Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2026,
Volumen 10, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i5

APLICACIÓN DE LA FERMENTACIÓN LÁCTICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO (THEOBROMA CACAO L.) COMO ESTRATEGIA DE BIOCONSERVACIÓN DE RÁBANO (RAPHANUS SATIVUS L.)

APPLICATION OF LACTIC ACID FERMENTATION OF COCOA (THEOBROMA CACAO L.) MUCILAGE AS A BIOCONSERVATION STRATEGY FOR RADISH (RAPHANUS SATIVUS L.)

Cinthya Elizabeth Zapata Zambrano
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Jonathan Steven Párraga Maquilon
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Jefferson Marcelo Párraga Maquilon
Universidad Técnica Estatal de Quevedo

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i5.26165

Aplicación de la fermentación láctica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) como estrategia de bioconservación de rábano (*Raphanus sativus* L.)

Cinthya Elizabeth Zapata Zambrano[1]
cinthya.zapata2015@uteq.edu.ec
https://orcid.org/0000-0001-5975-549X
Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
Facultad de Posgrado Estudiante de Maestría en Biotecnología Agropecuaria
Ecuador

Jonathan Steven Párraga Maquilon
jonathan.parraga2016@uteq.edu.ec
https://orcid.org/0000-0002-1516-3537
Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
Facultad de Posgrado Estudiante de Maestría en Biotecnología Agropecuaria
Ecuador

Jefferson Marcelo Párraga Maquilon
Jefferson.parraga2015@uteq.edu.ec
https://orcid.org/0009-0005-4828-4190
Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
Facultad de Posgrado Estudiante de Maestría en Biotecnología Agropecuaria
Ecuador

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la fermentación láctica del mucílago de *Theobroma cacao* L. en la elaboración de conservas de *Raphanus sativus* L. (rábano), como alternativa de bioconservación. Se aplicó un diseño experimental trifactorial (A × B × C), donde A correspondió al tipo de ácido acético (con especias y blanco), B a la concentración de mucílago de cacao (5 y 10 %) y C a la concentración de cloruro de sodio (7 y 10 %). La combinación de factores originó ocho tratamientos con tres réplicas, además de dos controles, obteniéndose 26 unidades experimentales. El análisis estadístico se realizó mediante Excel e InfoStat/Estudiantil, utilizando la prueba de Tukey al 95 % de confianza para establecer diferencias significativas. Los análisis fisicoquímicos del mejor tratamiento, evaluado después de dos y cuatro meses de conservación, presentaron valores de pH de 4,13 y 4,00; densidad de 1,06 g/mL; turbidez de 5,08 y 4,45 NTU; salinidad de 4,80 y 4,10 °Brix; cenizas de 5,32 y 5,35 %, y humedad de 93,82 y 85,22 %, respectivamente. Los resultados cumplieron con los parámetros del Código de Regulaciones Federales y Codex Stan 260-2007. Los análisis microbiológicos evidenciaron ausencia de Salmonella y E. coli, mientras que las bacterias ácido-lácticas (BAL) superaron los criterios establecidos. La evaluación sensorial determinó como mejor tratamiento el T5, compuesto por ácido acético blanco, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio. La caracterización morfológica y molecular identificó BAL con capacidad acidificante y potencial conservador en el producto final.

Palabras claves: Bacterias ácido lácticas, ácido acético, bioconservación, análisis morfológico, análisis molecular

[1] Autor principal
Correspondencia: cinthya.zapata2015@uteq.edu.ec

Application of lactic acid fermentation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) mucilage as a bioconservation strategy for radish (*Raphanus sativus* L.)

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the lactic fermentation of Theobroma cacao L. mucilage in the production of Raphanus sativus L. (radish) preserves as a bioconservation alternative. A three-factor experimental design (A × B × C) was applied, where A corresponded to the type of acetic acid (spiced and white), B to the cocoa mucilage concentration (5% and 10%), and C to the sodium chloride concentration (7% and 10%). The combination of factors resulted in eight treatments with three replicates, plus two controls, yielding 26 experimental units. Statistical analysis was performed using Excel and InfoStat/Estudiantil, employing the Tukey test at a 95% confidence level to determine significant differences. Physicochemical analyses of the best treatment, evaluated after two and four months of storage, showed pH values of 4.13 and 4.00; density of 1.06 g/mL; turbidity of 5.08 and 4.45 NTU; salinity of 4.80 and 4.10 °Brix; ash content of 5.32% and 5.35%; and moisture content of 93.82% and 85.22%, respectively. The results met the parameters of the Code of Federal Regulations and Codex Stan 260-2007. Microbiological analyses showed an absence of Salmonella and E. coli, while lactic acid bacteria (LAB) counts exceeded established criteria. Sensory evaluation identified treatment T5 composed of white acetic acid, 5% mucilage, and 7% sodium chlorideas the best treatment. Morphological and molecular characterization identified LAB with acidifying capacity and preservative potential in the final product.

Keywords: Lactic acid bacteria, acetic acid, biopreservation, morphological analysis, molecular analysis

Artículo recibido 09 agosto 2026
Aceptado para publicación: 16 septiembre 2026

INTRODUCCIÓN

Los principales países productores de cacao, entre ellos Costa de Marfil y Ghana, concentran aproximadamente el 76 % de las exportaciones mundiales, mientras que los países latinoamericanos participan únicamente con alrededor del 17 %. Los mayores consumidores y compradores de este producto corresponden principalmente a países desarrollados, donde el cacao es destinado, en su mayoría, a la elaboración de productos derivados, especialmente chocolate (Gómez *et al*., 2019). No obstante, resulta limitado considerar al cacao únicamente como materia prima para este propósito, puesto que se ha demostrado que contiene componentes con importantes propiedades nutricionales y funcionales, entre ellos el mucílago de cacao (Vergara *et al*., 2022).

De acuerdo con Sánchez *et al*. (2019), aproximadamente el 81 % de los productores de cacao no aprovecha el mucílago generado durante el procesamiento del fruto, lo que representa un desperdicio cercano a 70 litros por cada tonelada de cacao. En países como Brasil, Costa Rica y Colombia, este subproducto ha comenzado a emplearse en la elaboración de diferentes productos alimenticios, evidenciando su potencial para generar valor agregado. Esta situación representa una oportunidad poco aprovechada en Ecuador, especialmente en relación con el uso eficiente de los recursos agroindustriales. Entre las principales causas del desperdicio del mucílago en el país se encuentran la falta de conocimiento, que representa el 72 %, seguida del desinterés con un 22 % y la falta de innovación con un 6 % (Arciniega y Espinoza, 2020). Por sus características, el mucílago puede contribuir a la conservación de alimentos mediante procesos de fermentación láctica, debido a que proporciona condiciones favorables para el desarrollo de bacterias ácido-lácticas beneficiosas (Benavides, 2019).

La fermentación láctica se ha consolidado como una alternativa biotecnológica de interés debido a su capacidad para mejorar las características y calidad de los alimentos (Wang *et al*., 2021), así como para prolongar su vida útil (Zapaśnik *et al*., 2022). Además, esta técnica favorece el aprovechamiento de subproductos provenientes de la actividad agroindustrial y permite emplear procesos biotecnológicos de origen natural (Olicón *et al.*, 2022). De igual manera, puede contribuir al mejoramiento de las características organolépticas y nutricionales de los productos obtenidos (Borges *et al*, 2022). En este contexto, el mucílago de cacao constituye una materia prima con potencial para ser incorporada en procesos de conservación de alimentos. Según Abedi y Bagher (2020), las bacterias ácido-lácticas

(BAL) generan ácido láctico como producto de su metabolismo, provocando una disminución del pH y, por consiguiente, la formación de un medio ácido que dificulta el desarrollo de microorganismos patógenos y deteriorantes.

Por otra parte, el rábano es una hortaliza que se caracteriza por su versatilidad, valor nutricional y contenido de compuestos con actividad antioxidante, los cuales pueden generar efectos beneficiosos para la salud (Manivannan *et al*, 2019). A pesar de estas características, su comercialización como producto en conserva es poco frecuente y su vida útil se encuentra condicionada por diversos factores, tanto internos como externos, entre ellos la temperatura y la humedad (Franco, 2022). Estas condiciones pueden favorecer el crecimiento de microorganismos responsables del deterioro del alimento, ocasionando modificaciones en su textura y disminución de la firmeza, además de alteraciones en el color, sabor y aroma (Alzamora *et al*., 2004).

En este contexto, la presente investigación tuvo como finalidad evaluar la fermentación láctica del mucílago de *Theobroma cacao* L. aplicado en la elaboración de conservas de *Raphanus sativus* L. (rábano), como una alternativa orientada a prolongar el período de conservación del producto. Una vez elaborada la conserva de rábano, se efectuaron análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales, con el propósito de determinar sus características y condiciones de calidad. Los resultados obtenidos mediante estos análisis permitieron generar información relevante para contribuir al mejoramiento de la calidad, estabilidad y seguridad alimentaria del producto final.

METODOLOGÍA

La conserva de rábano y los análisis de este estudio se ejecutaron en los correspondientes laboratorios de suelos, bromatología, química básica, biotecnología y rumiología, que se encuentra ubicado en la sede de la Universidad Técnica del Estado de Quevedo, campus “La María”, en el km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme, recinto San Felipe, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos.

Análisis microbiológicos las concentraciones de mucílago de cacao al 5 % y 10 % que promuevan la bioconservación

Mohos y levaduras

Para el control microbiológico del líquido de gobierno se empleó el medio de cultivo TM 344 – Potato Dextrose Agar (PDA). Previo a su utilización, el medio fue esterilizado en autoclave a una temperatura

de 118 °C durante 20 minutos. Para efectuar la siembra microbiológica, se prepararon dos diluciones a partir de la muestra madre, posteriormente se inocularon 20 µL de cada dilución en placas Petri correspondientes a los 24 tratamientos y dos controles. Las placas fueron sometidas a un período de incubación de 48 horas a una temperatura de 25 °C. Finalmente, el recuento de las colonias desarrolladas se realizó de acuerdo con los criterios establecidos en la norma NTE INEN 1529-10 (1998), denominada "Control microbiológico de mohos y levaduras viables en alimentos. Recuento en placa por siembra en profundidad".

Bacterias ácido-lácticas

Para la evaluación microbiológica del líquido de gobierno se empleó el medio de cultivo TM 344 – Lactobacillus MRS Agar. El medio fue previamente esterilizado en autoclave a una temperatura de 118 °C durante 20 minutos. El análisis se realizó en los 24 tratamientos y dos controles establecidos en la investigación. Para efectuar la siembra microbiológica, se prepararon dos diluciones a partir de la muestra madre, de las cuales se inocularon 20 µL en las respectivas placas Petri. Posteriormente, las placas fueron incubadas durante 72 horas a una temperatura de 37 °C para determinar la carga microbiológica. El procedimiento y recuento microbiológico se efectuaron tomando como referencia la normativa NTE INEN 1529-10 (1998), correspondiente al "Control microbiológico de mohos y levaduras viables en alimentos. Recuento en placa por siembra en profundidad".

Bacterias acido láctica

Se llevó a cabo la determinación microbiológica de bacterias ácido lácticas utilizando el medio de cultivo Lactobacillus MRS Agar (MRS Agar), previamente esterilizado en autoclave a 118 °C durante 20 minutos. Para ello, se dispusieron 24 placas Petri, en las cuales se vertió el medio de cultivo y se dejó solidificar durante 15 minutos dentro de una cabina de flujo laminar, con el propósito de mantener condiciones asépticas. Posteriormente, se inocularon 20 µL de la muestra madre en cada placa Petri. La muestra fue distribuida de forma homogénea sobre la superficie del medio mediante un asa de vidrio, realizando un extendido uniforme. Las placas fueron selladas con papel Parafilm, rotuladas adecuadamente y colocadas en incubación a 37 °C. Luego de 72 horas de incubación, se procedió a efectuar el recuento de colonias, con el fin de obtener los resultados del análisis, siguiendo lo establecido en la norma NTE INEN 1529-10 (1998).

Salmonella

Para el análisis microbiológico del líquido de gobierno se empleó el medio de cultivo TM 386 – SS Agar (*Salmonella Shigella* Agar). El medio de cultivo fue esterilizado previamente en autoclave a una temperatura de 118 °C durante 20 minutos. El ensayo se efectuó en los 24 tratamientos y dos controles establecidos para la investigación. Para realizar la siembra, se prepararon dos diluciones a partir de la muestra madre, inoculando 20 µL de cada dilución en las respectivas placas Petri. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas con la finalidad de determinar la carga microbiológica. El recuento de microorganismos se efectuó tomando como referencia la norma NTE INEN 1529-15 (2009), correspondiente al procedimiento de control microbiológico establecido para el análisis de alimentos.

Escherichia coli

Para la evaluación microbiológica del líquido de gobierno se empleó el medio de cultivo TM 336 – EMB Agar. El medio fue previamente esterilizado en autoclave a una temperatura de 118 °C durante 20 minutos. El análisis se efectuó en los 24 tratamientos y dos controles considerados en el estudio. Para la siembra microbiológica se prepararon dos diluciones a partir de la muestra madre, inoculando 20 µL en las respectivas placas Petri. Posteriormente, las placas fueron incubadas a una temperatura de 36 °C durante 24 horas, con el propósito de determinar la carga microbiológica presente en las muestras. Finalmente, el recuento de microorganismos se realizó de acuerdo con los lineamientos establecidos en la norma NTE INEN 1529-8 (1990), correspondiente al "Control microbiológico de mohos y levaduras viables en alimentos. Recuento en placa por siembra en profundidad".

Características sensoriales de los tipos de ácido acético (blanco y/o especias) presentes en la conserva de rábano

Para la evaluación sensorial de las 24 muestras de rábano en conserva se aplicó una encuesta como instrumento de investigación, con la finalidad de determinar el tratamiento con mayor aceptación en función del uso de ácido acético blanco y/o especias. La evaluación consideró cinco atributos sensoriales del producto final: color, olor, textura, sabor y aceptabilidad.

En cuanto al color, se valoraron características como apropiado, uniforme, con buen brillo, opaco y poco típico. Para el olor, se consideraron las categorías natural y equilibrado, fermentado normal, ligeramente

plano, ligeramente alterado y poco típico. La textura se evaluó mediante las características pegajoso, blando, semiblando, poco fibroso y fibroso. Respecto al sabor, se establecieron las categorías ácido, ligeramente ácido, neutro, astringente (amargor) y poco astringente. Finalmente, la aceptabilidad del producto se determinó mediante una escala que comprendió las opciones: me gusta mucho, me gusta poco, ni me gusta ni me disgusta, me disgusta poco y me disgusta mucho. Estos parámetros permitieron identificar el tratamiento que presentó las características sensoriales más favorables y un mayor nivel de aceptación por parte de los evaluados.

Identificación molecular

El aislamiento de las bacterias ácido-lácticas se realizó en el laboratorio de Biotecnología, donde inicialmente se recolectó la muestra y se efectuó su siembra en el medio de cultivo TM 344 – Lactobacillus MRS Agar. Posteriormente, mediante la técnica de estriado, se llevó a cabo el proceso de purificación de las bacterias ácido-lácticas obtenidas. Una vez aisladas y purificadas, las bacterias fueron colocadas en cajas Petri y enviadas al laboratorio IDGEN para realizar la extracción de ADN y su posterior identificación molecular. El procedimiento empleado para estas etapas se desarrolló de acuerdo con la metodología que se describe a continuación:

- Extracción de ADN: se utilizó aproximadamente 100 mg de la muestra para extraer el ADN mediante métodos convencionales.
- Evaluación de la Calidad del ADN: La integridad y calidad del ADN extraído se evaluaron utilizando espectrofotometría de micro volúmenes y visualización en gel de agarosa.
- Dilución del ADN: El ADN se diluyó hasta una concentración de aproximadamente 20 ng/µL para su posterior amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- Amplificación por PCR: Se realizó la amplificación del ADN utilizando los primers 16S: 27F/1492R.
- Purificación del Producto de PCR: El producto de la PCR fue purificado antes de la secuenciación mediante el método Sanger.
- Secuenciación: Las secuencias obtenidas fueron limpiadas y ensambladas usando programas bioinformáticos.

- Identificación Taxonómica: La secuencia ensamblada de la muestra se comparó con la base de datos de nucleótidos del NCBI para su identificación taxonómica.

Diseño experimental y análisis estadístico

Diseño experimental

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en la investigación, se estableció un arreglo factorial trifactorial A × B × C, considerando dos niveles para cada uno de los factores, tal como se presenta en la Tabla 4. Para el desarrollo de los tres primeros objetivos se realizaron tres repeticiones, conformadas por ocho unidades experimentales y dos controles, de acuerdo con lo indicado en la Tabla 1, en la cual se detallan las diferentes combinaciones experimentales evaluadas. En cuanto al cuarto objetivo, no se aplicó un diseño experimental, debido a que se realizó la evaluación de las características cualitativas correspondientes a la muestra que presentó los mejores resultados.

Factores de Estudio

Tabla 1. Factores que intervienen en el estudio.

Factores		
A: Tipo de ácido acético	**a_0:** Con especias	**a_1:** Blanco
B: Concentración de mucílago	**b_0:** 5%	**b_1:** 10 %
C: Concentración de cloruro de sodio	**c_0:** 7%;	**c_1:** 10 %

Tabla *2*. Combinación de los tratamientos propuestos para la elaboración de la conserva.

N	**SIMBOLOGÍA**	**DESCRIPCIÓN**
1	$a_0\, b_0\, c_0$	Ácido acético con especies + Concentración de mucílago 5 % + Concentración de cloruro de sodio 7 %
2	$a_0\, b_0\, c_1$	Ácido acético con especies + Concentración de mucílago 5 % + Concentración de cloruro de sodio 10 %
3	$a_0\, b_1\, c_0$	Ácido acético con especies + Concentración de mucílago 10 % + Concentración de cloruro de sodio 7 %
4	$a_0\, b_1\, c_1$	Ácido acético con especies + Concentración de mucílago 10 % + Concentración de cloruro de sodio 10 %

5	$a_1 b_0 c_0$	Ácido acético blanco + Concentración de mucílago 5 % + Concentración de cloruro de sodio 7 %
6	$a_1 b_0 c_1$	Ácido acético blanco + Concentración de mucílago 5 % + Concentración de cloruro de sodio 10 %
7	$a_1 b_1 c_0$	Ácido acético blanco + Concentración de mucílago 10 % + Concentración de cloruro de sodio 7 %
8	$a_1 b_1 c_1$	Ácido acético blanco + Concentración de mucílago 10 % + Concentración de cloruro de sodio 10 %
9	Control 1	Ácido acético con especias + Sin adición del mucílago de cacao + Concentración de cloruro de sodio 7 %
10	Control 2	Ácido acético blanco + Sin adición del mucílago de cacao + Concentración de cloruro de sodio 10 %

Análisis estadístico

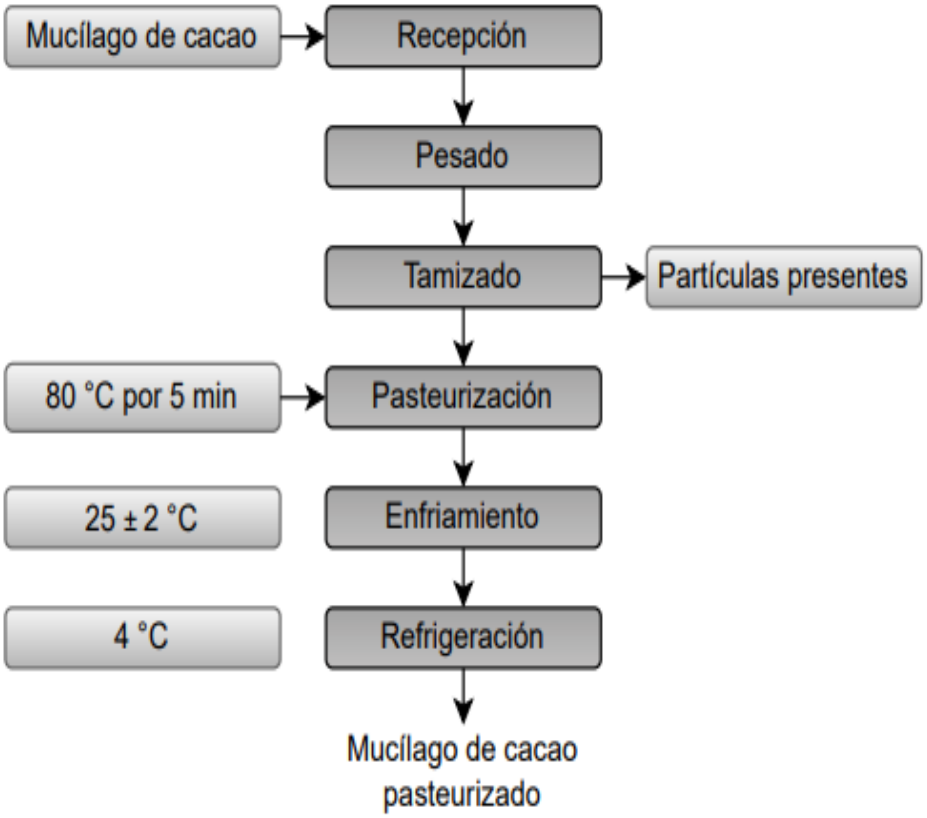
Los datos cuantitativos obtenidos fueron procesados mediante estadística descriptiva, utilizando como medidas de análisis las medias y el coeficiente de variación. Posteriormente, los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y, en aquellos casos donde se identificaron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey con un nivel de confianza del 95 %. Para el procesamiento y análisis estadístico se utilizaron los programas InfoStat/Studiantil, versión 2020E, y Microsoft Excel. Los datos correspondientes a los diferentes tratamientos fueron tabulados y analizados de acuerdo con los resultados obtenidos en las evaluaciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales, lo que permitió organizar, interpretar y comparar los resultados de la investigación.

Obtención del mucílago de cacao

El procedimiento inició con la obtención de la materia prima principal, correspondiente al mucílago de cacao, recolectado en la propiedad agrícola denominada “Voluntad de Dios”, ubicada en la zona de Fumisa, específicamente en la vía Camarones, recinto Río Chila. La sustancia viscosa presente en las mazorcas de cacao fue extraída y depositada en recipientes previamente esterilizados. Para la recolección se utilizaron frutos en estado de maduración III, identificados por presentar una cáscara de tonalidad característica y un sonido hueco al ser golpeados, manteniendo la materia prima a una temperatura aproximada de 28 °C.

Posteriormente, el mucílago obtenido fue pesado y sometido a un proceso de tamizado, con el propósito de retirar posibles impurezas que pudieran interferir en las etapas posteriores de elaboración. A continuación, se realizó la pasteurización de la materia prima a una temperatura de 80 °C durante 5 minutos. Una vez finalizado este tratamiento, el producto fue enfriado hasta alcanzar una temperatura de 25 °C y, finalmente, se almacenó bajo condiciones de refrigeración a 4 °C para conservar sus características y mantener su calidad.

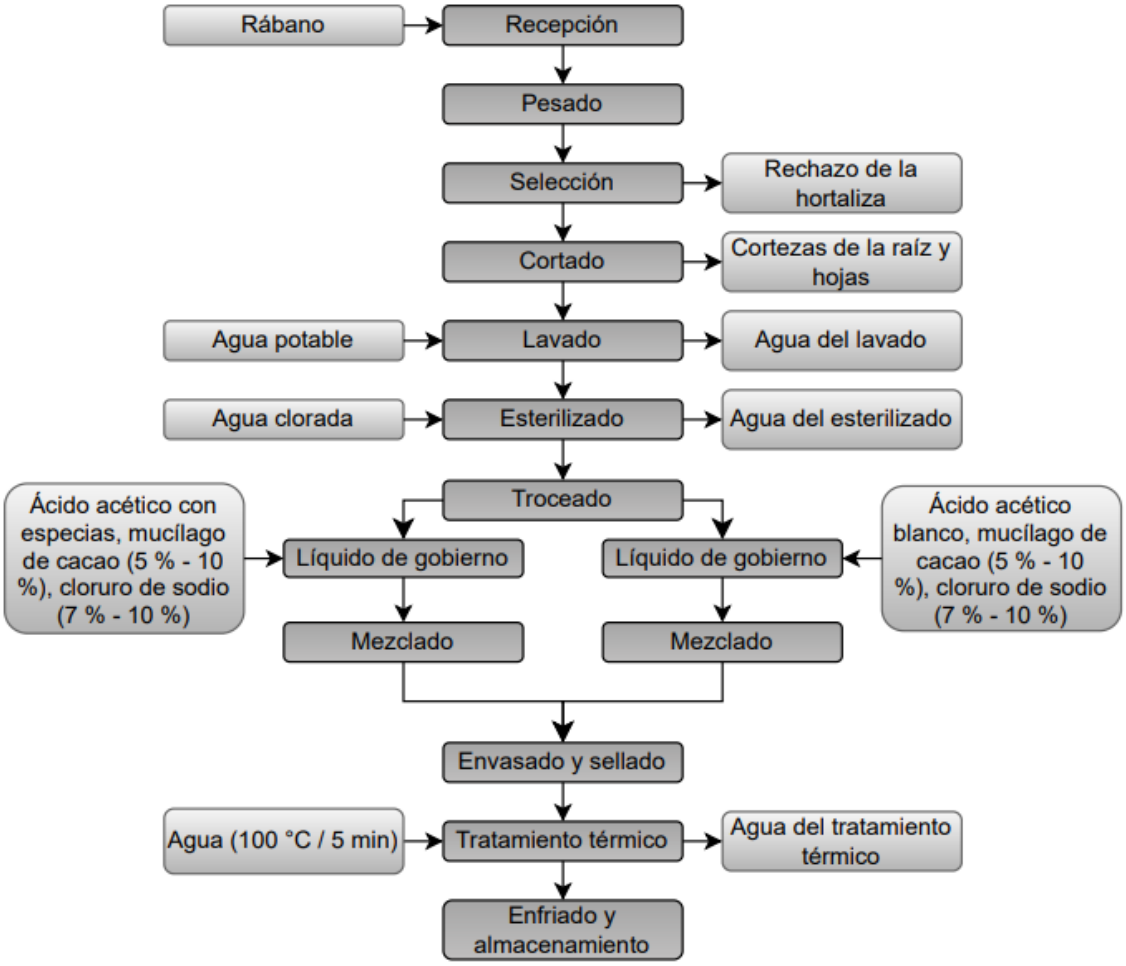
Figura 1 . Diagrama de flujo del pasteurizado del mucílago de T. cacao L



Descripción del proceso de elaboración de la conserva de rábano con adición del mucílago de cacao

- **Recepción:** se receptó los rábanos del mercado mayorista municipal de Santo Domingo de los Tsáchilas provenientes de la provincia de Cotopaxi y el mucílago pasteurizado.
- **Pesado:** se procedió a pesar la materia prima.
- **Selección:** se escogió las hortalizas en buenas condiciones para seguir en el proceso.
- **Cortado:** se separó las hojas y la corteza de las raíces.
- **Lavado:** se buscó eliminar el contenido de impurezas que llevan adheridas las hortalizas.
- **Esterilizado:** con el uso de una solución clorada se efectuó el esterilizado con el propósito de eliminar microorganismos presentes en la corteza de la hortaliza.
- **Troceado:** se procedió a realizar cortes con diámetro de 20 mm de longitud y no menos de 10mm de ancho para las cortadas longitudinalmente y 10 mm de espesor para las rodajas.
- **Líquido de gobierno:** para cada tratamiento se cumplió su respectiva combinación de componentes con el tipo de ácido acético blanco y/o especias, el porcentaje de mucílago de cacao (5 % - 10%) y el porcentaje de cloruro sodio (7%-10%).
- **Mezcla:** se ejecutó el acondicionamiento de la materia prima e insumos.
- **Envasado y sellado:** en el proceso de envasado, se llenó el 90% del envase con el producto preparado. Para el sellado, se utilizó una tapa de tipo rosca. Dado que los envases se cerraron a presión atmosférica, sería difícil que resistieran la presión interna generada durante el tratamiento térmico. Por lo tanto, fue necesario eliminar el aire para obtener un vacío parcial que asegurara la integridad del envase y la conservación adecuada del producto.
- **Tratamiento térmico:** con el uso de agua potable se llevó a cabo mediante baño maría a una temperatura de 100 °C durante 5 minutos. Posteriormente, se procedió a enfriar gradualmente los envases para evitar cambios térmicos abruptos que puedan ocasionar fatiga en los envases debido a sobrepresiones.
- **Almacenamiento:** se realizó a una temperatura de 24±2 °C.

Figura 2. Flujograma del proceso de bioconservación del rábano con adición de mucílago de cacao



RESULTADOS

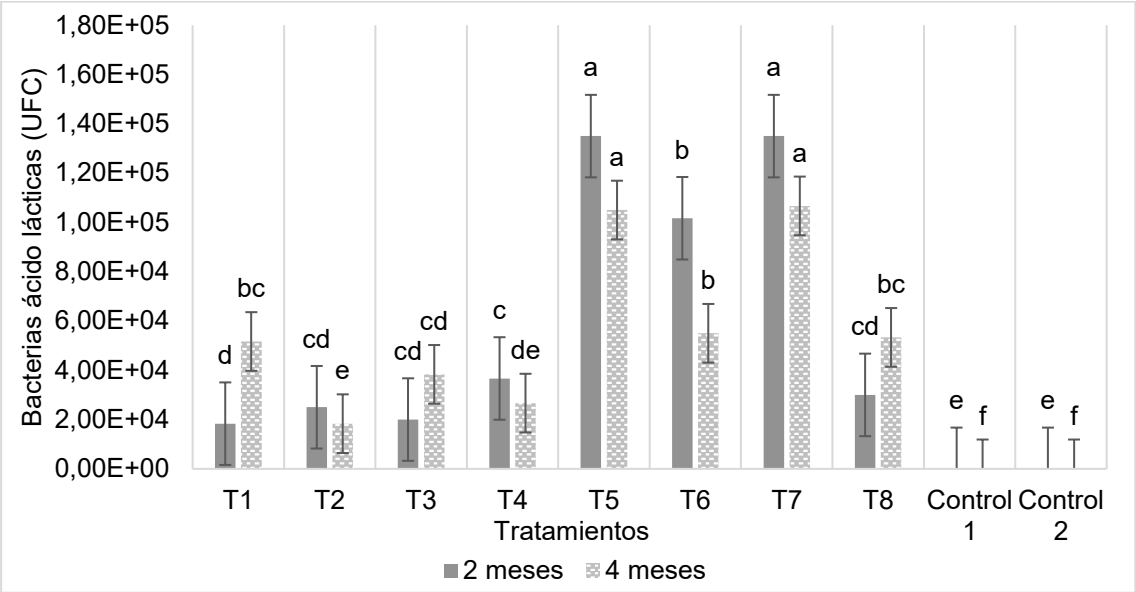
Análisis microbiológicos para validar las concentraciones de mucílago de cacao al 5% y 10 % que promuevan la bioconservación

Bacterias ácido lácticas

En la Figura 3 se evidencia la existencia de diferencias significativas durante los dos periodos de evaluación, correspondientes a los dos meses ($F = 240.20$; $P = 0.0001$) y cuatro meses de estudio ($F = 130.83$; $P = 0.0001$). Durante el primer y segundo mes se registraron las mayores concentraciones de bacterias ácido lácticas en el tratamiento T5, compuesto por ácido acético blanco, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, cuyos valores fueron de 1.35×10^5 y 1.05×10^5, respectivamente. De igual manera, el tratamiento T7, conformado por ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, presentó valores de 1.35×10^5 y 1.07×10^5 en los mismos periodos de evaluación. En contraste,

los tratamientos control no presentaron presencia detectable de bacterias ácido lácticas en su composición.

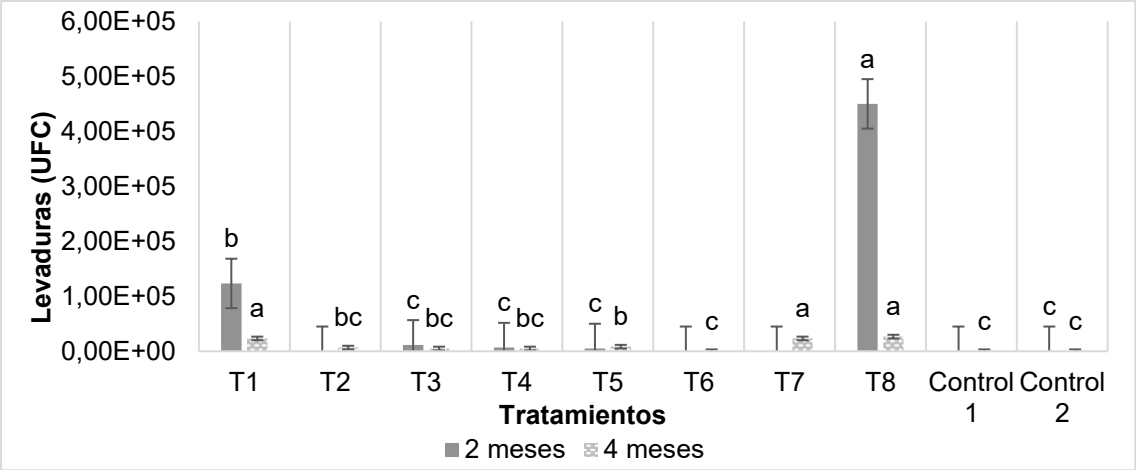
Figura 3. Recuento microbiológico de bacterias ácido lácticas en el líquido de gobierno



Levaduras

En la Figura 4 se presentan los resultados correspondientes al conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de levaduras, donde se evidencian diferencias significativas tanto a los dos meses ($F = 2700.99$; $P = 0.0001$) como a los cuatro meses de conservación ($F = 49.85$; $P = 0.0001$). Durante el segundo mes de almacenamiento, el tratamiento T8, constituido por ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 10 % de cloruro de sodio, registró la mayor presencia de levaduras, alcanzando un valor de 4.50×10^5 UFC. Por otro lado, al cuarto mes de conservación, los tratamientos que presentaron los mayores recuentos fueron T1, correspondiente a ácido acético con especies, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, con 2.33×10^4 UFC; T7, conformado por ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, con 2.33×10^4 UFC; y T8, compuesto por ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 10 % de cloruro de sodio, con 2.67×10^4 UFC. En contraste, los tratamientos control no presentaron crecimiento de levaduras, registrándose ausencia total de UFC durante el periodo de evaluación.

Figura 4. Número de células levaduriforme presentes en el líquido de gobierno



Mohos, *Echerichia colli* y *Salmonella*

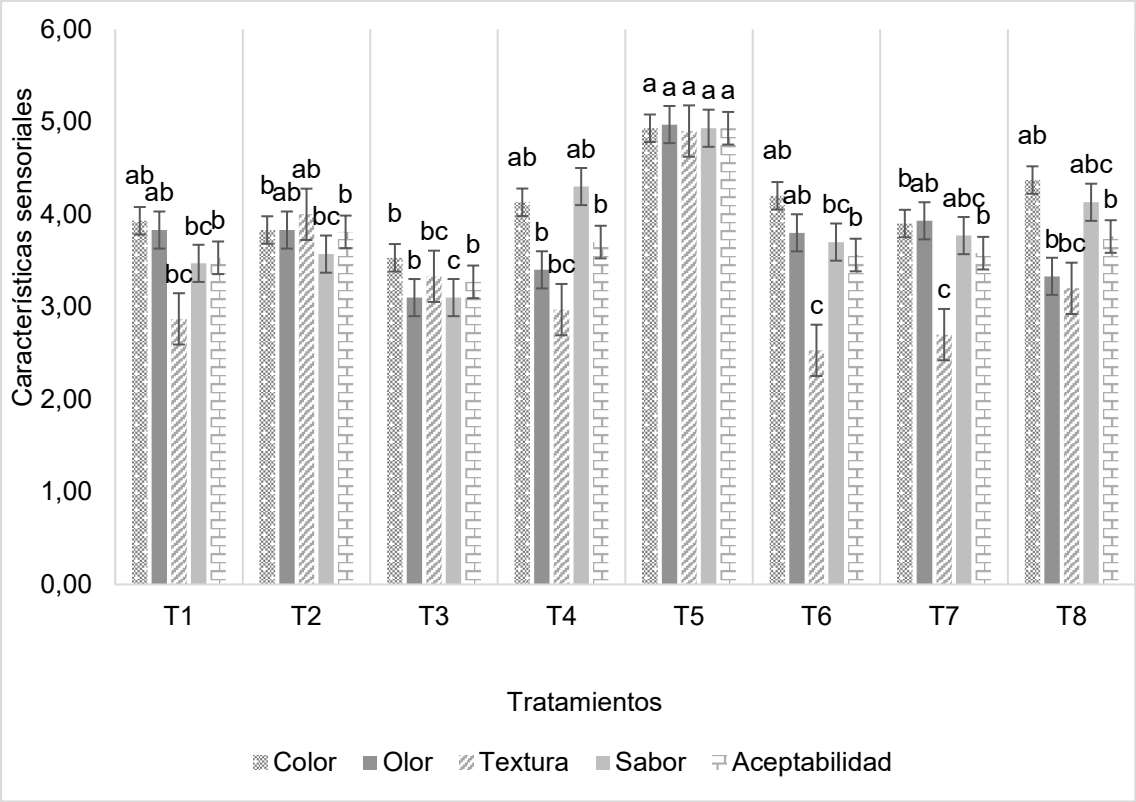
No existió presencia de estos microorganismos en el líquido de gobierno, por lo tanto, no requirió representación gráfica dentro del estudio.

Análisis del tipo de ácido acético (blanco y/o especias) que desarrolle mejores características sensoriales en el rábano

Los resultados del análisis sensorial de los rábanos sometidos al proceso de bioconservación, presentados en la Figura 5, evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados para los atributos de color ($F = 4.04$; $P = 0.0099$), olor ($F = 3.42$; $P = 0.0196$), textura ($F = 9.57$; $P = 0.0001$), sabor ($F = 5.50$; $P = 0.0023$) y aceptabilidad ($F = 11.69$; $P = 0.0001$).

El tratamiento T5, correspondiente a la formulación con ácido acético blanco, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, presentó un comportamiento superior respecto a los demás tratamientos, al alcanzar las mayores puntuaciones en los atributos sensoriales evaluados: color (4.93), olor (4.97), textura (4.90), sabor (4.93) y aceptabilidad (4.93). Estos resultados evidencian que la formulación T5 proporcionó las características sensoriales más favorables, reflejándose en una mayor valoración por parte de los panelistas y, consecuentemente, en un mejor nivel de aceptación del producto.

Figura 5. Características sensoriales de la conserva de rábano



Identificación morfológica y molecular las bacterias ácido lácticas de la conserva

Identificación morfológica de BAL proveniente de la fermentación de la conserva de rábano

La identificación morfológica de las bacterias ácido-lácticas aisladas durante la fermentación de la conserva de rábano permitió obtener los resultados presentados en la Tabla 3. La caracterización de estas bacterias constituye un elemento relevante para establecer sus principales características morfológicas y contribuir a la comprensión de la población microbiana asociada al proceso fermentativo de la conserva de rábano.

Tabla 3. Caracterización morfológica de las bacterias ácido lácticas aisladas de la conserva de rábano

BAL	
Tamaño	3 mm
Forma	Irregular
Borde	Ondulado
Transparencia	Opaca
Brillo	Brillante

Color	No pigmentada-Blanca
Textura	Lisa
Elevación	Elevado
Consistencia	Mucoide

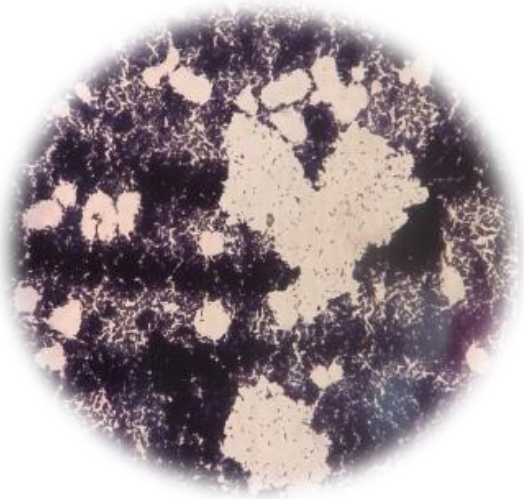
Tinción de Gram

Las bacterias ácido-lácticas identificadas en el proceso fermentativo de la conserva de rábano presentaron características correspondientes a microorganismos Gram positivos, con morfología celular bacilar, tal como se evidencia en la Tabla 4. Mediante la tinción de Gram, estas bacterias mostraron una coloración violeta característica (Figura 6), debido a la capacidad de su pared celular para retener el complejo cristal violeta-yodo. Esta respuesta se encuentra asociada a la presencia de una pared celular con un elevado contenido de peptidoglicano, característica distintiva de las bacterias Gram positivas.

Tabla 4. Resultados de pruebas microbiológicas de identificación bacteriana

Procedencia	**Características**
Conserva de rábano (Líquido de gobierno)	Gram positivo - Bacilo

Figura 6. Tinción de Gram de las BAL presentes en el líquido de gobierno



Identificación molecular de bacterias ácido-lácticas provenientes del mucílago de cacao e inoculadas en conservas de rábano

La Tabla 5 presenta los resultados obtenidos mediante la identificación molecular de las bacterias ácido-lácticas inoculadas en la conserva de rábano. El análisis molecular permitió identificar los aislados como *Lactiplantibacillus plantarum,* alcanzando un porcentaje de identidad genética del 100 %, lo que evidencia una elevada correspondencia entre las secuencias analizadas y la especie identificada.

La identificación de *Lactiplantibacillus plantarum* constituye un resultado de importancia para la microbiología de alimentos, debido a que permite determinar con precisión la composición microbiana asociada al proceso fermentativo de la conserva de rábano. Asimismo, la caracterización de esta especie aporta información relevante para evaluar su participación en la fermentación y su potencial aplicación en procesos de elaboración y conservación de alimentos fermentados, en los cuales las bacterias ácido-lácticas cumplen funciones importantes en el desarrollo de las características del producto y en su estabilidad microbiológica.

Tabla 5. Identificación molecular de bacterias ácido lácticas de inoculadas en las conservas de rábano en la caracterización genética de *L. plantarum* mediante análisis filogenético.

Muestra	Organismo	Fragmento	% de identidad	N° Accesión
BAL CR1	*Lactiplantibacillus plantarum*	16S	100	CP032466.1

Discusión

En relación con las bacterias ácido-lácticas (BAL), los mayores recuentos se registraron en los tratamientos formulados con ácido acético blanco, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, así como en aquellos que contenían ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio. Ambos tratamientos alcanzaron 1.35×10^5 UFC a los dos meses, mientras que al cuarto mes los recuentos se situaron entre 1.05×10^5 y 1.06×10^5 UFC. Estos valores superaron el límite establecido por la norma sanitaria DIGESA (2003), que señala un máximo de 10^3 UFC de bacterias ácido-lácticas. La elevada presencia de BAL podría estar relacionada con las condiciones ácidas generadas durante la fermentación, las cuales favorecieron el desarrollo de microorganismos acidotolerantes. Asimismo, durante el periodo de conservación se observó una disminución de estas poblaciones, comportamiento que podría asociarse con el efecto inhibitorio ejercido por el cloruro de sodio y con la modificación progresiva de las condiciones fisicoquímicas del medio.

Respecto al recuento de levaduras, a los dos meses de conservación el tratamiento T8, constituido por ácido acético blanco, 10 % de mucílago y 10 % de cloruro de sodio, presentó la mayor concentración, con 4.50×10^5 UFC. A los cuatro meses, el tratamiento T1, formulado con ácido acético con especias, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, registró 2.33×10^4 UFC. Estos resultados exceden el límite establecido por la norma sanitaria DIGESA (2003), que determina un valor máximo permisible de 10^2 UFC. La presencia de levaduras podría estar asociada con su capacidad de tolerar condiciones ácidas y concentraciones elevadas de solutos, permitiendo su supervivencia durante el almacenamiento. En los tratamientos control no se detectó crecimiento de levaduras ni de bacterias ácido-lácticas, evidenciándose ausencia de UFC durante el periodo de evaluación.

En relación con la evaluación sensorial, se determinó la aceptabilidad del producto considerando los criterios de calidad establecidos para conservas vegetales. El tratamiento T5, compuesto por ácido acético blanco, 5 % de mucílago y 7 % de cloruro de sodio, presentó el mayor nivel de aceptación por parte de los evaluadores. Las puntuaciones obtenidas fueron de 4.93 para color, 4.97 para olor, 4.90 para textura, 4.93 para sabor y 4.93 para aceptabilidad. Estos resultados evidencian que la formulación T5 permitió obtener un producto con características sensoriales favorables y una mayor preferencia por parte del panel evaluador, manteniéndose dentro de los criterios de calidad considerados en el CODEX STAN 260 (2015).

Las bacterias ácido-lácticas presentan capacidad de adaptación y desarrollo en diferentes matrices alimentarias, particularmente en aquellas que contienen carbohidratos fermentables. Thamires et al. (2021) señalan que este grupo microbiano puede presentar morfología de cocos o bacilos, generalmente organizados en cadenas cortas, y se caracteriza por su naturaleza Gram positiva. Las características observadas en los aislados obtenidos en la presente investigación coincidieron con dichas descripciones, al presentar una morfología bacilar y reacción Gram positiva. Asimismo, las características morfológicas observadas fueron semejantes a las reportadas por Torres y Ogata (2021), quienes describieron colonias con apariencia irregular, ondulada y opaca, además de una textura mucoide. En el presente estudio también se observaron variaciones en la coloración de las colonias, predominando tonalidades blancas, blanco humo y beige.

Finalmente, la identificación molecular permitió determinar la presencia de *Lactiplantibacillus plantarum* en las muestras analizadas. Esta especie presenta interés tecnológico debido a su potencial como microorganismo biopreservante en matrices alimentarias. De acuerdo con Morante et al. (2023), L. plantarum presente en el mucílago de cacao puede producir metabolitos con actividad antimicrobiana, entre ellos bacteriocinas, capaces de limitar el desarrollo de determinados microorganismos y contribuir a la prolongación de la vida útil de los alimentos. De manera complementaria, Adiko et al. (2018) señalan el potencial de las bacterias ácido-lácticas como cultivos iniciadores para favorecer el control y desarrollo de procesos fermentativos, destacando su amplia utilización en la industria alimentaria para la elaboración de productos fermentados. Por tanto, la presencia de L. plantarum identificada en esta investigación respalda el potencial tecnológico del mucílago de cacao como componente de una estrategia de bioconservación del rábano.

CONCLUSIONES

Los resultados microbiológicos demostraron que la incorporación de mucílago de cacao en concentraciones de 7 % y 10 %, en combinación con ácido acético blanco, favoreció el desarrollo de bacterias ácido-lácticas en las conservas de rábano, registrándose valores superiores a los límites establecidos por la normativa sanitaria DIGESA. No obstante, durante el periodo de almacenamiento se evidenció una reducción progresiva de la población de estas bacterias, comportamiento que puede estar relacionado con el efecto ejercido por el cloruro de sodio presente en las formulaciones, debido a su capacidad para limitar el desarrollo de determinados microorganismos.

En la evaluación sensorial, el tratamiento T5, formulado con ácido acético blanco, 5 % de mucílago de cacao y 7 % de cloruro de sodio, obtuvo la mayor valoración por parte del panel de catadores. Esta formulación destacó por presentar características sensoriales favorables, relacionadas con una apariencia visual atractiva, aroma y sabor agradables, textura adecuada y un elevado nivel de aceptación general. Estos resultados permiten considerar al T5 como la formulación con mejor desempeño sensorial entre los tratamientos analizados.

Las bacterias ácido-lácticas asociadas al proceso de bioconservación presentaron características morfológicas correspondientes a colonias de aproximadamente 3 mm de tamaño, forma irregular, bordes ondulados, apariencia opaca, ausencia de pigmentación, coloración blanca, superficie lisa, elevación y consistencia mucoide. Mediante la caracterización microbiológica se determinó que los microorganismos presentaron reacción Gram positiva y morfología bacilar. Asimismo, el análisis molecular permitió identificar la especie Lactiplantibacillus plantarum, con un porcentaje de identidad genética del 100 %. Esta identificación proporciona información relevante sobre la población microbiana involucrada en el proceso de bioconservación y evidencia el potencial de esta bacteria para su aplicación en procesos tecnológicos de la industria alimentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abedi, E.; Bagher, S. 2020. Lactic acid production: a review. Journal of Food Processing and Preservation 44(10): e14774.

Alzamora, S. M.; Guerrero, S.; Vidales, S. L.; Nieto, A. B. 2004. Conservación de frutas y hortalizas por métodos combinados. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma, Italia.

Aguilar, S. 2005. Fórmula para el cálculo de la muestra en poblaciones finitas. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

Arciniega, J.; Espinoza, M. 2020. Aprovechamiento del mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) en la elaboración de bebidas y productos agroindustriales. Revista de Investigación Agropecuaria 8(2): 45-58.

Benavides, C. 2019. Bioprocesos y fermentación láctica aplicados a la conservación de alimentos. Editorial Limusa, México.

Borges, A.; Ferreira, C.; Silva, M. 2022. Application of lactic acid bacteria in food biopreservation. Food Control 133: 108590.

Franco, R. 2022. Fisiología poscosecha y factores de deterioro en hortalizas. Agronomía Mesoamericana 33(1): 112-125.

Gómez, L.; Pérez, R.; Torres, M. 2019. Mercado global del cacao y derivados: Oportunidades para América Latina. Revista Internacional de Comercio y Economía 15(3): 89-104.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1979. NTE INEN 388: Conservas vegetales. Determinación de sólidos en suspensión. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1990. NTE INEN 1529-8: Control microbiológico de alimentos. Determinación de Escherichia coli. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1998. NTE INEN 1529-10: Control microbiológico de mohos y levaduras viables en alimentos. Recuento en placa por siembra en profundidad. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2009. NTE INEN 1529-15: Control microbiológico de alimentos. Determinación de Salmonella. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. NTE INEN 391: Conservas vegetales. Jugos de frutas. Determinación de la densidad relativa. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. NTE INEN 401: Determinación de cenizas en conservas de vegetales. Quito, Ecuador.

INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2013. NTE INEN-ISO 1842: Determinación de la concentración del ion de hidrógeno (pH). Quito, Ecuador.

Manivannan, A.; Kim, J. H.; Kim, D. S.; Lee, E. S.; Lee, H. E. 2019. Deciphering the nutritional and bioactive potential of radish (Raphanus sativus L.). Frontiers in Plant Science 10: 344.

MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). 2018. Proyecto de Real Decreto por el que se establece la norma de calidad de las conservas vegetales. Madrid, España.

Olicón, A.; Hernández, G.; Ruiz, P. 2022. Subproductos agroindustriales como sustrato para procesos biotecnológicos. Biotecnología Aplicada 39(2): 201-215.

Roldán, A.; Martínez, E.; Castro, J. 2018. Evaluación fisicoquímica de vegetales acidificados bajo norma 21 CFR 114.3. Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos 26(1): 45-52.

Sánchez, H.; López, F.; Ramírez, M. 2019. Pérdidas y subaprovechamiento del mucílago de cacao en la agroindustria cacaotera. Agrociencia 53(4): 321-334.

Vergara, P.; Morales, C.; Suárez, L. 2022. Valor funcional y nutricional del mucílago de cacao. Journal of Food Science and Technology 59(8): 3100-3112.

Wang, Y.; Wu, J.; Lv, X.; Shi, X. 2021. Lactic acid fermentation as a tool for enhancing food quality and safety. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 20(4): 3412-3435.

Zapaśnik, A.; Sokołowska, B.; Bucka, M. 2022. Biopreservation strategies for extending shelf-life of fresh produce. Trends in Food Science & Technology 120: 15-28..