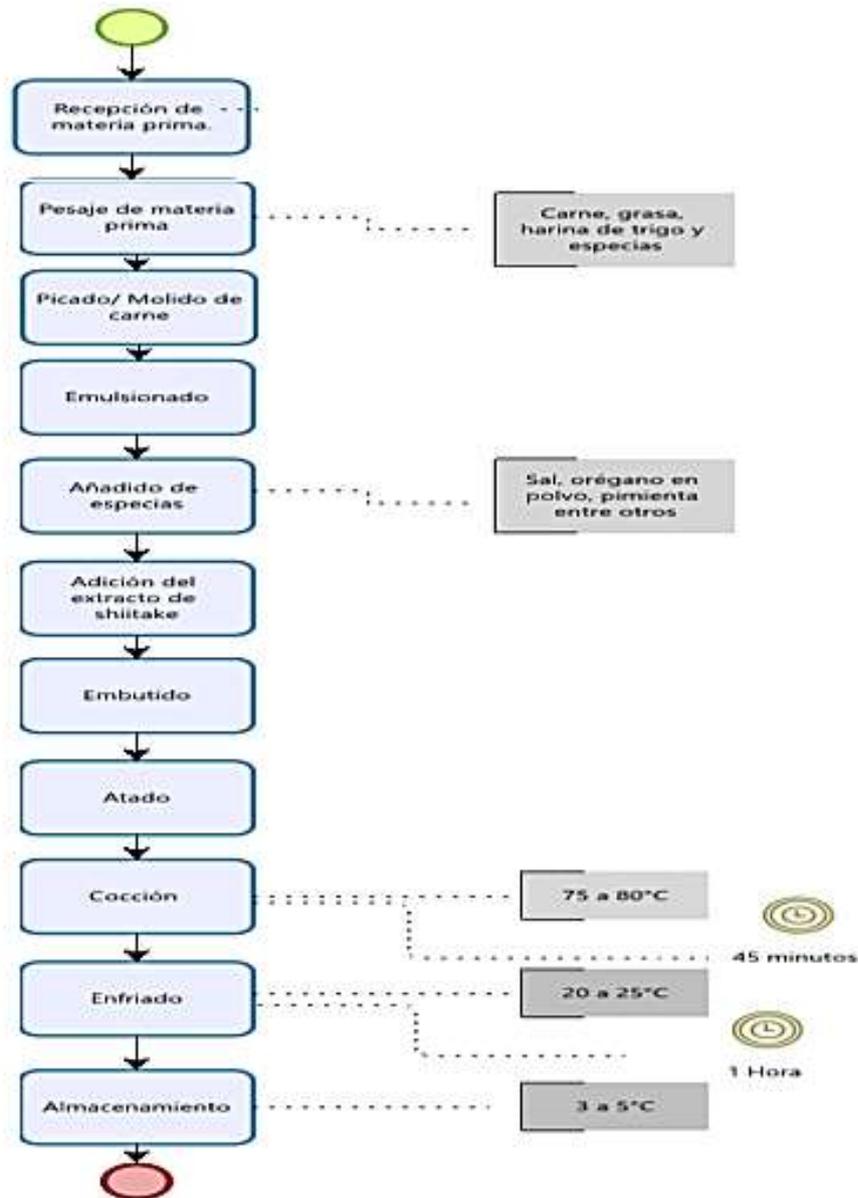


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de la elaboración de un embutido cervecero con extracto del hongo shiitake (*Lentinula edodes*) Nieto, 2024

3.2.5.4. Descripción del diagrama de flujo de la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake (*Lentinula edodes*).

Recepción de materia prima: Se recibió la carne, aditivos, especias, extracto de hongo shiitake e insumos, asegurando la verificación de su estado óptimo para garantizar la inocuidad del producto final considerando los estándares de calidad como: frescura, tamaño, color, forma, humedad, temperatura etc.

Pesaje de materia prima: Pese los ingredientes las carnes, el tocino, la harina de trigo, el orégano, el comino, la pimienta entre otros en porciones exactas según cada tratamiento.

Picado/ Molido de la carne: Se inició el proceso de despiece y molienda de la carne como parte del procedimiento para la fabricación del embutido.

Emulsionado: Se llevó a cabo la emulsión en un equipo de corte (cutter) equipado con cuchillas que fragmentan la carne en partículas finas, con el fin de obtener una mezcla homogénea.

Añadido de especias: Una vez pesadas las especias se las agregó con sus respectivas cantidades: Pimienta negra (0.89 g), ajo (0.89 g), orégano en polvo (0.89 g), comino (0.89 g) y pimentón (0.89 g). Las especias no difieren entre tratamientos.

Adición de sustancias: Durante esta fase, se añadió la cantidad precisa del extracto de hongo shiitake de acuerdo con las especificaciones establecidas.

Embutido: Tras la emulsión de la mezcla, se avanzó al proceso de embutido mediante la introducción de esta en el cilindro de la embutidora. Se conectó la tripa a la boquilla y se procedió al llenado. La tripa utilizada fue de calibre 36 mm. Al girar la manivela de la embutidora, el pistón descendió, impulsando la pasta a través de la boquilla y eliminando completamente el aire.

Atado: Cada embutido fue asegurado en ambos extremos, con hilo de nylon o algodón. La distancia entre cada nudo se ajustó según las necesidades, típicamente entre 7 y 10 cm.

Cocción: Los productos cárnicos se introdujeron en un horno ahumador, mantenido a una temperatura de 75 a 80 °C, durante aproximadamente 45 minutos, permitiendo que absorban tanto el aroma como el color del proceso de ahumado.

Enfriado: El enfriamiento se llevó a cabo mediante inmersión en agua a una temperatura controlada de entre 20 y 25 °C, manteniendo esta condición durante una hora.

Almacenamiento: El producto se mantuvo a una temperatura controlada de refrigeración entre 3 y 5 °C con humedad relativa 75 – 80 %.

3.2.5.5. Determinación del análisis físico químico (pH).

La determinación del pH en el embutido se en baso a la norma NTE INEN 783. 1985-05 la cual se determinó pesando 10 gramos de la muestra en un vaso de precipitación de 250mL, para posterior colocar 90mL de agua destilada, agitar y poner a macerar por 1 hora, posterior introducimos el electrodo del potenciómetro previamente calibrado, la muestra debe estar 20 ± 2 °C para poder realizar la respectiva lectura, se observó si el pH con el pasar de los días varia en ese lapso de tiempo o se mantuvo. El valor obtenido del pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una muestra, mientras que la acidez titulable es una medida de la cantidad de ácido presente.

3.2.5.6 **Determinación de aerobios mesófilos mediante análisis microbiológico.**

La determinación de *aerobios mesófilos* se realizó según la NORMA NTE INEN 1338: 2012, este método se basa en la certeza de que un microorganismo vital presente en una muestra de alimento, al ser inoculado en un medio nutritivo sólido se reprodujo formando una colonia individual visible, se realizó el análisis microbiológico en 4 tratamientos de 3 repeticiones incluyendo el testigo, se le agregó distintas concentraciones de extracto como 50, 60 y 70 empezando desde el día 0, 4 y 8 de esta manera se observó si la actividad antimicrobiana se eleva o se mantiene (Tabla 5). Para que el conteo de las colonias sea posible se hacen diluciones decimales de la suspensión inicial de la muestra y se inocula el medio nutritivo del cultivo. Se incubo el inóculo a 30 °C por 72 horas y luego se cuenta el número de colonias formadas. El conteo sirve para calcular la cantidad de microorganismos por gramo o centímetro cúbico de alimento.

Tabla 5. Frecuencia en la que se realizó los análisis al embutido

Análisis	Días		
<i>Aerobios mesófilos</i>	Día 0	Día 4	Día 8
Ph	Día 0	Día 4	Día 8

Tabla de frecuencia en la que se realizó los análisis
Nieto, 2024

3.1.3. Análisis estadístico.

En la Tabla 6 se presentaron los datos recolectados del conteo de *aerobios mesófilos* por cada tratamiento.

Tabla 6. Formato de resultados

Análisis	T1	T2	T3	T4	Límites	Observaciones
<i>Aerobios mesófilos</i>					5,0x10 ⁵ UFC/g	

Tabla de comparación de resultados de los 4 tratamientos.
Nieto, 2024

En la elaboración del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake (*Lentinula edodes*) utilizado como agente antimicrobiano los datos obtenidos se tabuló en el programa Infostat donde se determinó si los datos obtenidos cumplen con las supuestas variaciones, realizando un análisis de varianza Anova (ver la Tabla 7) con la comparación de medias el test de Tukey al 5% de significancia y prueba de Dunn – Bonferroni.

Tabla 7. Recolección de datos-Tabla ANOVA para DCA para los análisis de laboratorio

Fuente de variación	Grado de libertad
Error Experimental (N-t)	12-4=8
Tratamientos (T-1)	4-1=3
Total (n-1)	12-1=11

Esquema de diseño experimental modelo ANOVA.
Nieto, 2024

H₀: Ninguna de las combinaciones de los extractos de shiitake tiene actividad antimicrobiana en la elaboración de un embutido tipo cervecero.

H₁: Al menos una de las combinaciones de los extractos de shiitake tiene actividad antimicrobiana en la elaboración de un embutido tipo cervecero.

Se elaboró una prueba de aceptabilidad representado por un panel no entrenado para definir el tratamiento de mayor aceptación, aplicando diseño experimental de completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos, en el cual las

variables en estudio fueron las propiedades organolépticas (color, olor y sabor) utilizando 100 panelistas no entrenados. La comparación de las medidas resultantes se realizó por medio del análisis de varianza al 5 % de Dunn - Bonferroni. Cada tratamiento se sometió en análisis microbiológicos (*aerobios mesófilos*), así como también el pH.

En la Tabla 8 se detalla el esquema de varianza para el análisis sensorial correspondiente.

Tabla 8. Esquema del análisis de varianza para el análisis sensorial

Fuente de variación	Grados de libertad (n-1)
Tratamientos	$(4-1) = 3$
Error	$(400-4) = 396$
Total	$(4*100-1) = 399$

Esquema de análisis de varianza para el análisis sensorial en ANOVA.
Nieto, 2024

Prueba de hipótesis

H₀: Ninguna combinación del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake es diferente al resto de combinaciones.

H₁: Al menos una combinación del embutido tipo cervecero con extracto del hongo shiitake es diferente sensorialmente al resto de combinaciones.

4. Resultados

4.1 Obtención del extracto del hongo shiitake por el método de maceración empleando el solvente etanol en distintas concentraciones

Se obtuvo el extracto del hongo shiitake mediante el método de maceración en donde se concentró a través del rotavapor, para ello se utilizó 3 Kg de hongo shiitake fresco (Anexo 3, figura 4 - 5) el cual pasó por un proceso de deshidratación a una temperatura de 57 °C en un lapso de 10 horas (Anexo 3, Figura 6 – 7), una vez deshidratado el hongo se procesó moliendo el producto donde se obtuvieron 200 g de harina del hongo shiitake (Anexo 3, Figura 8 – 9). Una vez obtenida la harina se realizó una dilución de agua destilada y etanol para obtener concentraciones del 50 %, 60 % y 70 % (Anexo 3, Figura 10 – 11) (Ver Tabla 9) los cuales se colocaron en tres diferentes frascos, en cada frasco se colocaron 900ml de cada dilución y 30 g de la harina de hongo shiitake (Anexo 3, Figura 12). A mayor concentración de los extractos, se obtuvieron mayores cantidades de mL.

En la Tabla 9, se puede apreciar los volúmenes y el gramaje utilizado para el proceso de maceración de los extractos del hongo shiitake. Los resultados de los concentrados luego del proceso de maceración y concentración en rotavapor (Anexo 3, Figura 13 - 19) fueron mostrados en la Tabla 9.

Tabla 9. Cantidades empleadas en la maceración del hongo.

Concentración (Etanol)	Hongo shiitake pulverizado	Etanol	Agua destilada	Extracto Obtenido
50%	30g	464 mL	436 mL	55mL
60%	30g	557 mL	434 mL	63mL
70%	30g	649 mL	251 mL	72.7mL

Concentraciones que se utilizó para la obtención del extracto de shiitake.

Nieto, 2024

Los extractos fueron colocados en el embutido (Anexo 3, Figura 13 – 26) según la formulación indicada en la Tabla 3, capítulo 3.

4.2 Determinación del pH y la actividad antimicrobiana del extracto del hongo shiitake frente a microorganismos (*aerobios mesófilos*) en la elaboración de un embutido tipo cervecero

Para la determinación de pH (Anexo 4, Figura 27 – 29) y la actividad antimicrobiana del extracto de hongo shiitake en el embutido tipo cervecero (Anexo 4, Figura 32 – 39) se realizaron cuatro formulaciones con diferentes concentraciones del extracto etanólico de shiitake. Estos extractos se encontraban al 0 %, 0.5 % (extracto al 50 %), 1 % (extracto al 60 %) y 1.5 % (extracto al 70%). Obtenidos los 4 tratamientos establecidos con sus respectivas formulaciones se midió de pH en los días estimados, también se realizó el análisis microbiológico frente a *aerobios mesófilos* en el día 0, 4 y 8 de almacenamiento. La evaluación en función de los días se tomó de referencia del trabajo realizado por Calandra, Noguera y Perez (2023) en base al potencial de acción por horas que tienen los extractos naturales y el estudio de Castillo (2017) sobre el efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada.

4.2.1. Determinación de pH.

De los datos de pH que se recolectaron se determinó la media y la desviación estándar de cada día (Anexo 4, Figura 30 - 31).

Para evaluar si existían diferencias significativas entre las medias de los tratamientos o si hubo cambios significativos a lo largo del tiempo, se realizó el análisis estadístico por comparaciones de Tukey utilizando los datos de pH por tratamiento y día de recolección.

La Tabla 10 presenta las medias de pH para cuatro tratamientos (T0, T1, T2, T3) a lo largo de tres días. En el Día 0, no hay diferencias significativas entre las medias de pH, que oscilan entre 6.27 y 6.34 (letra "a"). Sin embargo, en el Día 4, T0 muestra una disminución significativa en el pH (5.21, letra "b"), mientras que T1 (6.20), T2 (6.15) y T3 (6.25) mantienen niveles más estables (letra "a"). Para el Día 8, T0 experimenta una marcada disminución en el pH (4.25, letra "c"), diferenciándose de T1 (5.27) y T2 (5.31) con aumentos moderados (letra "b"), y T3 con un pH de 6.10 (letra "b"). La desviación estándar de los tratamientos a lo largo de los días varía de 0.14 – 0.05.

Tabla 10. Valores del pH en la elaboración del embutido en los días 0,4 y 8

	T0	T1	T2	T3
Día 0	6.31 ^a	6.32 ^a	6.27 ^a	6.34 ^a
Día 4	5.21 ^b	6.2 ^a	6.15 ^a	6.25 ^a
Día 8	4.25 ^c	5.27 ^b	5.31 ^b	6.10 ^b
D.E.	0.14	0.05	0.06	0.08

Prueba de Tukey con Media y desviación estándar de datos de pH de los días 0, 4 y 8 para todos los tratamientos.

Nieto, 2024

4.2.2. Resultados microbiológicos de *aerobios mesófilos*

Los resultados del análisis microbiológico de *aerobios mesófilos* (Anexo 3, Figura 32 - 39) fueron recolectados durante 3 días (día 0, 4 y 8). Estos datos fueron tabulados (Anexo 3, Tabla 18 – 21) y luego de ello se sacó promedio y desviación estándar de cada tratamiento según el día en el que se realizó el muestro.

La Tabla 11 (Anexo 3, Figura 40 - 41), representa los resultados del crecimiento promedio de *aerobios mesófilos* en Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) para los cuatro tratamientos (T0, T1, T2, T3) en tres momentos diferentes (Día 0, Día 4, Día 8). La media indica la cantidad típica de UFC/g en

cada tratamiento y día, mientras que la D.E. (Desviación Estándar) refleja cuánto varían individualmente los valores respecto a la media. En el Día 0, la cantidad promedio de UFC/g para el tratamiento T0 es de 4.51×10^4 , para T1 es de 3.02×10^3 , para T2 es de 2.48×10^4 , y para T3 es de 2.39×10^3 . En el Día 4, la concentración media para T0 aumenta a 5.47×10^5 , para T1 es de 3.96×10^4 , para T2 es de 2.98×10^3 , y para T3 es de 3.91×10^4 . En el Día 8, la cantidad promedio para T0 se incrementa significativamente a 7.21×10^6 , para T1 es de 4.34×10^5 , para T2 es de 4.04×10^4 , y para T3 aumenta a 4.90×10^5 .

Tabla 11. Crecimiento UFC por tratamiento y por día

	T0	T1	T2	T3	D.E.
Día 0	4.51×10^4 (UFC/g)	3.02×10^3 (UFC/g)	2.48×10^4 (UFC/g)	2.39×10^3 (UFC/g)	9.25×10^3 (UFC/g)
Día 4	5.47×10^5 (UFC/g)	3.96×10^4 (UFC/g)	2.98×10^3 (UFC/g)	3.91×10^4 (UFC/g)	1.78×10^5 (UFC/g)
Día 8	7.21×10^6 (UFC/g)	4.34×10^5 (UFC/g)	4.04×10^4 (UFC/g)	4.90×10^5 (UFC/g)	1.20×10^6 (UFC/g)

Media y desviación estándar del crecimiento de *aerobios mesófilos* por tratamiento y por día.
Nieto, 2024

4.3 Comparación de los requisitos microbiológicos (*aerobios mesófilos*) del embutido según la norma NTE INEN 1330:2012

Una vez obtenido los datos de los análisis microbiológicos se comparó los resultados utilizando las medias de cada tratamiento por día frente a los requisitos otorgados por la norma NTE INEN 1330:2012 donde se observó que los datos detallados en el Anexo 3 (Tablas 19 – 22) cumplen con los requerimientos microbiológicos exigidos por la INEN.

En la Tabla 13, se observa que los tratamientos T0 (embutido sin extracto), T1 (embutido con extracto al 50 %), T2 (embutido con extracto al 60 %) y T3 (embutido con extracto al 70 %) para el día 0, no pasan los límites permisibles

con valores de $4,5 \times 10^4$ (UFC/g); $3,0 \times 10^2$ (UFC/g); $2,4 \times 10^3$ (UFC/g) y $4,6 \times 10^2$ (UFC/g) respectivamente cumplen con los límites permitidos, no obstante, es posible observar que para el día 4 y 8, el T0 ya no cumple con los límites permitidos con un valor de $5,4 \times 10^5$ en el día 4 y un valor de $7,2 \times 10^6$ para el día 8, mientras que T1, T2 y T3 con valores de $3,9 \times 10^3$; $2,9 \times 10^2$ y $3,4 \times 10^3$ respectivamente para el día 4 y valores de $4,3 \times 10^5$; $4,0 \times 10^4$ y $4,9 \times 10^4$ para el día 8, se mantenían dentro de los límites permitidos.

Tabla 12. Comparación de resultados análisis microbiológico con norma NTE INEN 1330:2012

Tratamiento	Día 0 (UFC/g)	Día 4 (UFC/g)	Día 8 (UFC/g)	Límites permisibles según NTE INEN 1330:2012
T0	$4,5 \times 10^4$	$5,4 \times 10^5$	$7,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^5$ UFC/g
T1	$3,0 \times 10^2$	$3,9 \times 10^3$	$4,3 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$ UFC/g
T2	$2,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^3$	$4,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^5$ UFC/g
T3	$4,6 \times 10^2$	$3,4 \times 10^3$	$4,9 \times 10^4$	$5,0 \times 10^5$ UFC/g

Comparación de resultados microbiológicos del estudio frente a la norma NTE INEN 1330:2012 para embutidos tipo cervecero.
Nieto, 2024

4.4 Evaluación de las características sensoriales del embutido tipo cervecero con extractos de shiitake

Para la evaluación de las características sensoriales (Anexo 5, Figura 43 - 46) del embutido tipo cervecero con extractos de hongo shiitake se usó una ficha técnica (Anexo 4, Figura 42) se tomaron en cuenta los cuatro tratamientos de modo que, se observó cuál de ellos (incluyendo el embutido tipo cervecero sin extracto) poseía las mejores propiedades organolépticas. Los parámetros evaluados fueron color, olor y sabor (Anexo 4, Tabla 22 – 25), y para determinar si existían diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las formulaciones comparadas, se realizó el análisis de comparaciones de Dunn-Bonferroni.

4.4.1 Resultados del parámetro color en los tratamientos.

Los resultados presentados en la Tabla 14 muestran el análisis estadístico del parámetro de color los cuatro tratamientos (T0, T1, T2, T3) en el embutido tipo cervecero con diferentes concentraciones de extracto de hongo shiitake (0 %, 50 %, 60 % y 70 %). Las medias de color para los tratamientos son 4.15 (me gusta), 3.99 (no me gusta, ni me disgusta cercano al me gusta), 4.01 (me gusta) y 4.06 (me gusta) respectivamente lo cual en la tabla hedónica “ME GUSTA” está representada como ME GUSTA. Según la Prueba de Dunn-Bonferroni, medias con la misma letra (a) no son estadísticamente diferentes ($p>0.05$). En consecuencia, no hay diferencias significativas en el parámetro de color entre los tratamientos, respaldado por un p-valor de 0.4477, lo que sugiere una homogeneidad en el aspecto colorimétrico de los embutidos evaluados (Anexo 4, Figura 47).

Tabla 13. Resultados de aceptación sensorial del parámetro color.

Tratamientos	Medias	D.E.
T0	4.15 ^{n.s.}	0.81
T1	3.99 ^{n.s.}	0.98
T2	4.00 ^{n.s.}	0.90
T3	4.06 ^{n.s.}	0.94

Prueba de Dunn-Bonferroni. Medias con una letra común (a) no son significativamente diferentes ($p>0.05$). T0 (embutido tipo cervecero sin extracto), T1 (embutido tipo cervecero con extracto al 50 %), T2 (embutido tipo cervecero con extracto al 60%) y T3 (embutido tipo cervecero con extracto al 70 %). p-valor: 0.4477.

Nieto, 2024

4.4.2 Resultados del parámetro olor en los tratamientos.

Los resultados obtenidos mediante el panel sensorial para el parámetro de olor fueron evaluados mediante el análisis de comparaciones de Dunn-Bonferroni (Anexo 4, Figura 48) el cual describe los siguientes resultados.

Los resultados presentados en la Tabla 15 representan el análisis estadístico del parámetro de olor para cuatro tratamientos (T0, T1, T2, T3) en embutidos tipo cervecero con diferentes concentraciones de extracto. Las medias de olor para los tratamientos son 4.21 (me gusta), 4.03 (me gusta), 4.21 (me gusta) y 4.25 (me gusta) respectivamente, y las letras (a) asociadas indican que, según la Prueba de Dunn-Bonferroni, medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($p>0.05$). En consecuencia, no se observan diferencias significativas en el parámetro de olor entre los tratamientos. El p-valor de 0.4477 respalda esta conclusión, sugiriendo que no hay variaciones significativas en el olor de los embutidos evaluados, reforzando la consistencia entre los diferentes tratamientos en este aspecto específico.

Tabla 14. Resultados de aceptación sensorial del parámetro olor.

Tratamientos	Medias	D.E.
T0	4.21 ^{n.s.}	0.74
T1	4.03 ^{n.s.}	0.93
T2	4.21 ^{n.s.}	0.81
T3	4.25 ^{n.s.}	0.87

Prueba de Dunn-Bonferroni Medias con una letra común (a) no son significativamente diferentes ($p>0.05$). T0 (embutido tipo cervecero sin extracto), T1 (embutido tipo cervecero con extracto al 50 %), T2 (embutido tipo cervecero con extracto al 60%) y T3 (embutido tipo cervecero con extracto al 70 %). p-valor: 0.2492.

Nieto, 2024

4.4.3 Resultados del parámetro sabor en los tratamientos.

Los resultados obtenidos mediante el panel sensorial para el parámetro de sabor fueron evaluados mediante el análisis de comparaciones de Dunn-Bonferroni (Anexo 4, Figura 49) el cual describe los siguientes resultados.

Los datos presentados en la Tabla 16 reflejan el análisis estadístico del parámetro de sabor para cuatro tratamientos (T0, T1, T2, T3) en embutidos tipo cervecero con diferentes concentraciones de extracto. Las medias de sabor para

los tratamientos son 4.33 (me gusta), 4.2 (me gusta), 4.38 (me gusta) y 4.36 (me gusta) respectivamente. La Prueba de Dunn-Bonferroni indica que medias con la misma letra no difieren significativamente ($p>0.05$). En consecuencia, no se observan diferencias estadísticas significativas en el parámetro de sabor entre los tratamientos evaluados. El p-valor de 0.4477 respalda esta conclusión, indicando que no hay variaciones significativas en el sabor de los embutidos, lo que sugiere uniformidad en la percepción del sabor independientemente de las concentraciones de extracto utilizadas en los tratamientos.

Tabla 15. Resultados de aceptación sensorial del parámetro sabor

Tratamientos	Medias	D.E.
T0	4.33 ^{n.s.}	0.78
T1	4.20 ^{n.s.}	0.99
T2	4.38 ^{n.s.}	0.80
T3	4.36 ^{n.s.}	0.85

Prueba de Dunn-Bonferroni. Medias con una letra (a) común no son significativamente diferentes ($p>0.05$). T0 (embutido tipo cervecero sin extracto), T1 (embutido tipo cervecero con extracto al 50 %), T2 (embutido tipo cervecero con extracto al 60%) y T3 (embutido tipo cervecero con extracto al 70 %). p-valor: 0.4477.

Nieto, 2024

4.4.4 Interpretación de resultados de evaluación sensorial de todos los parámetros (color, olor y sabor).

La Tabla 17 presenta los cuatro tratamientos investigados, destacando sus ponderaciones en los parámetros evaluados por el panel sensorial donde se puede destacar que, el tratamiento de mayor aceptación sensorial es el T0, con un promedio de 4.23 demostrando en la tabla hedónica como ME GUSTA. Este resultado se basa en las puntuaciones más altas obtenidas en cada atributo individual, donde T0 lidera en color con 4.15 (me gusta), en olor con 4.21 (me gusta), y en sabor con 4.33 (me gusta). Estos valores indican que el T0 es el tratamiento preferido en términos de las características sensoriales evaluadas,

destacando por su atractivo visual, aroma agradable y sabor distintivo en comparación con los tratamientos T1, T2 y T3. A pesar de que no existió diferencias significativas entre los tratamientos para cada uno de los parámetros sensoriales evaluados (color, olor, sabor) se identificó a T2 como el mejor tratamiento debido a que representa los valores más alto de aceptación sensorial (sabor) esto significa que el extracto no alteró su sabor de ninguna manera.

Tabla 16. Tratamiento de mayor aceptación sensorial

Tratamientos	Color	Olor	Sabor	Promedio
T0	4,15 ^{n.s.}	4,21 ^{n.s.}	4,33 ^{n.s.}	4,23
T1	3,99 ^{n.s.}	4,03 ^{n.s.}	4,20 ^{n.s.}	4,07
T2	4,00 ^{n.s.}	4,21 ^{n.s.}	4,38 ^{n.s.}	4,19
T3	4,06 ^{n.s.}	4,25 ^{n.s.}	4,36 ^{n.s.}	4,22

Comparación de medias obtenidas en la evaluación sensorial del producto. n.s.: no significativo.
Nieto, 2024

5. Discusión

Los resultados del proceso de maceración y concentración realizados para la obtención de los extractos de hongo shiitake en donde se utilizó una dilución previa al proceso de maceración de etanol al 97 % a etanol al 50 %, 60 % y 70 % dio como resultado extracto al 50 %: 55 mL, extracto al 60 %: 63 mL y extracto al 70 %: 72.7 mL. En donde se observó que, a mayor concentración de los extractos, mayores cantidades en mL se obtuvieron de los mismos. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por Checalla y Sánchez (2021) en su estudio sobre la caracterización y actividad antibacteriana del extracto etanólico de propóleo peruano en donde se obtuvo el extracto mediante maceración con etanol diluido al 75 %, 50 % y 25 % puesto que se obtuvieron 7.5 mL, 5 mL y 2.5 mL de cada extracto según su concentración.

Por otro lado, este estudio comparte similitudes con la investigación llevada a cabo por Rodríguez y Martínez (2023) en cuanto a la técnica empleada, ya que ambos utilizaron la maceración y concentración en rotavapor. No obstante, se observan diferencias significativas en los resultados expresados en mililitros, pese a usar una relación de 1:5 p/v, al igual que la investigación de Rodríguez y Martínez. Los hallazgos de esta investigación revelaron una disminución del 5% con respecto a los resultados volumétricos obtenidos en la investigación de los autores ya mencionados para su concentrado, lo cual podría atribuirse al uso de diferentes materias primas como los residuos del mamey utilizados por dichos autores. No se encontraron estudios con la misma metodología de extracción (por solventes) con hongos que revelen los datos volumétricos con relación a la de esta investigación.

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que, con el tiempo, los tratamientos con extracto (T1, T2, T3) mantienen niveles estables de pH y cumplen con los límites permitidos de *aerobios mesófilos*, mientras que el tratamiento sin extracto (T0) experimenta una marcada disminución en el pH y un crecimiento bacteriano significativamente mayor en los días 4 y 8. Estos hallazgos concuerdan con el estudio de Torres-Martínez *et al.*, (2021), que destaca la eficacia antimicrobiana de los extractos de hongos comestibles, incluido el shiitake, y su capacidad para reducir la presencia de bacterias patógenas en alimentos. La consistencia en los resultados respalda la idea de que los extractos de hongos, como el shiitake, pueden ser valiosos ingredientes antimicrobianos en la industria alimentaria, contribuyendo a mantener la calidad y seguridad de los productos.

En cuanto al análisis microbiológico los resultados de este estudio muestran un aumento significativo en el recuento de *aerobios mesófilos* a lo largo del tiempo, especialmente en el tratamiento sin extracto (T0), que alcanzó 7.21×10^6 UFC/g en el día 8. Estos hallazgos coinciden con el estudio de Van Ba *et al.*, (2017), quienes investigaron los efectos de extractos de shiitake en salchichas fermentadas. En dicho estudio, las muestras tratadas con extracto etanólico exhibieron un aumento más lento en el recuento aeróbico total durante el almacenamiento, con valores en el rango de 6.54 a 6.95 log₁₀ UFC/g. Ambos estudios respaldan la idea de que los extractos de shiitake, especialmente los obtenidos con solventes como el etanol, pueden mitigar el crecimiento bacteriano en productos cárnicos, contribuyendo así a la seguridad alimentaria y la calidad del producto. Las diferencias se deben principalmente a la metodología utilizada, y el tipo de producto cárnico (el del estudio realizado por Van Ba *et al.* es de

salchichas fermentadas, mientras que el del presente estudio son salchichas tipo cerveceras).

Los resultados del recuento microbiológico en la comparación de los requisitos microbiológicos para embutidos tipo cervecero frente a la norma NTE INEN 1330:2012 revelan que, en el día 0, todos los tratamientos (T0, T1, T2, T3) cumplen con los límites permitidos de *aerobios mesófilos*. Sin embargo, para los días 4 y 8, el tratamiento T0 supera los límites establecidos, indicando un crecimiento bacteriano significativo. En contraste, los tratamientos con extracto (T1, T2, T3) se mantienen dentro de los límites permitidos en ambos días.

Estos hallazgos concuerdan con la investigación de Calandra, Noguera y Perez (2023) en su estudio sobre extractos comerciales *Ganoderma lucidum*, *Hericium erinaceus* y *Cordyceps militaris*. En este estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos de los hongos antes mencionados donde se demostró que poseían la capacidad de inhibir ciertos microorganismos como *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados también se alinean con lo expuesto por Selani, Pintado, Herrero y Ruiz (2022) quienes evaluaron la adición de un extracto de tallo shiitake, encontrando que la formulación con el extracto cumplió con las normas técnicas y mostró aceptación sensorial, respaldando así la viabilidad de utilizar hongos en productos cárnicos sin comprometer la seguridad microbiológica.

En el ámbito del análisis sensorial, al comparar esta investigación con el trabajo de Tofiño-Rivera *et al.*, (2017) sobre embutidos artesanales con aceites esenciales, se evidencian similitudes en cuanto a la consistencia sensorial que se mantiene en los embutidos con extractos de shiitake. La investigación de Tofiño-Rivera *et al.* enfatiza la importancia de preservar la calidad sensorial al incorporar

ingredientes no tradicionales en la formulación de embutidos. Sin embargo, las diferencias se centran en las preferencias sensoriales específicas; mientras este estudio destaca la preferencia por el embutido sin extracto, Tofiño *et al.* Considera que se deben realizar más estudios en base al uso de aceites esenciales o extractos naturales como ingredientes para embutidos.

Selani *et al.* (2022) expone resultados similares a los de esta investigación donde indica que las salchichas tipo frankfurt adicionadas con extracto de hongo shiitake poseen aceptación sensorial y esto se atribuye a la formulación y métodos específicos utilizados en la investigación, subrayando la complejidad de la interacción entre ingredientes y las preferencias individuales. Las similitudes entre los resultados radican en las elecciones particulares de ingredientes y las preferencias evaluativas de los paneles sensoriales, resaltando la necesidad de considerar detenidamente los componentes específicos y sus impactos en la calidad final del producto.

6. Conclusiones

El método de maceración y concentración en rotavapor para obtener extractos de shiitake, utilizando diferentes concentraciones de etanol (50%, 60% y 70%) los resultados de los extractos obtenidos indican una relación entre la concentración del solvento y los volúmenes de extractos obtenidos. Se destacó que concentraciones más elevadas de etanol resultaron en volúmenes de extracto más significativos.

Los resultados del análisis de pH señalan que los tratamientos con extracto de shiitake descendieron, pero de forma mínima en comparación los tratamientos (T1, T2, T3) mantuvieron niveles más estables de pH en comparación con el tratamiento sin extracto (T0), que exhibió una disminución marcada a lo largo del tiempo. En cuanto a los resultados de la actividad antimicrobiana, se demostró que los tratamientos con extracto de shiitake (T1, T2, T3) presentaron un menor crecimiento bacteriano en comparación con el tratamiento sin extracto (T0). Además, se observó que los tratamientos con extracto se mantuvieron dentro de los límites microbiológicos establecidos por la normativa NTE INEN 1338: 2012, mientras que el tratamiento sin extracto superó estos límites a partir del día 4. Se observó además que el pH es un factor físico químico que afecta directamente la actividad antimicrobiana de los extractos adicionados en la formulación de los chorizos tipo cerveceros.

Por último, la evaluación sensorial del embutido tipo cervecero enriquecido con extractos de shiitake reveló percepciones favorables en cuanto a color, olor y sabor en todos los tratamientos estando dentro del rango de me gusta los cuatro tratamientos, pero el tratamiento sin extracto (T0) fue el más aceptado sensorialmente teniendo mayores puntuaciones en color 4.15 (me gusta), olor

4.21 (me gusta) y sabor 4.33 (me gusta). Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para los parámetros evaluados, el T2 alcanzó los valores más altos en el parámetro (sabor) en comparación a los tratamientos restantes.

7. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos se recomienda llevar a cabo estudios de optimización en el proceso de obtención de extractos de hongo shiitake con etanol, considerando variables como tiempo de maceración, proporciones hongo-etanol y temperatura para maximizar la eficiencia de extracción. Asimismo, se sugiere realizar análisis detallados de la composición química mediante técnicas como cromatografía para identificar y cuantificar los compuestos presentes. Estudios de estabilidad bajo diversas condiciones de almacenamiento son esenciales para garantizar la conservación a largo plazo de la calidad de los extractos. La exploración de concentraciones óptimas de etanol permitirá entender cómo varían las propiedades bioactivas de los extractos, facilitando la selección de concentraciones adecuadas para aplicaciones específicas.

En cuanto a los análisis de pH se sugiere estudios más detallados de los extractos para comprender mejor su comportamiento en sistemas cárnicos. Es esencial tener en cuenta que el pH puede influir en la acidez de los productos cárnicos, afectando tanto la textura como el sabor. Para optimizar la estabilidad en productos cárnicos, se sugiere ajustar cuidadosamente el pH de los extractos de shiitake de acuerdo con las características deseadas del producto final. Además, considerar estudios específicos que evalúen la interacción entre el pH de los extractos y los ingredientes de productos cárnicos, así como su efecto en la vida útil y calidad sensorial.

Se sugiere realizar investigaciones adicionales para explorar los posibles mecanismos de acción de los extractos de shiitake en el contexto de la inhibición del crecimiento bacteriano. La efectividad demostrada en los resultados señala la necesidad de estudios a nivel molecular para identificar los compuestos

responsables de la actividad antimicrobiana y comprender sus interacciones con los microorganismos. Esta comprensión a nivel molecular será esencial para el desarrollo futuro y la aplicación práctica de estos extractos como agentes antimicrobianos.

Ante la preferencia del tratamiento sin extracto en el análisis sensorial, se sugiere realizar investigaciones adicionales para comprender las razones detrás de esta preferencia, utilizando encuestas y entrevistas para obtener información cualitativa. Explorar variaciones en la concentración del extracto en los tratamientos con el objetivo de identificar la concentración óptima y ajustar la formulación para mejorar la aceptación sensorial sin comprometer los objetivos de la investigación. Además, llevar a cabo un análisis más detallado de las propiedades sensoriales específicas, considerar posibles influencias culturales o regionales en las preferencias y, si es necesario, implementar estrategias de comunicación efectivas para resaltar los beneficios del extracto de shiitake.

8. Bibliografías

- Aguilar, M. (2022). *Sustitución de almidón de maíz en la elaboración de mortadela*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
- Álvarez-Serrano, I., Mustelie-Casola, D., González-Zambrano, J., & Espinosa-Nieto, L. (2022). Potencialidades de inclusión de *Pleurotus ostreatus* en alimentos cárnicos. *Revista Científica Arbitrada de Investigación en Comunicación, Marketing y Empresa*, 5(9), 223-246.
doi:10.46296/rc.v5i9.0046
- Arias, A. (2022). *Biopreparados a base de extractos botánicos para el manejo de Bemisia tabaci en el cultivo de zucchini (Cucurbita pepo)*. (Tesis de pregrado). Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- Atila, F., & Cetin, M. (2024). Valorization of liquid waste generated from biogas production as supplemental material in shiitake mushroom cultivation. *Scientia Horticulture*, 325, 1-8.
doi:https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112663
- Bach, F., Ferreira, A., Vieira, C., Maciel, M., Alessandra, P., Stafussa, A. P., & Ávila, S. (2019). Bio compounds of edible mushrooms: in vitro antioxidant and antimicrobial. *Food Science and Technology*, 107(1), 214-220.
doi:10.1016/j.lwt.2019.03.017
- Benavides, O. (2004). *Estudio químico de la fracción insapobificable del hongo macromiceto Lentinula edodes (Shiitake)*. (Posgrado). Universidad Nacional de Colombia, Colombia.
- Bermúdez, M. J., Granados, F., & Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y

- Cymbopogon citratus*. *Revista UCR*, 1(30), 147-163. Obtenido de <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v30n1/2215-3608-am-30-01-00147.pdf>
- Cabrera, N. (2023). *Evaluación sensorial y bromatológica en una galleta integral a base de harina de quinua (Chenopodium quinoa) y extracto de dulcamara (Kalanchoe gastonis bounnieri)*. Tesis de pregrado. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- Calandra, F., Noguera, C., & Perez, T. (2023). *Análisis y caracterización de extractos de hongos : desarrollo de un protocolo estándar para el estudio de moléculas bioactivas*. Tesis de pregrado. Universidad ORT Uruguay, Uruguay. Obtenido de <https://sisbibliotecas.ort.edu.uy/bib/94916>
- Ceerón-Guevara, M., Santos-López, E. M., Sánchez-Ortega, I., Rangel-Vargas, E., Rodríguez-Ávila, J. A., & Ibarra-Ortega, I. S. (2020). Hongos comestibles: Un ingrediente alternativo en la formulación de productos cárnicos. *Publicación Semestral Päd*, 7(14), 47-51. Obtenido de <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/4973/6820>
- Checalla, J., & Sánchez, M. (2021). Caracterización Química y Actividad Antibacteriana in vitro de un Extracto Etanólico de Propóleo Peruano Frente a *Streptococcus mutans*. *International journal of odontostomatology*, 5(1), 145-151. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2021000100145>
- Chen, D., Sheng, M., Wang, S., Chen, X., Leng, A., & Lin, S. (2023). Dynamic changes and formation of key contributing odorants with amino acids and reducing sugars as precursors in shiitake mushrooms during hot air drying. *Food Chemistry*, 424, 1364-1369. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136409>

- Chicaiza, J. (2015). *Evaluación del proceso de elaboración de dos tipos de chorizos ahumados aromatizados con maracuyá (Passiflora edulis) y cilantro (Coriandrum Strivum)*. (Tesis de grado). Universidad técnica estatal de Quevedo, Quevedo, Ecuador.
- Dermiki, N., Phanphensophon, N., Mottram, D., & Methven, L. (2013). Contributions of non-volatile and volatile compounds to the umami taste and overall flavour of shiitake mushroom extracts and their application as flavour enhancers in cooked minced meat. *Food Chemistry*, 141(1), 77-83. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.018>
- Dos Santos, S., Silva, L., Mabel, M., Dutra, I., Segal, E., Ferreira, A., . . . Ferreira, T. (2020). Umami Ingredient: Flavor enhancer from shiitake (*Lentinula edodes*) byproducts. *Food Research International*, 137, 50-62. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109540>
- Du, J., Xi, J., Chen, X., Sun, H., Zhong, L., Zhan, Q., & Zhao, L. (2024). Effects of different extraction methods on the release of non-volatile flavor components in shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 5(1), 42-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106001>
- Espinel, A. (2020). *Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tres especies de Citrus limon contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus*. Tesis de pregrado. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- Fan, S., Mu, H., Gao, H., Chen, H., Wu, W., Fang, X., . . . Niu, B. (2023). Preparation of PVA/PLA-based intelligent packaging to indicate the quality of shiitake mushrooms. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100589>

- FAO. (2017). Carne y productos cárnicos. Obtenido de <https://faolex.fao.org/docs/pdf/nic180647.pdf>
- Gaitan, R., Mata, G., & Salmones, D. (2020). *El cultivo de Shiitake*. Revista Mexicana Micología . Obtenido de https://www.inecol.mx/inecol/images/pdf/El_cultivo_del_shiitake.pdf
- Gao, J., Li, X., Jia, S., Zeng, H., & Zheng, B. (2023). Structural characterization and antioxidant activity of a glycoprotein isolated from shiitake mushrooms. *Food Bioscience*, 53, 1523-1531. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102608>
- García, G. (2023). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de mostaza (*Sinapsis alba*) y su acción conservante en la carne de res. *Tesis de pregrado*. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador.
- García, J., Afonso, A., Fernandes, C., Nunes, F., Marques, G., & Saavedra, M. J. (2021). Comparative antioxidant and antimicrobial properties of *Lentinula edodes*. (35), 98-106. doi:[10.1016/j.sajce.2020.09.008](https://doi.org/10.1016/j.sajce.2020.09.008)
- Grameros-Colin, M., Monroy-García, A., Morales-Sánchez, Y., Alanís-García, E., & Ramírez-Moreno, E. (2017). El consumo de carne procesada y su impacto en la dieta. *Report of the Scientific Committee on Food on the Revision of Essential Requirements of Infant Formulae and Follow-on Formulae.*, II(30). Obtenido de <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/ICSA/article/view/2674/2698>
- Guiné, R., Correia, P., & Goncalves, I. (2019). Samosas with shiitake mushroom byproducts: Chemical and physical characterization. *Journal of Education, Technologies, and Health*, 2(3), 81-89. doi:[10.29352](https://doi.org/10.29352)

- INEN1338;2012. (2012). Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/1338-3.pdf>
- Ishtiaq, A., Maryum, A., Mimi, X., Jianyou, Z., Yuting, D., & Fei, L. (2023). Therapeutic values and nutraceutical properties of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 134, 123-135. doi:10.1016/j.tifs.2023.03.007.
- Luis, C.-B., Lourdes, B.-M., Pérez-Robles, L., & Martínez-Molina, I. (2017). Evaluación sensorial de embutido tipo chorizo a base de carne de conejo. (S. Martínez, Ed.) *I*(8), 102-111. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/av/v8n1/2448-6132-av-8-01-00102.pdf>
- Martinez, A., Vázquez-González, F., Valero-Galván, J., Álvarez-Parrilla, E., Garza-Ocañas, F., Najera-Medellin, J., & Quiñónez-Martínez, M. (2021). Antimicrobial activity, phenolic compounds content, and antioxidant capacity of four edible macromycete fungi from Chihuahua, Mexico. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *I*(24). doi:10.22201/fesz.23958723e.2021.318
- Mena, Y., Ramírez, L., & Arango, A. (2021). Antibacterial and antioxidant activity of the fungus *Phanerochaete* spp. *Información tecnológica*, *32*(1), 69-78. doi:10.4067/S0718-07642021000100069
- Montenegro, A. (2022). *Uso de extractos de plantas biocidas para el manejo de trips (Frankliniella occidentalis) en el cultivo de cacao*. Tesis de pregrado. Universidad Agraria del Ecuador, El triunfo, Ecuador.
- Morales, D., Ribeiro, F., Jimenez, A., Soler, C., & Prodanov, M. (2019). Production of a β -d-glucan-rich extract from Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) by

an extraction/microfiltration/reverse osmosis (*nanofiltration*) process.

Innovative Food Science & Emerging Technologies, 51, 80-90.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.003>

Muñoz, K. (2022). *Adición del hongo Agaricus Bisporus como sustituto de la carne de cerdo del chorizo ahumado tipo I*. (Tesis de pregrado). Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López , Ecuador.

Nadwin, M., Ayesha, M., Abdul, A., Jameel, M., & Ali, M. (2019). Mushroom-assisted synthesis of triangle gold nanoparticles using the aqueous extract of fresh *Lentinula edodes* (shiitake), Omphalotaceae. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 12, 1-22.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100270>

Niu, B., Fei, Y., Liu, R., Chen, H., Fang, X., Wu, W., . . . Gao, H. (2023). Effect of oxyresveratrol on the quality and membrane lipid metabolism of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) during storage. *Food Chemistry*, 427, 1-10.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136700>

NTE INEN 774:2006. (2006). *Carnes y productos cárnicos clasificación*. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/774.pdf>

Rodríguez, V., & Martínez, N. (2023). Actividad antifúngica de residuos de mamey contra *Alternaria spp* Antifungal activity of mamey residues against *Alternaria spp*. *Padi Bolentín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(20), 40- 44. Obtenido de

<https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/9180/928>

0

Romero-Arenas, O., Martínez, M., Huato, M., Ramírez, B., & López-Olguín, F. (2015). Producción del hongo Shiitake (*Lentinula edodes Pegler*) en

- bloques sintéticos utilizando residuos agroforestales). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(6), 1229-1238. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000600007&lng=es&tlng=es.
- Ruilova, M., Hernández, A., Díaz, R., & Niño-Ruiz, Z. (2016). Desarrollo de una formulación de salchicha saludable empleando al hongo pleurotus ostreatus como sustituto de la carne de cerdo. *Revista de Investigación Talentos*, III(1), 36-41. Obtenido de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/67-Texto%20del%20art%C3%ADculo-257-1-10-20190108.pdf>
- Salinas, D. (2010). *Utilización de tres especies de atún Thunusobesus (big eye), Thunus albacares (yellow fin), para la formulación y elaboración de un embutido escaldado tipo salchicha*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.
- Selani, M., Pintado, T., Herrero, A., & Ruiz, C. (2022). Aplicación de un extracto de tallo de Shiitake como potenciador del sabor en salchichas frankfurt. *Nutrición Clínica y Dieta Hospitalaria*, 42(1), 67-68. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10261/306978>
- Tirado, D., Acevedo, D., & Montero, P. (2016). Características composicionales, microbiológicas y de textura del 'salchichón cervecero' comercializado en Colombia. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 41(1), 55-59. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/339/33943362009.pdf>
- Tofiño-Rivera, A., Ortega-Cuadros, M., Herrera-Hinojosa, B., Fragoso-Castilla, P., & Pedraza-Claros, B. (2017). Conservación microbiológica de embutido

- cárnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* y *Thymus vulgaris*. *Revista Española de Nutrición Humana*(15), 31-35. doi:10.18684/
- Torres-Martínez, B., Vargas-Sánchez, R., Ibarra-Arias, F., Ibarra-Torres, E., Torrescano-Urrutia, G., & Sánchez-Escalante, A. (2021). Efecto del solvente de extracción sobre la composición química, propiedades. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, III*(24), 1-10. doi:10.22201/fesz.23958723e.2021.33
- Van Ba, H., Hyun-Woo, S., Soo-Hyun, C., Yoon-Seok, K., Jin-Hyoung, K., Jun-Sang, H., . . . Pil-Nam, S. (2017). Van Ba, H., Seo, H.-W., Cho, S.-H., Kim, Y.-S., Kim, J.-H., Ham, J.-S., Pil-Nam, S. (2017). Effects of extraction methods of shiitake by-products on their antioxidant and antimicrobial activities in fermented sausages during storage. *Food Control, III*(79), 109-118. doi:doi:10.1016/j.foodcont.2017.03.034
- Vargas-Vargas, M., Hernández-Chaverri, R., & Jiménez-Silva, A. (2019). Caracterización de la biomasa de piña (*Ananas comosus*) y su valoración en la propagación micelial del hongo shiitake (*Lentinula edodes*). *Yulök Revista de Innovación Académica.*, 3(1), 13-27. doi:10.47633/yulk.v3i1%20(enero%20a%20junio).191
- Verdugo, M. (2017). *Caracterización química y sensorial de un chorizo vegano*. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro, Saltillo, México.
- Watanabe, A., Shinomiya, A., Kashimura, K., Ikeya, K., Maie, N., & Kadama, H. (2024). Fulvic acids-like substances exuded from shiitake mushroom beds—Amount, chemical characteristics, and antioxidant capacity.

Bioresource Technology Reports, 25, 1-8.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101710>

Xiao, T., Feng, R., Zhao, X., Han, Y., Guo, M., Wu, J., & Cui, H. (2023). Heating performance, exergy, and economic analysis of a heat pump drying system with an independent operating ability for drying shiitake mushrooms.

Journal of Cleaner Production, 426, 1389-1395.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.138982>

Xu, Y., Liu, W., Li, L., Cao, W., Ren, G., Shi, H., . . . Duan, X. (2024). Evolution behavior of volatile components of shiitake mushrooms during infrared-assisted spouted bed drying. *Food Control*, 158, 1-15.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110206>

Yashima, T., & Ogawa, K. (2023). Water concentration and rate of decrease in shiitake cultivation log during fruiting body development, as measured by MRI. *Fungal Biology*, 127(10-11), 1362-1375.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.09.003>

Zapata-Álvarez, A., Mejía, C., & Restrepo, D. (2019). Efecto Protector de un Antimicrobiano Natural Frente a *Listeria*, *Salmonella* y *E. coli* en salchicha y mortadela. *Información tecnológica*. Obtenido de

<https://www.scielo.cl/pdf/infotec/v30n2/0718-0764-infotec-30-02-00235.pdf>

Zea, Z., & Selgrad, M. (2004). Evaluación de la calidad microbiológica de los productos cárnicos analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante el período 1990-2000. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35(1), 17-24. Obtenido de

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-

04772004000100004

9. Anexos

9.1 Anexo 1. Hongo shiitake



Figura 1. Hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 2. Embutidos con hongo shiitake
Nieto, 2024

9.2 Anexo 2. Normativa INEN productos cárnicos



Figura 3. Portada Norma INEN
INEN1338;2012, 2012

9.2 Anexo 3. Proceso de obtención de extracto del hongo shiitake y elaboración de embutido tipo cervecero



Figura 4. Hongo shiitake en fresco
Nieto, 2024



Figura 5. Pesaje de hongo shiitake en fresco
Nieto, 2024



Figura 6. Proceso de deshidratación hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 7. Deshidratación hongos shiitake
Nieto, 2024

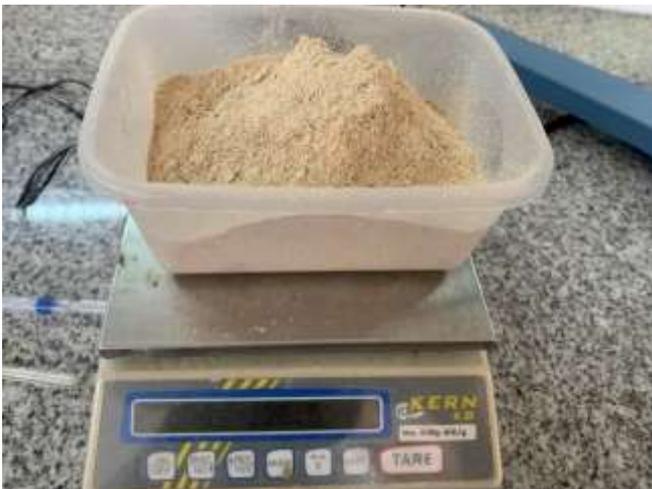


Figura 8. Pesaje de harina de hongo shiitake
Nieto, 2024

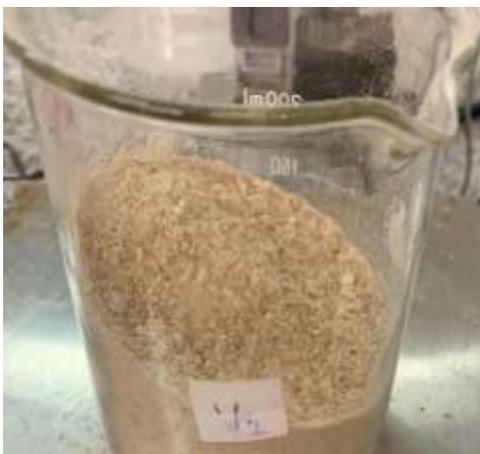


Figura 9. Proceso de molienda del hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 10. Dilución de etanol al 50 %
Nieto, 2024



Figura 11. Dilución de etanol al 60 %
Nieto, 2024



Figura 12. Macerados de hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 13. Proceso de filtrado de macerado hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 14. Filtrado de macerado hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 15. Residuos proceso de filtrado de macerados
Nieto, 2024



Figura 16. Proceso de concentrado de macerados en rotavapor
Nieto, 2024

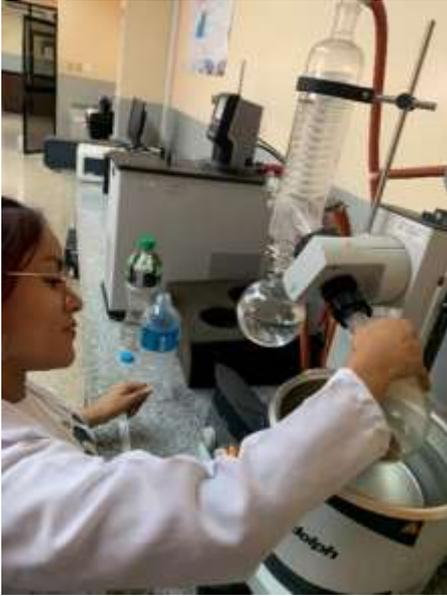


Figura 17. Proceso de concentrado de macerados en rotavapor
Nieto, 2024



Figura 18. Concentrado de hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 19. Pesaje de extracto concentrado de hongo shiitake
Nieto, 2024



Figura 20. Proceso de elaboración de embutido
Nieto, 2024



Figura 21. Mezcla de ingredientes
Nieto, 2024



Figura 22. Pesaje de ingredientes
Nieto, 2024



Figura 23. Pesaje de ingredientes
Nieto, 2024



Figura 24. Mezcla de ingredientes con concentrados
Nieto, 2024



Figura 25. Embutido
Nieto, 2024



Figura 26. Embutido
Nieto, 2024

9.3 Anexo 4. Determinación de pH y actividad antimicrobiana de *aerobios mesófilos*



Figura 27. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero Nieto, 2024



Figura 28. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero Nieto, 2024



Figura 29. Lectura de pH en muestra de embutido tipo cervecero Nieto, 2024

Medidas resumen

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
T0 D0	pH	3	6.31	0.07	6.25	6.38
T0 D4	pH	3	5.21	0.09	5.12	5.30
T0 D8	pH	3	4.25	0.26	4.08	4.55
T1 D0	pH	3	6.32	0.06	6.28	6.39
T1 D4	pH	3	6.20	0.06	6.15	6.26
T1 D8	pH	3	5.27	0.03	5.24	5.30
T2 D0	pH	3	6.27	0.03	6.25	6.30
T2 D4	pH	3	6.15	0.05	6.10	6.20
T2 D8	pH	3	5.31	0.09	5.22	5.40
T3 D0	pH	3	6.34	0.04	6.30	6.37
T3 D4	pH	3	6.25	0.09	6.19	6.35
T3 D8	pH	3	6.10	0.10	6.00	6.20

Figura 30. Media y desviación estándar de datos de pH Nieto, 2024

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	36	0.98	0.98	1.70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14.64	11	1.33	135.06	<0.0001
Tratamiento	14.64	11	1.33	135.06	<0.0001
Error	0.24	24	0.01		
Total	14.88	35			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.29226

Error: 0.0099 gl: 24

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
T3 D0	6.34	3	0.06	A
T1 D0	6.32	3	0.06	A
T0 D0	6.31	3	0.06	A
T2 D0	6.27	3	0.06	A
T3 D4	6.25	3	0.06	A
T1 D4	6.20	3	0.06	A
T2 D4	6.15	3	0.06	A
T3 D8	6.10	3	0.06	A
T2 D8	5.31	3	0.06	B
T1 D8	5.27	3	0.06	B
T0 D4	5.21	3	0.06	B
T0 D8	4.25	3	0.06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 31. Análisis de Tukey pH
Nieto, 2024



Figura 32. Preparación para siembra en Petri film
Nieto, 2024



Figura 33. Análisis microbiológico para *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024



Figura 34. Recuento microbiológico de *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024



Figura 37. Petrifilm T0, recuento *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024



Figura 36. Recuento UFC/g de *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024

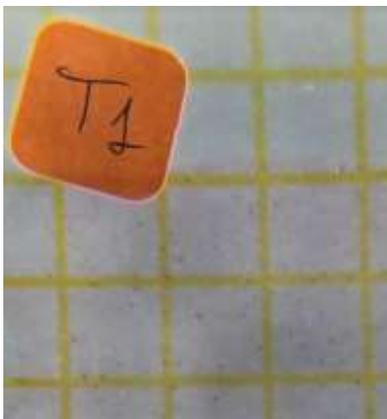


Figura 35. Petrifilm T1, recuento *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024



Figura 38. Petrifilm T2, recuento *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024

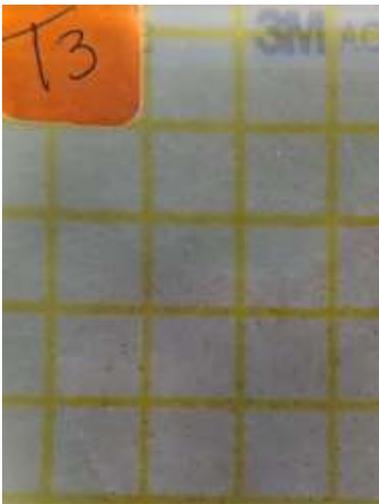


Figura 39. Petrifilm T3, recuento *aerobios mesófilos*
Nieto, 2024

Tabla 17. Tratamiento 0, análisis microbiológico

Tratamiento	Día	UFC
T0	Día 0	3.00E+04
T0	Día 0	4.50E+04
T0	Día 0	5.40E+04
T0	Día 0	4.50E+04
T0	Día 0	3.30E+04
T0	Día 0	5.00E+04
T0	Día 0	5.30E+04
T0	Día 0	4.00E+04
T0	Día 0	5.60E+04
T0	Día 4	3.00E+05
T0	Día 4	5.90E+05
T0	Día 4	4.00E+05
T0	Día 4	4.50E+05
T0	Día 4	6.70E+05
T0	Día 4	9.00E+05
T0	Día 4	4.90E+05
T0	Día 4	4.70E+05
T0	Día 4	6.50E+05
T0	Día 8	6.00E+06
T0	Día 8	7.00E+06
T0	Día 8	9.00E+06
T0	Día 8	6.60E+06
T0	Día 8	5.50E+06
T0	Día 8	6.70E+06
T0	Día 8	7.70E+06
T0	Día 8	8.90E+06
T0	Día 8	7.50E+06

Datos de tratamiento 0, *aerobios mesófilos*, recolectados en el día 0, 4 y 8.
Nieto, 2024

Tabla 18. Tratamiento 1, análisis microbiológico

Tratamiento	Día	UFC
T1	Día 0	3.20E+03
T1	Día 0	3.40E+03
T1	Día 0	2.20E+03
T1	Día 0	2.50E+03
T1	Día 0	3.30E+03
T1	Día 0	3.90E+03
T1	Día 0	2.80E+03
T1	Día 0	2.90E+03
T1	Día 0	3.00E+03
T1	Día 4	2.00E+04
T1	Día 4	4.50E+04
T1	Día 4	3.70E+04
T1	Día 4	3.20E+04
T1	Día 4	4.50E+04
T1	Día 4	4.40E+04
T1	Día 4	4.80E+04
T1	Día 4	3.60E+04
T1	Día 4	4.90E+04
T1	Día 8	3.60E+05
T1	Día 8	5.50E+05
T1	Día 8	4.50E+05
T1	Día 8	3.80E+05
T1	Día 8	6.00E+05
T1	Día 8	5.00E+05
T1	Día 8	5.50E+05
T1	Día 8	4.50E+05
T1	Día 8	6.30E+05

Datos de tratamiento 1, *aerobios mesófilos*, recolectados en el día 0, 4 y 8.
Nieto, 2024

Tabla 19. Tratamiento 2, análisis microbiológico

Tratamiento	Día	UFC
T2	Día 0	2.20E+04
T2	Día 0	2.50E+04
T2	Día 0	2.90E+04
T2	Día 0	2.10E+04
T2	Día 0	2.90E+04
T2	Día 0	2.20E+04
T2	Día 0	1.90E+04
T2	Día 0	3.10E+04
T2	Día 0	2.50E+04
T2	Día 4	2.00E+03
T2	Día 4	3.10E+03
T2	Día 4	2.20E+03
T2	Día 4	3.30E+03
T2	Día 4	2.60E+03
T2	Día 4	3.60E+03
T2	Día 4	3.80E+03
T2	Día 4	3.30E+03
T2	Día 4	2.90E+03
T2	Día 8	4.40E+04
T2	Día 8	4.10E+04
T2	Día 8	5.60E+04
T2	Día 8	3.30E+04
T2	Día 8	5.20E+04
T2	Día 8	4.40E+04
T2	Día 8	4.50E+04
T2	Día 8	4.90E+04
T2	Día 8	4.00E+01

Datos de tratamiento 2, *aerobios mesófilos*, recolectados en el día 0, 4 y 8.
Nieto, 2024

Tabla 20. Tratamiento 3, análisis microbiológico

Tratamiento	Día	UFC
T3	Día 0	1.90E+03
T3	Día 0	1.90E+03
T3	Día 0	2.90E+03
T3	Día 0	3.20E+03
T3	Día 0	2.20E+03
T3	Día 0	2.60E+03
T3	Día 0	2.50E+03
T3	Día 0	2.40E+03
T3	Día 0	1.90E+03
T3	Día 4	3.40E+04
T3	Día 4	3.70E+04
T3	Día 4	4.10E+04
T3	Día 4	3.90E+04
T3	Día 4	3.50E+04
T3	Día 4	4.40E+04
T3	Día 4	3.80E+04
T3	Día 4	4.10E+04
T3	Día 4	4.30E+04
T3	Día 8	4.10E+05
T3	Día 8	4.90E+05
T3	Día 8	5.20E+05
T3	Día 8	4.60E+05
T3	Día 8	4.40E+05
T3	Día 8	5.50E+05
T3	Día 8	4.30E+05
T3	Día 8	5.20E+05
T3	Día 8	5.90E+05

Datos de tratamiento 3, *aerobios mesófilos*, recolectados en el día 0, 4 y 8.
Nieto, 2024

Medidas resumen

Día	Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
Día 0	T0	UFC	9	45111.11	9252.63	30000.00	56000.00
Día 0	T1	UFC	9	3022.22	504.42	2200.00	3900.00
Día 0	T2	UFC	9	24777.78	4146.62	19000.00	31000.00
Día 0	T3	UFC	9	2388.89	464.88	1900.00	3200.00
Día 4	T0	UFC	9	546666.67	177974.72	300000.00	900000.00
Día 4	T1	UFC	9	39555.56	9342.26	20000.00	49000.00
Día 4	T2	UFC	9	2977.78	611.92	2000.00	3800.00
Día 4	T3	UFC	9	39111.11	3444.00	34000.00	44000.00
Día 8	T0	UFC	9	7211111.11	1196290.56	5500000.00	9000000.00
Día 8	T1	UFC	9	496666.67	94074.44	360000.00	630000.00
Día 8	T2	UFC	9	40448.89	16518.88	40.00	56000.00
Día 8	T3	UFC	9	490000.00	60000.00	410000.00	590000.00

Figura 40. Promedio y desviación estándar, análisis microbiológico Nieto, 2024

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
UFC	36	0.97	0.96	29.17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	319692984249022.00	3	106564328083007.00	295.23	<0.0001
TratamientoDía	319692984249022.00	3	106564328083007.00	295.23	<0.0001
Error	11550671876977.70	32	360958496155.56		
Total	331243656126000.00	35			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=767342.68849

Error: 360958496155.5546 gl: 32

TratamientoDía	Medias	n	E.E.
T0 D8	7211111.11	9	200266.07 A
T1 D8	496666.67	9	200266.07 B
T3 D8	490000.00	9	200266.07 B
T2 D8	40448.89	9	200266.07 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Figura 41. Análisis de varianza y prueba de comparaciones de Tukey Nieto, 2024

9.4 Anexo 5. Análisis sensorial


UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
"DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ"
CARRERA AGROINDUSTRIA
FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Persona: _____ Fecha: _____

Análisis aleatorio cada tratamiento acerca del embotido con extracto de shiitake, indicando una calificación del 1 al 5 la cual usted considere una puntuación adecuada para cada carácter indicado en la ficha de actividad sensorial que se realizará. Recuerde beber agua cada vez que cambie de tratamiento

Escala hedónica para la evaluación sensorial	Puntajes	Niveles de aceptación
	5	Me gusta mucho
	4	Me gusta
	3	No me gusta ni me disgusta
	2	Me disgusta
	1	Me disgusta mucho

Código	Calificación		
	Color	Olor	Sabor
T0			
T1			
T2			
T3			

Comentario: _____

Figura 42. Ficha de análisis sensorial
Nieto, 2024



Figura 43. Análisis sensorial de las muestras, panel no entrenado
Nieto, 2024



Figura 44. Panel sensorial
Nieto, 2024



Figura 45. Panel sensorial, panelistas no entrenados
Nieto, 2024



Figura 46. Panelistas no treinados
Nieto, 2024

Tabla 21. Datos sensoriales tratamiento 0

T0	Color	Olor	Sabor
1	3	4	4
2	4	4	5
3	5	5	4
4	5	5	5
5	3	3	3
6	5	5	5
7	5	5	5
8	4	5	5
9	5	4	4
10	4	4	5
11	4	5	4
12	2	3	2
13	5	3	5
14	2	3	2
15	4	5	4
16	5	5	5
17	5	4	5
18	5	4	5
19	4	4	4
20	4	4	4
21	4	4	5
22	4	5	5
23	4	4	4
24	4	4	5
25	4	4	4
26	4	5	5
27	5	5	5
28	4	4	4
29	5	5	5
30	4	4	4
31	4	5	4
32	4	4	4
33	4	5	4
34	4	2	4
35	5	4	4
36	4	4	4
37	4	3	4
38	4	4	4
39	4	4	4
40	5	5	5
41	4	4	4
42	5	5	5
43	4	4	4
44	4	5	4

45	4	4	4
46	5	4	4
47	5	5	5
48	4	3	4
49	4	4	5
50	5	4	4
51	5	5	4
52	4	4	4
53	3	4	4
54	4	4	5
55	5	5	4
56	5	5	5
57	3	3	3
58	5	5	5
59	5	5	5
60	4	5	5
61	5	4	4
62	4	4	5
63	5	5	4
64	3	4	5
65	4	3	4
66	4	3	4
67	5	4	5
68	5	4	4
69	3	2	4
70	4	4	5
71	4	4	4
72	3	4	3
73	5	5	5
74	3	4	5
75	5	5	5
76	4	5	5
77	3	4	3
78	5	4	5
79	4	5	3
80	4	4	5
81	5	5	5
82	2	3	5
83	4	5	5
84	2	4	4
85	5	5	5
86	5	5	5
87	4	5	5
88	5	4	5
89	3	3	3
90	4	4	4

91	4	4	5
92	5	3	5
93	3	3	1
94	5	4	5
95	3	4	3
96	5	5	5
97	3	5	4
98	3	4	4
99	4	5	4
100	5	5	5

Datos de color, olor y sabor de los 100 panelistas del tratamiento 0.
Nieto, 2024

Tabla 22. Datos sensoriales tratamiento 1

T1	Color	Olor	Sabor
1	2	2	4
2	4	4	4
3	5	4	3
4	5	4	4
5	3	3	4
6	5	3	3
7	5	5	5
8	3	4	5
9	5	5	5
10	3	4	3
11	4	5	5
12	3	4	4
13	5	3	5
14	1	1	1
15	4	4	5
16	5	5	5
17	5	5	4
18	3	4	5
19	4	3	4
20	4	3	4
21	5	4	5
22	5	4	4
23	3	2	4
24	4	4	5
25	4	4	4
26	3	4	3
27	5	5	5
28	3	4	5
29	5	5	5
30	4	5	5
31	3	4	3
32	5	4	5
33	4	5	3
34	4	5	5
35	3	3	3
36	4	4	5
37	3	2	4
38	4	5	4
39	4	5	3
40	2	3	2
41	5	4	5
42	5	5	5
43	4	3	3
44	5	5	5

45	5	5	5
46	5	3	3
47	5	5	5
48	3	4	5
49	5	5	5
50	3	4	3
51	4	5	5
52	3	4	4
53	5	3	5
54	1	1	1
55	4	4	5
56	5	5	5
57	5	5	4
58	3	4	5
59	4	3	4
60	4	3	4
61	5	4	5
62	3	3	3
63	4	4	4
64	4	4	5
65	5	3	5
66	3	3	1
67	5	4	5
68	3	4	3
69	5	5	5
70	3	5	4
71	3	4	4
72	4	5	4
73	4	5	5
74	3	3	4
75	3	4	4
76	4	5	5
77	4	4	4
78	4	4	4
79	5	5	5
80	4	5	3
81	2	3	2
82	5	4	5
83	5	5	5
84	4	3	3
85	5	5	5
86	5	5	5
87	5	3	3
88	5	5	5
89	3	4	5
90	5	5	5

91	3	4	3
92	4	5	5
93	3	4	4
94	5	3	5
95	4	4	4
96	5	4	4
97	5	5	5
98	3	5	5
99	4	4	5
100	5	4	5

Datos de color, olor y sabor de los 100 panelistas del tratamiento 1.
Nieto, 2024

Tabla 23. Datos sensoriales tratamiento 2

T2	Color	Olor	Sabor
1	4	4	5
2	5	5	5
3	2	3	5
4	4	5	5
5	2	4	4
6	5	5	5
7	5	5	5
8	4	5	5
9	5	4	5
10	3	3	3
11	4	4	4
12	4	4	5
13	5	3	5
14	3	3	1
15	5	4	5
16	3	4	3
17	5	5	5
18	3	5	4
19	3	4	4
20	4	5	4
21	4	5	5
22	3	3	4
23	3	4	4
24	4	5	5
25	4	4	4
26	4	4	4
27	5	5	5
28	4	4	4
29	5	5	5
30	5	5	5
31	4	5	5
32	2	3	4
33	3	3	4
34	2	3	2
35	5	4	5
36	5	5	5
37	4	3	3
38	5	5	5
39	5	5	5
40	4	5	5
41	3	3	3
42	4	4	5
43	3	2	4
44	4	5	4

45	4	5	3
46	4	5	5
47	3	3	4
48	3	4	4
49	4	5	5
50	4	4	4
51	4	4	4
52	5	5	5
53	4	4	4
54	5	5	5
55	5	5	5
56	4	5	5
57	2	3	4
58	3	3	4
59	2	3	2
60	5	4	5
61	5	5	5
62	4	3	3
63	5	5	5
64	5	5	5
65	4	5	5
66	3	3	3
67	4	4	5
68	5	5	5
69	2	3	5
70	4	5	5
71	2	4	4
72	5	5	5
73	5	5	5
74	4	5	5
75	5	4	5
76	3	3	3
77	4	4	4
78	4	4	5
79	4	4	5
80	4	5	5
81	4	4	4
82	4	4	5
83	4	4	4
84	4	5	5
85	5	5	5
86	4	4	4
87	5	5	5
88	4	4	4
89	4	5	4
90	4	4	4

91	4	5	4
92	4	2	4
93	5	4	4
94	5	5	5
95	3	4	4
96	4	4	4
97	5	4	5
98	5	4	4
99	5	5	5
100	3	4	4

Datos de color, olor y sabor de los 100 panelistas del tratamiento 2.

Nieto, 2024

Tabla 24. Datos sensoriales tratamiento 3

T3	Color	Olor	Sabor
1	3	4	5
2	4	5	5
3	4	4	4
4	5	5	4
5	1	5	5
6	5	3	3
7	5	5	5
8	5	4	5
9	4	4	4
10	3	3	4
11	5	5	5
12	5	5	5
13	5	3	5
14	2	1	1
15	4	5	4
16	5	5	5
17	5	5	5
18	3	5	5
19	4	4	4
20	4	4	4
21	5	4	5
22	3	4	5
23	5	5	5
24	4	5	5
25	4	4	4
26	5	4	4
27	5	5	5
28	5	5	5
29	5	5	5
30	4	5	5
31	4	5	5
32	2	5	4
33	3	4	4
34	3	4	3
35	4	4	4
36	3	4	5
37	5	2	5
38	4	5	5
39	3	4	4
40	5	4	4
41	4	4	4
42	4	3	4
43	4	4	4
44	4	4	4

45	5	5	5
46	3	4	3
47	5	5	5
48	3	4	5
49	5	5	5
50	4	5	5
51	3	4	3
52	5	4	5
53	4	5	3
54	4	5	5
55	3	3	3
56	4	4	5
57	3	2	4
58	4	5	4
59	4	5	3
60	2	3	2
61	5	4	5
62	5	5	5
63	4	3	3
64	5	5	5
65	5	3	5
66	2	1	1
67	4	5	4
68	5	5	5
69	5	5	5
70	3	5	5
71	4	4	4
72	4	4	4
73	5	4	5
74	3	4	5
75	5	5	5
76	4	5	5
77	4	4	4
78	5	4	4
79	3	4	5
80	4	5	5
81	4	4	4
82	5	5	4
83	1	5	5
84	5	3	3
85	5	5	5
86	5	4	5
87	4	4	4
88	3	3	4
89	5	5	5
90	4	5	5

91	4	4	4
92	4	4	5
93	4	4	4
94	4	5	5
95	5	5	5
96	4	4	4
97	5	5	5
98	4	4	4
99	4	5	4
100	4	4	4

Datos de color, olor y sabor de los 100 panelistas del tratamiento 3.
Nieto, 2024

Kruskal-Wallis rank sum test

data: x and group

Kruskal-Wallis chi-squared = 1.455, df = 3, p-value = 0.69

Comparison of x by group
(Bonferroni)

Col Mean-			
Row Mean	T0	T1	T2
T1	0.828921		
	1.0000		
T2	1.141758	0.312837	
	0.7607	1.0000	
T3	0.452670	-0.376250	-0.689087
	1.0000	1.0000	1.0000

alpha = 0.05

Reject Ho if p <= alpha/2

Figura 47. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de color
Nieto, 2024

```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: x and group
Kruskal-Wallis chi-squared = 3.8455, df = 3, p-value = 0.28

                                Comparison of x by group
                                (Bonferroni)
Col Mean-|
Row Mean |          T0          T1          T2
-----+-----
  T1 |    1.144878
      |    0.7568
      |
  T2 |   -0.164778   -1.309656
      |    1.0000    0.5709
      |
  T3 |   -0.771820   -1.916698   -0.607042
      |    1.0000    0.1658    1.0000

alpha = 0.05
Reject Ho if p <= alpha/2

```

Figura 48. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de olor Nieto, 2024

```

Kruskal-Wallis rank sum test

data: x and group
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.5342, df = 3, p-value = 0.67

                                Comparison of x by group
                                (Bonferroni)
Col Mean-|
Row Mean |          T0          T1          T2
-----+-----
  T1 |    0.433034
      |    1.0000
      |
  T2 |   -0.635904   -1.068939
      |    1.0000    0.8553
      |
  T3 |   -0.569516   -1.002551    0.066387
      |    1.0000    0.9482    1.0000

alpha = 0.05
Reject Ho if p <= alpha/2

```

Figura 49. Prueba de comparaciones de Dunn - Bonferroni parámetro de sabor Nieto, 2024