

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



Una Institución Adventista

Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado

Por:

Bach. Lenny Yoysy Flores Tique

Asesor:

Mg. Silvia Pilco Quesada

Lima, Abril de 2017

Cómo citar:

Estilo APA

Flores-Tique, Y. (2017). Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. (Tesis de pregrado). Universidad Peruana Unión, Lima.

Estilo Vancouver

Flores-Tique YL. (2017). Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. [Tesis]. Lima: Universidad Peruana Unión. Facultad de Ingeniería y Arquitectura; 2017.

Estilo Chicago

Flores Tique, Yoysy. 2017. Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. Tesis de Licenciatura. Universidad Peruana Unión.

Ficha catalográfica elaborada por el Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación (CRAI) de la UPeU

TIA	Flores Tique, Lenny Yoysy
2	Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (<i>origanum vulgare</i>)
F64	aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado / Autor: Lenny Yoysy Flores
2017	Tique; Asesor: Mg. Silvia Pilco Quesada. -- Lima, 2017. 128 páginas: anexos, figuras, tablas
	Tesis (Licenciatura)--Universidad Peruana Unión. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. E.P. de Ingeniería de Alimentos, 2017. Incluye referencias y resumen. Campo del conocimiento: Ingeniería de Industrias Alimentarias.
	1. Aceite esencial de orégano. 2. Microencapsulación. 3. Pulverizado. 4. Antimicrobiano 5. Pan molde.

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA DEL INFORME DE TESIS

Yo, Mg. Silvia Pilco Quesada de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: "EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*ORIGANUM VULGARE*) APLICADO EN EL PAN MOLDE EN MICROENCAPSULADO Y PULVERIZADO." constituye la memoria que presenta la Bachiller Lenny Yoysy Flores Tique para aspirar al título de Profesional de Licenciada en Ingeniería de Alimentos ha sido realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este informe son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente constancia en Lima, a los 12 de Junio del 2017.



Mg. Silvia Pilco Quesada

“Evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de
orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en
microencapsulado y pulverizado”

TESIS

Presentada para optar el Título Profesional de Ingeniero de
Alimentos

JURADO DE CALIFICADOR



Ph. D. Leonor Segunda Bustinza Cabala
Presidenta



Ing. Eduardo Alberto Meza Mantari
Secretario



Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro
Vocal



Ing. Joel Jerson Coaquira Quispe
Vocal



Mg. Silvia Pilco Quesada
Asesora

Lima, 18 de abril de 2017

DEDICATORIA

Con amor a mi madre Jaqueline Tique Fernández y
mi hermano Jeanpierre Flores Tique

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios en primer lugar, por la sabiduría brindada. Posteriormente a la ayuda incondicional mi madre Yaqueline Tique Fernández, en la parte emocional y económica, a mi hermano Jeanpierre Flores Tique por la paciencia brindada, y a mis abuelos Fidela Fernández Flores y Juan Tique Quispe, por la ayuda económica.

A todos los amigos que brindaron de su tiempo para el término de esta trabajo de investigación, en especial a Juan Carlos Huallpa Condori por la ayuda brindada en la parte experimental y también por su apoyo emocional en todo momento, por ser esa persona especial que llegó a mi vida y demostrar ser un gran compañero. A Jhonatan Santiago Echenique y Flora Cruz Romero por la ayuda prestada, en la etapa final de mi tesis.

A mi asesora MSc. Silvia Pilco Quesada por la perseverancia para obtener los mejores resultados y la motivación brindada en momentos difíciles. Al Ing. Jorge Regalado Arcaya por el apoyo en el uso del atomizador y guía sobre temas de microencapsulación. Al Ing. Samuel Silva por la facilidad para el análisis de mi muestra en la Universidad Mayor de San Marcos. Finalmente al Centro de Aplicación Productos Unión, al Ing. Freddy Flores Pizarro y a la Ing. Verónica Choquehuanca por las facilidades brindadas para el uso de equipos de laboratorio.

INDICE GENERAL

RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
I. PROBLEMA	16
1.1 Objetivos	18
1.1.1 Objetivo general	18
1.1.2 Objetivos Específicos	18
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	19
2.1 El Orégano.....	19
2.1.1 Botánica.....	19
2.1.2 Descripción morfológica	19
2.1.3 Ecología y corología.....	21
2.1.4 Composición química.....	21
2.1.5 Producción y Exportación de Orégano en Perú	21
2.2 Aceites esenciales.....	24
2.2.1 Componentes volátiles	24
2.2.2 Actividad antimicrobiana	24
2.2.3 Actividad antibacteriana.....	26
2.2.4 Actividad antifúngica	27
2.2.5 Aplicaciones de aceites esenciales en productos de panadería	27
2.3 Aceite esencial de orégano	28
2.4 Métodos de extracción de aceite esencial	29
2.4.1 Destilación por arrastre de vapor	30
2.5 Microencapsulación	31
2.5.1 Microencapsulación de aceites esenciales.....	32
2.5.2 Métodos de microencapsulación	32
2.5.3 Ventajas de la microencapsulación	35
2.5.4 Agentes utilizados para la microencapsulación	35
2.5.5 Morfología de microcápsulas	38

2.6	Generalidades del pan	40
2.6.1	Valor nutritivo del pan	40
2.6.2	Descripción de las etapas para la elaboración del pan	40
2.6.3	Deterioro microbiano del pan.....	45
2.6.4	Métodos de prevención contra el enmohecimiento del pan de molde	47
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.1	Lugares de Ejecución	50
3.2	Materiales y equipos.....	50
3.2.1	Material vegetal.....	50
3.2.2	Insumos	50
3.2.3	Reactivos	51
3.2.4	Materiales	51
3.2.5	Equipos.....	52
3.3	Metodología experimental.....	53
3.3.1	Caracterización de aceite esencial de orégano	53
	Evaluación de la vida útil de pan molde	54
	Microencapsulación de aceite esencial de orégano.....	54
3.3.2	Microencapsulación de aceite esencial de orégano mediante secado por atomización	58
3.3.3	Elaboración de pan molde con microencapsulado AEO.....	63
3.3.4	Evaluación del efecto antimicrobiano de AEO microencapsulado y pulverizado	67
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	69
4.1	Caracterización de las hojas de orégano	69
4.1.1	Determinación de humedad.....	69
4.1.2	Actividad de agua (a_w)	69
4.2	Caracterización de aceite esencial de orégano	70
4.2.1	Rendimiento del aceite esencial de orégano	70
4.2.2	Índice de refracción.....	71
4.2.3	Densidad.....	71
4.2.4	Residuo de evaporación	72

4.3	Caracterización del microencapsulado del aceite esencial de orégano	73
4.3.1	Rendimiento del microencapsulado	73
4.3.2	Determinación de la actividad de agua (a_w)	74
4.3.3	Determinación de la humedad.....	75
4.3.4	Determinación de la densidad aparente.....	76
4.3.5	Eficiencia microencapsulación (MME)	77
4.6.5	Morfología de microcápsulas	78
4.4	Evaluación del efecto antimicrobiano de AEO microencapsulado y pulverizado	81
4.4.1	Actividad de agua (a_w)	81
4.4.2	Humedad	82
4.4.3	Acidez Titulable	84
4.4.4	pH.....	85
4.4.5	Mohos y levaduras	86
V.	CONCLUSIONES	90
VI.	RECOMENDACIONES	91
VII.	REFERENCIAS	92
ANEXOS	111

INDICE DE TABLAS

Tabla 2 - Producción de orégano en la región de Tacna	22
Tabla 3 - Principales componentes volátiles de aceites esenciales de especias y plantas	25
Tabla 4 - Métodos de extracción de aceites esenciales	30
Tabla 5 - Fenómenos que ocurren en el interior de la masa durante la cocción.....	43
Tabla 6 - componentes para la formación de la emulsión	59
Tabla 7 - Parámetros de atomización	59
Tabla 8 - Diseño de Bloques Completamente Aleatorio	67
Tabla 9 - Tipos de secado y humedad final de diferentes materias primas	69
Tabla 10 - Rendimientos de extracción de aceite esencial de orégano	70
Tabla 11 - Densidad de distintos aceites esenciales	72
Tabla 12 - Actividad de agua de distintos microencapsulados.....	74
Tabla 13 - Humedad de microencapsulados de distintos aceites esenciales	75
Tabla 14 - Resultados de actividad de agua	117
Tabla 15 - Resultados de humedad.....	117
Tabla 16 - Resultados de acidez	118
Tabla 17 - Resultados de pH.....	118
Tabla 18 - Resultados de mohos y levaduras	119
Tabla 19 - Análisis de varianza de la variable actividad de agua de 15 a 21 días.....	120
Tabla 20 - Análisis de varianza de la variable humedad de 15 a 21 días	121
Tabla 21 - Análisis de varianza de la variable acidez de 15 a 21 días.....	122
Tabla 22 - Análisis de varianza de la variable pH de 15 a 21 días.....	123
Tabla 23 - Análisis de varianza de la variable mohos y levaduras de 15 a 21 días.....	124

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Partes de la planta de orégano (Watson & Dallwitz, 1992).....	20
Figura 2 - Presentación de orégano para ser exportado (Dirección Regional de Agricultura de Tacna, 2016)	23
Figura 3 - Diagrama de destilación por arrastre de vapor (Aromatherii, 2016)	31
Figura 4 - Esquema ilustrativo del proceso de microencapsulación por secado por atomización (Santos, 2014).....	34
Figura 5 - Morfología de microcápsulas (Estevinho, Rocha, Santos & Alves, 2013).....	39
Figura 6 - Esquema general de la investigación	54
Figura 7 - Esquema de destilador mediante arrastre por vapor	55
Figura 8 - Esquema del proceso de microencapsulación mediante secado por pulverización (Bakry <i>et al.</i> , 2015).....	60
Figura 9 - Diagrama de flujo de la elaboración de pan molde	64
Figura 10 - Panes molde con 1%, 1.5% y 2 % de MAEO.....	66
Figura 11 - Microfotografías de microcápsulas de aceite esencial de orégano producido por secado por atomización.....	78
Figura 12 - Microfotografías electrónicas de barrido de microcápsulas de aceite esencial de romero (Ribeiro <i>et al.</i> , 2014)	79
Figura 13 - Microfotografías de microcápsulas de aceite esencial de orégano producido mediante secado por atomización.....	80
Figura 14 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la actividad de agua.....	82
Figura 15 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la humedad	83
Figura 16 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la acidez.....	85
Figura 17 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con el pH	86
Figura 18 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la presencia de mohos y levaduras	89
Figura 19 - Normalidad de residuos de los datos de actividad de agua.....	120
Figura 20 - Normalidad de los residuos de los datos de humedad	121
Figura 21 - Normalidad de los residuos de los datos de acidez.....	122
Figura 22 - Normalidad de los residuos de los datos de pH.....	123
Figura 23 - Normalidad de los residuos de los datos de mohos y levaduras.....	124

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 - Procedimiento de atomización.....	112
Anexo 2 - Análisis de Acidez titulable (ATT)	114
Anexo 3 - Análisis de pH	115
Anexo 4 - Determinación de mohos y levaduras.....	116
Anexo 5 - Resultados de evaluación de vida útil de pan molde	117
Anexo 6 - Análisis estadístico de actividad de agua	120
Anexo 7 - Análisis estadístico de humedad.....	121
Anexo 8 - Análisis estadístico de Acidez	122
Anexo 9 - Análisis estadístico de pH	123
Anexo 10 - Análisis estadístico de mohos y levaduras	124
Anexo 11 - Comparación de panes molde de día 1 y día 21 en los días de almacenamiento .	125
Anexo 12 - Comparación de los panes con microencapsulado del día 1 y del día 19.....	126
Anexo 13 - Mohos y levaduras presentes en las placas petrifilm con el paso de los días de almacenamiento.....	127

NOMENCLATURA Y/O SIMBOLOS USADOS

AACC	: Asociación Americana de Químicos de Cereales
ABTS	: 2, ácido 2'-Azino-Bis-3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic
AEO	: Aceite esencial de orégano
AEOM	: Aceite esencial de orégano microencapsulado
ANOVA	: Análisis de Varianza
ATT	: Acidez titulable (%)
a_w	: Actividad de agua
BHA	: Butilhidroxianisol
BHT	: Butilhidroxitolueno
CICAL	: Centro de Investigación de Ciencia de Alimentos
CITAL	: Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos
CO ₂	: Dióxido de carbono
DPPH	: Di (fenil) - (2,4,6-trinitrofenil) iminoazanium
ED	: Dextrosa
EINECS	: European Inventory of Existing Chemical Substances
ICMSF	: Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos
MEB	: Microscopia Electrónica de Barrido
MEE	: Eficiencia de microencapsulación
NaOH	: Hidróxido de Sodio
NMX	: Norma Mexicana
OH ⁻	: Hidroxilo
pH	: Potencial de hidrogeno
SSL	: Estearoil Lactilato de Sodio
ufc/g	: Unidades formadoras de colonia por gramos

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado. Para ello, se extrajo aceite esencial de orégano mediante arrastre por vapor y se realizaron análisis de calidad como índice de refracción, densidad y residuo de evaporación. Se microencapsuló el aceite esencial de orégano mediante secado por atomización a 185°C, la emulsión fue elaborada a partir de los materiales de pared: maltodextrina, goma arábica y almidón modificado. En la caracterización de las microcápsulas, se analizó la actividad de agua, la humedad, la densidad aparente, la eficiencia de microencapsulado y la morfología. Luego se evaluó el efecto antimicrobiano del microencapsulado de porcentajes de 1%, 1.5% y 2% y pulverizado con una solución de 100% alcohol, 2% esencia de leche y 0.20% aceite esencial de orégano. Se evaluó y demostró que las microcápsulas desarrollaron efecto antimicrobiano en pan molde hasta el día 19.

Palabras clave: *aceite esencial de orégano, microencapsulación, pulverizado, antimicrobiano, pan molde*

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial effect of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) applied in the mold pan in microencapsulated and pulverized. To do this, oregano essential oil was first extracted by steam trapping and quality analyzes such as refractive index, density and evaporation residue were performed. Second, the essential oil of oregano was microencapsulated by spray-drying at 185 ° C temperature, the emulsion is made from the wall materials: maltodextrin, gum arabic and modified starch. In the characterization of the microcapsules, water activity, moisture, bulk density, microencapsulated efficiency and morphology were analyzed. Finally, the antimicrobial effect of the microencapsulation of percentages of 1%, 1.5% and 2% and anti-mold sprayer with 100% alcohol content, 2% milk essence and 0.20% oregano essential oil were evaluated. It was evaluated and demonstrated that the microcapsules developed antimicrobial effect in bread mold until day 19.

Key words: *oregano essential oil, microencapsulation, pulverized, antimicrobial, mold pan*

I. PROBLEMA

El pan como producto industrial, debe conservar su inocuidad por periodos de tiempo considerables, debido a su susceptibilidad por hongos y bacterias, limitando así la vida útil de tal alimento (Salgado & Jiménez, 2012). Esto conlleva a problemas económicas, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para los distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo) (Vázquez, 2001).

El uso de conservantes es una práctica común en la industria de los alimentos. Nychas (1995) menciona que los conservantes sintéticos han sido utilizados por muchos años, donde los propionatos y sorbatos son los más utilizados en la industria de panificación, incluidos en la fórmula o aplicado a la superficie del pan (San Lucas, 2012).

La acción principal de los propionatos es bactericida (Jacobson, 1972), el límite de uso es de 0.32-0.38% en productos panificables. Por otro lado Ibáñez, Torre y Irigoyen (2003) mencionan que el ácido sórbico tiene una Ingesta Diaria Admisible (IDA) de 25mg/kg, superada esta cantidad podría provocar diarrea y cálculos renales. El ácido benzoico tiene una IDA de 5mg/kg, según Hernández (2010a) los efectos adversos son irritación gástrica, desequilibrio ácido-base debido al uso prolongado en el tiempo y altas dosis. León *et al.* (2000) realizaron un estudio de los efectos secundarios de los aditivos usados en la elaboración de productos alimentarios, los colorantes y conservantes causan alergia y síndrome de hiperactividad, los acidulantes (ácido cítrico) causan caries, irritación y urticaria, el sorbitol causa flatulencia y diarrea, el butilhidroxianisol (BHA) ocasiona alergia y aumento de concentración de lípidos y colesterol, y el butilhidroxitolueno (BHT) ocasiona alergia, afectación hepática y posible efecto cancerígeno.

Debido a estos problemas de salud atribuidos a los aditivos químicos de origen sintético, y la preocupación de las personas por una alimentación saludable, la industria alimentaria enfrenta desafíos que incluyen la demanda de productos alimenticios que no contengan conservantes químicos, libres de microorganismos patógenos y con larga vida en anaquel (López *et al.*, 2008).

En busca de una solución se plantea el uso de conservantes naturales como los aceites esenciales, con un aproximado de 80 productos, entre los más utilizados se encuentran: clavo de olor, ajo, cebolla, salvia, romero, cilantro, perejil, orégano, mostaza y vainilla entre otros (Ismail & Pierson, 1990). El más estudiado para su aplicación en alimentos es el aceite esencial de orégano, el cual tiene un efecto antimicrobiano, antifúngico y antioxidante, está constituido fundamentalmente por carvacrol y timol (Dieter, 2009). Sin embargo, los aceites esenciales son moléculas sensibles a la oxidación en presencia de oxígeno y luz, por tal motivo la microencapsulación, se convierte en un método de protección para tal producto. Es una técnica por la cual las gotas líquidas o partículas sólidas son recubiertas por un material encapsulante, ésta cubierta protege al material activo del deterioro, limita su evaporación y realiza la liberación del mismo bajo las condiciones deseadas (Hernández, 2011d). De esta forma el aceite esencial microencapsulado y pulverizado, es usado como conservante natural para adición en pan molde, extendiendo así la vida útil.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado en el pan molde en microencapsulado y pulverizado.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) extraído por el método arrastre de vapor.
- Microencapsular aceite esencial de orégano mediante secado por atomización.
- Caracterizar fisicoquímicamente el microencapsulado de aceite esencial de orégano.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de pan molde con adición de microencapsulado al 1%, 1.5% y 2% y pulverizado.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 El Orégano

2.1.1 Botánica

2.1.1.1 Etimología

El nombre viene del griego “oros” que significa montaña y ganos que significa ornamento: decoración y belleza de las montañas (Klauer, 2009).

2.1.1.2 Descripción Taxonómica

Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Lamiidae</i>
Superorden:	<i>Lamianae</i>
Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Lamiaceae</i>
Género:	<i>Origanum</i>
Especie:	<i>Origanum vulgare</i>

2.1.2 Descripción morfológica

El orégano es una planta que vive por más de diez años, es de tallo recto y alcanza entre 30 y 80 cm de altura (Figura 1). Klauer (2009) describe cada una de sus partes: a) flor b) raíz y c) planta de orégano.

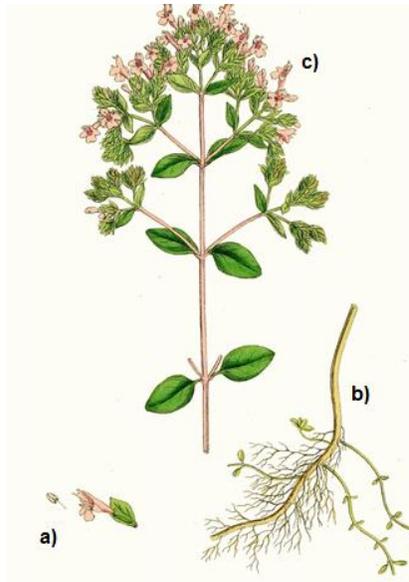


Figura 1 – Partes de la planta de orégano (Watson & Dallwitz, 1992)

2.1.2.1 Raíz

Fasciculada, muy ramificada, es susceptible a problemas fúngicos cuando está expuestas a excesos de humedad.

2.1.2.2 Tallos

De color verde y rojizo depende de la variedad y subespecie. Se encuentran generalmente ramificados en la parte superior, y en la parte inferior endurecida. Erguidos, tienen diez pares de ramas por tallo, varían según sus longitudes.

2.1.2.3 Hojas

Presentan tamaños diferentes, dependiendo de las variedades y subespecies. Sus hojas son pecioladas, simples, opuestas, enteras y débilmente aserradas. Sus flores son blanquecinas.

2.1.3 Ecología y corología

Los lugares de donde se cultiva son secos y montañosos formando pequeñas matas aisladas, suele aparecer en bordes de caminos, bosques marcescentes y caduci folios poco densos, hasta los 2.000m de altitud. Preferentemente crece en suelos calizos. Requiere un clima templado y con cierta humedad (Muñoz, 2002).

2.1.4 Composición química

El orégano contiene aceites esenciales que pueden variar según su procedencia. Los dos componentes principales son los fenoles timol y carvacrol, hidrocarburos monoterpénicos (limoneno, α y β -pineno, pcimeno), sesquiterpénicos (β -cariofileno y bbisaboleno), linalol y terpineno-4-ol (Muñoz, 2002).

También se puede encontrar ácidos fenólicos (caféico, rosmarínico y clorogénico), taninos, principios amargos, flavonoides (luteolol, kaempferol, diosmetol y derivados del apigenol), triterpenos derivados de los ácidos ursólico y oleánico (Arteche *et al.*, 1998; Longo, 1995).

2.1.5 Producción y Exportación de Orégano en Perú

La data del Ministerio de Agricultura y Riego, registra información hasta el año 2014, una superficie cosechada de 2 050 hectáreas y su producción de 15 mil 374.85 toneladas en el país con una tendencia ascendente de 3.9% en los últimos quince años.

La Región de Tacna es una de las principales productoras con 9 895 toneladas en el año 2015 y con una superficie cosechada de 1 845 hectáreas, seguida de Moquegua con 710 ha., Arequipa con 680 ha., y el resto del país con 146.08 ha., constituyéndose la zona del sur con mayor potencial productivo (Dirección Regional de Agricultura de Tacna, 2016).

Tacna es el departamento con mayor producción de orégano debido a las buenas condiciones de clima y suelo. Los valles donde se producen son Candarave, Jorge Basadre y Tarata. Por lo

general, se realizan dos cortes al año aunque en algunas zonas de producción se registran hasta tres cortes. La Dirección Regional de Agricultura de Tacna menciona que en el 2016 el precio de chacra del orégano varió entre los meses de enero a marzo de 6.50 a 5.51 soles. En la Tabla 1 se presenta la producción de orégano de la región Tacna en los últimos quince años.

Tabla 1 - Producción de orégano en la región de Tacna

Años	Producción Nacional (Tn)	Producción de Tacna (Tn)
2001	5312	3 964
2002	4857	4 222
2003	4502	4 136
2004	4 907	4 206
2005	5 658	4 560
2006	6 134	4 748
2007	7 204	5 223
2008	9 631	5 674
2009	11 217	5 534
2010	11 421	5 508
2011	12 067	5 508
2012	11 552	5 443
2013	14 089	7 731
2014	15 701	10 898
2015	-	9 895

Fuente: Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias (2015)

El volumen de exportación se ha incrementado en el periodo mencionado, es decir que el orégano peruano está tomando mayor importación en los mercados internacionales. Los países

que tienen mayor aceptación del producto son Brasil con 45%, España 15%, Chile 11% y Argentina con 8%

En el año 2014 se registró 6 096.13 Tn de orégano exportado, éste fue el punto más alto de los últimos quince años. Sin embargo en el 2015 disminuyó a 5 586.47 Tn, la reducción fue debido a la presencia del fenómeno del Niño (Dirección Regional de Agricultura de Tacna, 2016) que causó pérdidas en los sembríos. En la Figura 2, se observa los tipos de orégano producidos en la región de Tacna, para la posterior venta y exportación.



Figura 2 - Presentación de orégano para ser exportado (Dirección Regional de Agricultura de Tacna, 2016)

Maximixe (2007) demuestra que el orégano es diez veces más rentable que otros productos, puesto que es una alternativa de desarrollo para zonas de escasos recursos de Tacna. Los organismos gubernamentales, en los últimos años, realizaron esfuerzos para mejorar la productividad mediante el apoyo técnico y organización de eventos como el Festival Internacional del Orégano, éste se realiza en el mes de mayo en la región Tacna.

2.2 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces. Se consideran compuestos olorosos, muy solubles en alcohol y poco solubles en agua (Bullerman, 1997). Los aceites esenciales cubren un amplio espectro de actividades tales como efectos farmacológicos, antiinflamatorios, antioxidantes y anticancerígenos. Otros son antimicrobianos contra una amplia gama de organismos como bacterias, hongos, virus, protozoos, etc. (Kalemba & Kunicka, 2003).

2.2.1 Componentes volátiles

En la Tabla 2 se muestra los componentes volátiles comúnmente encontrados en distintos tipos de aceites esenciales.

2.2.2 Actividad antimicrobiana

Los aceites esenciales son mezclas complejas de componentes volátiles biosintetizados por las plantas, que incluyen principalmente dos grupos relacionados biosintéticamente (Pichersky, Noel y Dudareva, 2006). Los terpenos y terpenoides son compuestos aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por un bajo peso molecular. La mayor parte de la actividad antimicrobiana en aceites esenciales se encuentra en los terpenoides oxigenados (por ejemplo, alcoholes y

Tabla 2 - Principales componentes volátiles de aceites esenciales de especias y plantas

Nombre común	Nombre científico	Componentes volátiles	Composición aproximada
Cilantro	<i>Coriandrum sativum (seeds)</i>	Linalol E-2-decanal	70% -
Canela	<i>Cinnamomum seyladicum</i>	Trans-cinamaldehido	65%
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol Timol Y-terpineno p-cimeno	Traza 80% Traza 64% 2-52% Traza 52 %
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	α -pineno acetato de bornilo alcanfor 1.8 cineol	2-25% 0-17% 2-14% 3-89%
Salvia	<i>Salvia officinalis L.</i>	Alcanfor α -pineno β -pineno 1.8-cineol α -tujona	6-15% 4-5% 2-10% 6-14% 20-42%
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol Acetato de eugenilo	75-85% 8-15%
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol Carvacrol Y-Terpineno p-cimeno	10-64% 2-11% 2-31% 10-56%

Fuente: Burt (2004)

terpenos fenólicos), éstos afectan a múltiples procesos bioquímicos en las bacterias (Burt, 2004; Delaquis, Stanich, Girard & Mazza, 2002). En muchos casos la actividad resulta de la compleja interacción entre las diferentes clases de compuestos tales como fenoles, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres, éteres o hidrocarburos que se encuentran en los OE (Burt, 2004; Kim, Marshall y Wei, 1995; Lambert, Skandamis, Coote y Nychas, 2001). Pero varios estudios demuestran que los compuestos exhiben propiedades antimicrobianas significativas cuando se ensayan por separado (Bajpai, Baek, K. y Baek, S., 2012; Hammer, Carson y Riley, 1999; Bassolé *et al.*, 2010). Los aceites esenciales que contienen aldehídos o fenoles, tales como cinamaldehído, citral, carvacrol, eugenol o timol como componentes principales muestran la mayor actividad antibacteriana. Por otro lado, la actividad antimicrobiana de especies de *Thymus* y *Origanum* se atribuye a sus componentes fenólicos como timol y carvacrol (Lambert *et al.*, 2001; Cox, Mann & Markham, 2001; Oussalah, Caillet, Saucier & Lacroix, 2007; Hazzit, *et al.*, 2009).

2.2.3 Actividad antibacteriana

En general, son más efectivos las especias frente a organismos gram positivos, que frente a bacterias gram negativas, posiblemente debido a que las bacterias gram negativas poseen una membrana externa en las paredes celulares, de naturaleza lipofílica, que podría interaccionar con ellos. El carvacrol, eugenol y el timol son capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. (Usano, Pala y Díaz, 2014). Bosquez, Bautista y Morales (2009), Maguna, Romero, Garro y Okulik (2006) indican que el posible sitio de acción es la membrana celular, donde los terpenoides surtirían efecto desencadenando una serie de procesos que podrían provocar la muerte bacteriana. El carácter hidrofóbico de los aceites esenciales les permite permanecer dentro de los lípidos de las

membranas bacterianas y mitocondriales perturbando su estructura y por ende su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo.

2.2.4 Actividad antifúngica

Diversos autores reportan la actividad antifúngica de los aceites esenciales y sus compuestos. En un estudio Velluti *et al.* (2003) comprueban que los aceites esenciales de clavo, canela y orégano actúan sobre *Fusarium proliferatum*, inhibiendo así, el crecimiento de este hongo. Mientras que Rasooli y Owlia (2005) dan a conocer que el crecimiento y la producción de aflatoxinas de *Aspergillus parasiticus* son totalmente inhibidos por el aceite esencial de tomillo. Paster, Menansherov, Ravid y Juven (1995) reportan el efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) sobre el desarrollo de *A. flavus*, *A. ochraceus K. Wilh* y *A. niger Tiegh*, a 2000 ppm controla el crecimiento micelial de los hongos. El aceite esencial de orégano también controla el desarrollo de hongos endógenos en trigo (*Triticum sp.*). Montes y Carvajal (1998) indican que los aceites esenciales obtenidos de canela, hierbabuena, orégano, clavo y tomillo causan la inhibición total del desarrollo de *Aspergillus flavus* en grano de maíz (*Zea mays L.*).

2.2.5 Aplicaciones de aceites esenciales en productos de panadería

Pilco-Quesada, Quito y Quispe-Condori (2009) evalúan la vida en anaquel del pan artesanal Ezequiel y pan de molde comercial Superbueno, usando aceite esencial del clavo de olor (*Eugenia Caryophyllus*) como antimoho. Los autores comparan la efectividad del aceite esencial de clavo de olor con un antimoho comercial Pangermex (aceite esencial de naranja), aplicándose en forma de spray al pan Ezequiel (harina de trigo mote, harina de habas, harina de lenteja, harina de cebada, harina de mijo, Salvado, avena, germen, melaza, caramelina, azúcar, sal, aceite

castaña, anís, tostado, pasas, agua y masa madre). El aceite esencial de clavo de olor presenta la misma capacidad inhibitoria que el antimoho comercial por un período de 25 días.

Ibrahium, Abd El-Ghany y Ammar (2013) evalúan la eficiencia del aceite esencial de clavo como agente antioxidante y antimicrobiano, y su uso en la conservación de la torta como conservante natural, los autores añaden 400, 600 y 800 ppm, el aceite esencial de clavo exhibe una alta actividad antioxidante y propiedades antimicrobianas efectivas durante 28 días de almacenamiento.

Khaki, Sahari y Barzegar (2012) evalúan el efecto antioxidante y antimicrobiano del aceite esencial de manzanilla en tortas durante 75 días de almacenamiento. A las tortas se les añade 0.05%, 0.1% y 0.15% de aceite esencial de manzanilla. Los autores analizan la presencia de mohos y levaduras, de tal forma que la muestra que contiene 0.15% de aceite esencial de manzanilla tiene una buena actividad antioxidante y antimicrobiana en comparación con la muestra control.

2.3 Aceite esencial de orégano

Entre varios aceites esenciales que pueden ser útiles como agentes antimicrobianos, el aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) tiene un gran potencial para aplicaciones industriales (Baratta *et al.*, 1998; Daferera, Ziogas y Polissiou, 2000; Deans y Svoboda, 1990). Sus propiedades son antimicrobianas, antioxidantes y antifúngicas (Baratta *et al.*, 1998; Dapkevicius, Venskutonis, van Beek y Linssen, 1998; Kanazawa *et al.*, 1995). El aceite esencial de orégano tiene gran contenido de compuestos polifenólicos (Cervato *et al.*, 2000) que inhiben el crecimiento de numerosas bacterias patógenas en alimentos (Avila *et al.*, 2010; Baydar, Sağdıç, Özkan y Karadoğan, 2004). La actividad antimicrobiana se debe a que los aceites

esenciales contienen compuestos volátiles, los cuales son el timol y carvacrol, su efecto antimicrobiano fue comprobado por cada uno (Kim *et al.*, 2006).

Existen variados estudios sobre la actividad antimicrobiana de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus*. También cumplen la función contra mohos y levaduras como: *Cándida albicans*, *C.tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula aureus* (Aligiannis, Kalpoutzakis, Mitaku & Chinou, 2001; Elgayyar, Draughon, Golden & Mount, 2001).

2.4 Métodos de extracción de aceite esencial

Pero la elección de determinado método dependerá de las características de dichos materiales, de la volatilidad de la esencia, de su porcentaje en la planta, de su ubicación, de las características de pureza y calidad que se desean obtener.

Los aceites esenciales se obtienen a partir de material vegetal sometido a diferentes tipos de destilación. De todos los métodos mencionados, la destilación por arrastre de vapor, es el método más usado a nivel industrial, por su sencillez, bajo costo, rendimiento y el uso de cantidades grandes de material vegetal que se puede utilizar (Márquez, 2011; TECNOVA, 2014).

Existen diversos métodos mediante los cuales se consigue extraer las esencias (Tabla 3).

Tabla 3 – Métodos de extracción de aceites esenciales

Tipos de métodos	Procedimiento	Productos obtenidos
Métodos directos	<ul style="list-style-type: none"> - Extrusión - Exhudación 	Aceites esenciales cítricos gomas, resinas, bálsamos
Destilación	<ul style="list-style-type: none"> - Directa - Arrastre con vapor de agua - Destilación-maceración (liberación enzimática de agliconas en agua caliente) 	Aceites esenciales y aguas aromáticas
Extracción con solventes	<ul style="list-style-type: none"> - Solventes volátiles - Solventes fijos (grasas y aceites) - Extracción con fluidos en estado supercrítico 	

Fuente: Servicio Nacional de Aprendizaje (2004)

2.4.1 Destilación por arrastre de vapor

En este método se obtiene el aceite esencial mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. El generador de vapor es externo, es responsable del suministro de material vegetal. La materia prima forma un lecho compacto, luego el vapor de agua es llevado mediante un distribuidor interno, a la base, con la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del lecho. (Hernández, 2011d). Cuando el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial, debido a su alta volatilidad comienza a evaporarse. Al ser soluble en el vapor circundante es arrastrado corriente arriba, hacia el tope del destilador. La

mezcla vapor saturado-aceite esencial fluye hacia un condensador, allí la mezcla es condensada y enfriada hasta temperatura ambiente, obteniéndose una emulsión líquida inestable que es separada en un decantador o florentino. Se finaliza cuando no hay variación de aceite o agua presente en el florentino. Por otro lado se obtiene el agua floral la cual contiene compuestos químicos solubles del aceite esencial que otorga aroma del aceite (Hernández, 2011d) (Figura 3).

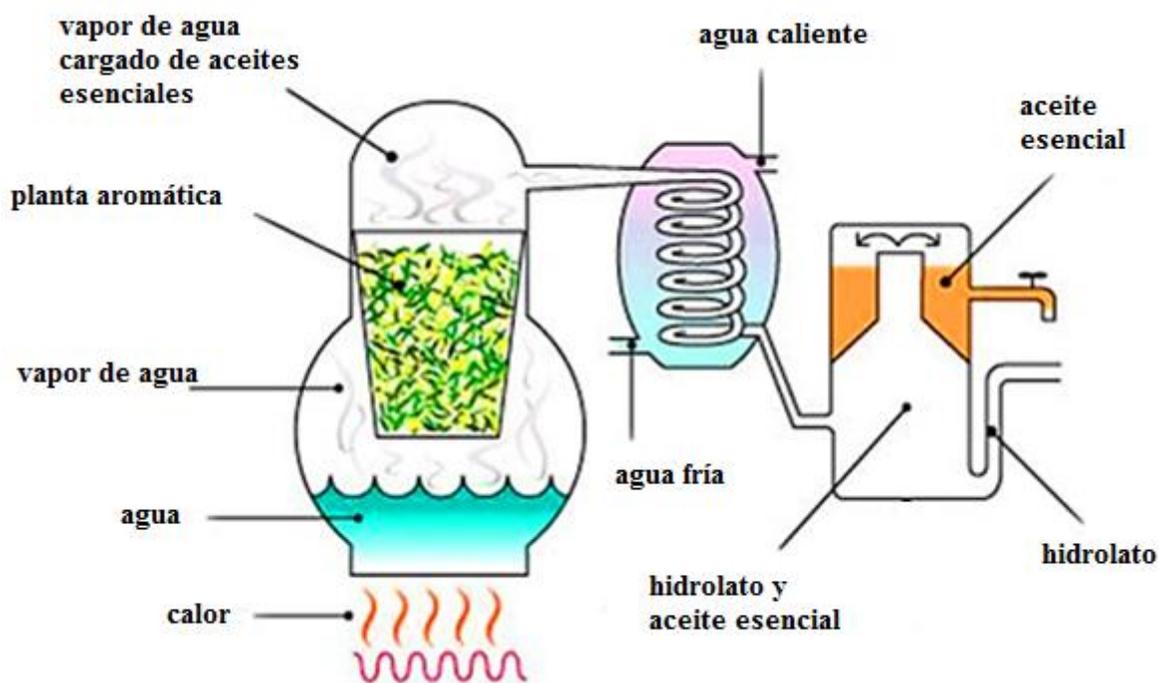


Figura 3 – Diagrama de destilación por arrastre de vapor (Aromatherii, 2016)

2.5 Microencapsulación

La microencapsulación es una técnica que ayuda a proteger varios ingredientes. Tiene una forma especial de envolver materiales líquidos, sólidos y gaseosos, el material es cubierto individualmente, recubriéndolas con carbohidratos u otro material polimérico. Lo protege de de

la reacción con otros componentes para impedir que sufran también de la reacción de oxidación debido a la luz y oxígeno (Ré, 1998).

Las microcápsulas surgen a partir del modelo celular. Los procesos de microencapsulación se desarrollaron entre los años 1930 y 1940. Se realizó la aplicación de gelatina como encapsulante de un tinte, mediante un proceso de coacervación (Hernández, 2010a), en la industria alimenticia se ha utilizado por más de 60 años.

2.5.1 Microencapsulación de aceites esenciales

Los procesos de microencapsulación permiten que el aceite esencial se incorpore en una matriz, para proveer un polvo seco y de flujo libre. Al microencapsular los aceites esenciales se desea impedir su pérdida, estabilizarlos y protegerlos durante el almacenamiento, disminuir la velocidad de evaporación, controlar la velocidad de liberación, estabilizar compuestos específicos, mejorar la compatibilidad con otros constituyentes en las formulaciones, prolongar la vida útil del producto y facilitar la manipulación (Branon, 1993; El Asbahania *et al.*, 2015). Las aplicaciones se dan en distintos ámbitos: agricultura, medicina, cosmética y farmacia, textiles y alimentación.

2.5.2 Métodos de microencapsulación

Para la preparación de las microcápsulas existen variados métodos, esto va a depender de los costos, el tamaño de microcápsula que se desea obtener, la aplicación y el mecanismo de liberación deseado. De todos los métodos existen los que son específicos para aceites esenciales que pueden ser clasificados en métodos físicos (secado por atomización y fluidos supercríticos), químicos (polimerización in-situ e interfacial e inclusión molecular) y fisicoquímicos (coacervación y solidificación) (Ré, 1998; Gharsallaoui *et al.*, 2007).

2.5.2.1 Secado por atomización

El secado por atomización es el método más común en la microencapsulación de ingredientes alimenticios, entre ellos vitaminas (C, E), ácido fólico, aromas, orégano, citronela, aceite de cardamomo, bacterias probióticas, lípidos, ácido linoléico, aceites vegetales, minerales como hierro, pigmentos de antocianina y leche entre otros alimentos (Wandrey, Bartkowiak y Harding, 2010). Las ventajas del secado por atomización son costos de procesamiento bajo y la buena estabilidad del producto final (Favaro *et al.*, 2010).

El secado por atomización tiene eficiencia de microencapsulación entre 96 y 100% (López y Gómez, 2008). Los parámetros más importantes para este proceso son: las temperaturas de entrada y salida del aire de secado, el flujo de alimentación y el acondicionamiento de materia prima (García *et al.*, 2004). El proceso de secado por atomización involucra cuatro etapas (Gharsallaoui *et al.*, 2007, Parize *et al.*, 2008):

1. Preparación de la emulsión con los materiales de pared y el componente activo que queremos encapsular
2. Homogenización de la dispersión
3. Atomización
4. Deshidratación de las partículas atomizadas

Para comenzar el material se encuentra en estado líquido, en solución o dispersión, luego se forman finas gotas sobre una corriente de gas calentado, al tomar contacto con el gas y mayor temperatura sobre las pequeñas gotas del líquido, se desarrolla una velocidad alta de evaporación del solvente formándose una fina película del material de recubrimiento (Gharsallaoui *et al.*, 2007). En la Figura 4 se muestra el esquema de un procedimiento de atomización.

El secado por atomización se caracteriza por su simplicidad, debido a que es apropiado para materiales muy volátiles y sensibles al calor, debido al tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto tiempo (5 a 30 s), el aire caliente ingresa a una temperatura entre 100 y 200°C y las gotas del líquido atomizado sólo se calientan máximo hasta 40°C (Voigt, 1982; Yoshi, Furuta y Sootiantawat, 2001).

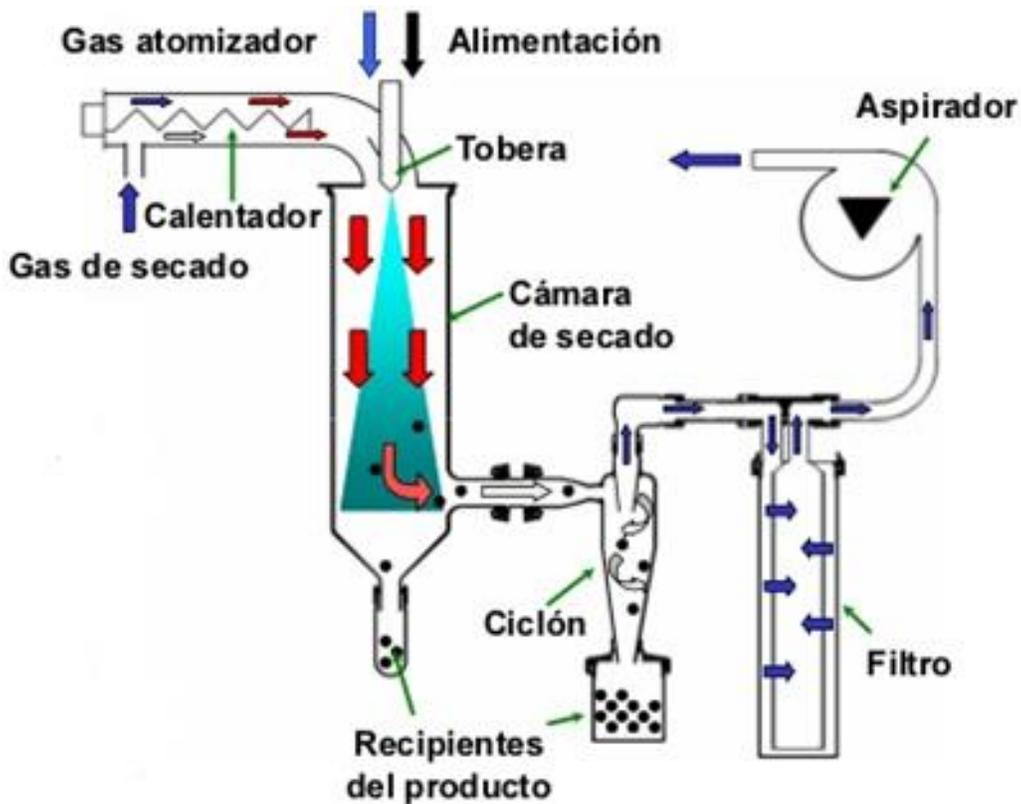


Figura 4 – Esquema ilustrativo del proceso de microencapsulación por secado por atomización (Santos, 2014)

2.5.3 Ventajas de la microencapsulación

Astray *et al.*, (2009) mencionan las ventajas de microencapsulación:

- Conversión de líquidos a sólidos.
- El sabor y olor del material son enmascarados.
- Estabilización de principios activos inestables.
- Protege el material activo del calor, aire, luz, humedad, etc.
- Las características físicas del material original pueden ser modificadas y hacer menos complicado su manejo.

2.5.4 Agentes utilizados para la microencapsulación

2.5.4.1 Lípidos

En cuanto a los encapsulantes lipídicos se encuentran la grasa láctea, lecitinas, ceras, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, parafinas, aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya; estos son buenos formadores de películas puesto que pueden cubrir partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme (Yáñez *et al.*, 2002).

2.5.4.2 Carbohidratos

Empleados frecuentemente en la microencapsulación, se utiliza la técnica de secado por atomización para ingredientes alimenticios como soporte de encapsulamiento, dentro de este amplio grupo se encuentran los almidones, maltodextrinas y gomas (Madene, Scher & Desobry 2006, Murúa, Beristain & Martínez, 2009):

a) Almidón modificado

Los almidones modificados, maltodextrinas y β -ciclodextrinas son muy utilizados en la industria alimenticia (Madene *et al.*, 2006, Murúa *et al.*, 2009). Dentro de los almidones más importantes se destacan: papa (*Solanum tuberosum*), maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum aestivum*), arroz

(*Oryza sativa*) y tapioca (*Manihot esculenta*) (Yáñez *et al.*, 2002, Fuchs *et al.*, 2006, Lokuwan, 2007) sin embargo, las modificaciones más significativas en la práctica son las que se realizan al almidón de maíz, para el maíz que es común y el ceroso, también se incluye al almidón de papa (Aguilar, 2007).

Los almidones nativos se utilizan para regular la textura, sus propiedades son espesantes y gelificantes, pero la estructura nativa es menos eficiente en condiciones de temperatura, pH y presión (Cousidine, 1982). Ante este hecho, se opta por la modificación de la estructura nativa por métodos químicos, físicos, enzimáticos e hibridación dando como resultado un almidón modificado (Fleche, 1985). Para las modificaciones químicas incluyen procesos como la conversión, las ligaciones cruzadas, la estabilización y la adición de grupos lipofílicos, los productos con esta modificación generalmente; son usados en la microencapsulación y también en la estabilización de emulsiones (Light, 1990).

Los almidones modificados son abundantes, funcionales y muy útiles como ingredientes alimentarios (Aguilar, 2007). Los almidones modificados muestran mejor claridad y estabilidad, menor tendencia a la retrogradación y existe la estabilidad al congelamiento-deshielo (Agboola, Akingbala y Oguntimein, 1991). También se mejora la solubilidad, viscosidad, textura, adhesión dispersión y es tolerante al calor (Kim, 1999). En cuanto a sus aplicaciones funcionales confiere adhesión, evitando el endurecimiento, produciendo polvos, estabilizando emulsiones, encapsulando, facilitando el flujo, dando firmeza a espumas, melificando, glaseando, retirando humedad, moldeando, así como estabilizante y espesante.

b) Maltodextrinas

Las maltodextrinas son oligosacáridos quiere decir carbohidratos de complejo soluble, son clasificadas de acuerdo a su equivalencia en dextrosa (ED) es decir, el grado de polimerización

(GP) o de su poder reductor, su GP es de dos a diez. Debido a su gran número de ramificaciones, adquieren una forma helicoidal de tamaño pequeño logrando volúmenes más pequeños. Las maltodextrinas se elabora por los métodos de hidrólisis ácida o enzimática; sus características son: baja viscosidad, alta solubilidad, inodoras e incoloras (García, González, Ochoa y Medrano 2004, Kenyon, 1995).

c) Goma arábica

Son insípidas, pero pueden tener un efecto en el gusto y sabor de alimentos; baja viscosidad, son solubles, emulsionante y es versátil para la mayoría de los métodos de microencapsulación (Madene *et al.*, 2006, Murúa *et al.*, 2009). Como ejemplos se tienen goma de algarrobo, goma guar, goma de tamarindo, goma gelana, goma xantana, goma arábica (Morkhade y Joshi, 2007). La goma arábica denominada E-414 en la industria alimenticia dentro de los números EINECS, es un compuesto de origen natural con una estructura ramificada que se extrae de la resina de árboles subsaharianos (*Acacia senegal* y *Acacia seyal*) como parte del proceso de cicatrización de éstos conocido como gummosis. Esta resina de color ámbar se recolecta normalmente a mano una vez seca. Se trata de una sustancia inflamable, aunque con un elevado punto de inflamación (>250 °C), y relativamente buena solubilidad en agua (aprox. 500 g/L).

La goma arábica, se utiliza principalmente como agente encapsulante para la microencapsulación en el secado por atomización debido a su excelente capacidad emulsificante y baja viscosidad en soluciones acuosas. Además, proporciona buena retención de sustancias volátiles y confiere protección efectiva frente a la oxidación. Sin embargo, su aplicación en la industria alimentaria es limitada en comparación con las maltodextrinas debido a que es más costosa y a que tanto el precio como su disponibilidad están sujetos a fluctuaciones frecuentes,

además de ser menos soluble a temperatura ambiente (Chronakis, 1999, Shiga, Yoshii & Nishiyama, 2001).

La goma arábiga es un heteropolisacárido ramificado, tiene una cadena de β -galactopiranos, L-ramnopiranos, arabinofuranosa y ácido glucurónico, de tal forma es un hidocoloide. Es una molécula que tiene de 1 a 2% de proteínas y 95% de polisacáridos (López, Goycoolea, Valdez & Calderón, 2006).

Los grupos ácidos influyen en la viscosidad de sus dispersiones, éstas se ven afectada por la adición de ácidos, álcalis y la presencia de cationes. Es de interés tecnológico alimentario con respecto a su comportamiento reológico. La goma arábiga tiene la capacidad para aumentar la viscosidad puesto que forma geles, quiere decir un estado entre líquido y sólido, está constituido por una red macromolecular que retiene entre sus mallas una fase líquida. En efecto, la asociación de cadenas produce un aumento en el espacio llevando a una viscosidad. A medida que las cadenas se unen entre sí, el gel se hace más fuerte, aumentando las características reológicas (Fennema, 2000).

2.5.4.3 Proteínas

Son alimentos hidocoloides ampliamente utilizados como microencapsulantes, por ejemplo: proteínas alimenticias como caseinato de sodio, proteína de lacto suero, aislados de proteína de soya (Madene *et al.*, 2006, Murúa *et al.*, 2009), ceras (Fuchs *et al.*, 2006), gluten, grenetina (Yáñez *et al.*, 2002), caseína, soya, trigo (Sáenz, Tapia, Chávez & Robert, 2009) y gelatina (Kwak, Ihm & Ahn, 2001).

2.5.5 Morfología de microcápsulas

Las microcápsulas son partículas individuales o gotas de un material activo (núcleo o fase interna) que han sido rodeadas por una cubierta (membrana o fase externa), puede estar

constituida por una membrana fuerte, delgada, esférica y semipermeable, pueden obtenerse partículas de un tamaño entre 1 y 100 μm La microcápsula simple está compuesta por dos elementos, el material activo y material de pared (Jyothi, Seethadevi, Suria, Muthuprasanna y Pavitra, 2012; Rokka y Rantamaki, 2010; Jiménez, 2010). El tamaño y la forma de estas microcápsulas, dependen de los materiales y métodos usados para prepararlas. En la Figura 5 se presenta la morfología de distintos tipos de microcápsulas donde: A) matriz, B) microcápsula simple, C) microcápsula irregular, D) microcápsula de pared múltiple, E) microcápsula de núcleo múltiple y F) agregado de microcápsulas.

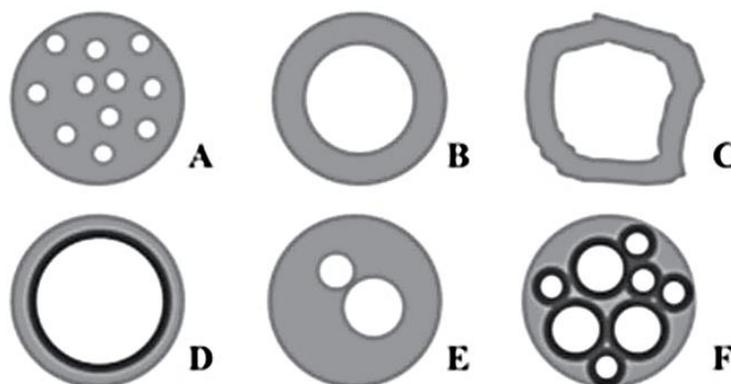


Figura 5 – Morfología de microcápsulas (Estevinho, Rocha, Santos & Alves, 2013)

Los ensayos que aseguran la calidad y homogeneidad de las microcápsulas son: características morfológicas (tamaño de partícula, estructura interna, densidad), rendimiento de producción, eficacia de encapsulación, contenido en material activo, estudio de liberación del material activo y estado físico e interacciones polímero-material activo (Lozano, 2009).

2.6 Generalidades del pan

El pan se consume desde tiempos antiguos, ahora forma parte de la dieta tradicional de varios hogares en todo el mundo, donde cada lugar le brinda las características muy particulares (Salgado & Jiménez, 2012).

La Norma Mexicana, NMX-F-516-1992 es elaborada a partir de levadura, sal, azúcar, harina de trigo y agua. El pan es horneado a partir de una masa fermentada, en panificación se utilizan las harinas duras, debido a que tienen un alto contenido de proteínas que tienen un papel importante en la formación de la masa. Las proteínas son constituidas por gluteninas y gliadinas, quienes junto con el agua, los lípidos forman gluten, los cuales son responsable de las propiedades de cohesividad y viscoelasticidad en el amasado. La red tridimensional retiene el gas producido por la fermentación de las levaduras, confiriéndole textura al pan.

2.6.1 Valor nutritivo del pan

Según Hernández (1999c) el pan de trigo abunda una proteína denominada gluten, que hace posible que la harina sea panificable. También contiene minerales como fósforo, magnesio y potasio. Tiene vitaminas del grupo B como la riboflavina o B₂, tiamina o B₁, piridoxina o B₆ y niacina, mientras que en el pan molde los hidratos de carbono están entre 46% y 54%. Las variedades integrales y de cereales son las más ricas en fibra (Padilla & Jara, 2010).

2.6.2 Descripción de las etapas para la elaboración del pan

Según Clemente, Mayayo, Rozas y Santa Catalina (2013) el proceso que ocurre en cada una de las etapas para la elaboración de pan molde son las siguientes:

2.6.2.1 Amasado

En esta etapa ocurre la homogenización de ingredientes, al añadir agua se produce un cambio en el estado natural de las materias primas transformándose todos los ingredientes en un solo cuerpo llamado masa. La masa es óptima cuando:

- La masa se forma en un solo cuerpo, en la amasadora.
- Estirar una porción para verificar la elasticidad.
- Los poros blancos determinan una buena oxigenación.
- Luego del amasado se obtiene una masa fina.
- Aumento de volumen, como resultado de la hidratación de las proteínas, contacto con el oxígeno y una pequeña fermentación.
- Aumento de la temperatura, producto del roce entre moléculas, por ello se añade el agua helada a la masa para facilitar el trabajo.

2.6.2.2 División y pesaje

La división se realiza en dos etapas: pesado de una gran masa y subdivisión. El tiempo en esta etapa es entre 15 a 25 minutos, tiempos más largos pueden provocar aumento de la temperatura, en el principio de fermentación ocasiona una alta acidez con pesos variables, color de la corteza desigual y ausencia de sabor del pan.

2.6.2.3 Moldeado

En el moldeado se da la forma que corresponde al tipo de pan, en el caso de los panes molde son rectangulares y previamente engrasados. Para lograr el moldeado se realizan cuatro operaciones diferentes que son: aplanar o laminar la masa, sacar gas a la masa, enrollar la masa previamente estirada dándole forma cilíndrica y finalmente aplicar presión sobre la masa para

darle forma larga y redondeada dejándola lista para colocarla en el molde. Esta etapa tiene efectos pronunciados sobre la textura del pan. (Layando, Valverde & Mayaute, 2015).

2.6.2.4 Fermentación

Según Clemente *et al.* (2013) los procesos químicos de fermentación ocasionan aumento de volumen de la pieza, una textura fina y ligera, y producción de aromas agradables. La fermentación alcohólica es la responsable de la mayor parte de aromas del pan, consiste en la transformación de glucosa en etanol y anhídrido carbónico. Aproximadamente el 90% de los azúcares siguen este proceso fermentativo y el 10% sufren fermentaciones diferentes. En la fermentación existen tres etapas fundamentales:

- **Primera etapa:** fermentación rápida. Inicia luego de añadir la levadura en la amasadora, las *Saccharomyces cerevisiae* metabolizan los azúcares libres de la harina.
- **Segunda etapa:** Las enzimas como la α amilasa, β amilasa, glucosidasa y aminoglucosidasa actúan sobre el almidón. En esta etapa es donde se produce la mayor cantidad de fermentación alcohólica a la par que, aunque en menor grado, también se dan otro tipo de fermentaciones complementarias como son la butírica, láctica o acética. El tiempo puede comprenderse desde el reposo de las piezas hasta la fermentación.
- **Tercera etapa:** Es una fermentación de corto tiempo, tiene mucho que ver con el tamaño de la pieza, se finaliza cuando en el interior de la pieza se alcanzan los 55°C a esta temperatura, las células de levadura, mueren. Esta etapa sucede en el horneado.

2.6.2.5 Horneado

En esta etapa las masas sufren cambios físicos, químicos y biológicos. Las piezas de masa son introducidas en el horno, el calor comienza a propagarse del ambiente hasta el interior del

producto, la parte de la masa en contacto con la base del horno absorbe el calor por conducción, y la que esta en contacto con el aire por convección (Tabla 4).

En la cocción se alcanza una temperatura de 100°C. Cuando la migración del agua cesa se forma la corteza. Además, a causa de la temperatura del horno se produce una dilatación del gas y un aumento de vapor de agua, lo que ocasiona el aumento del volumen de pan. Mientras la temperatura aumenta, se producen una serie de fenómenos bioquímicos.

Tabla 4 - Fenómenos que ocurren en el interior de la masa durante la cocción

Temperatura	Evento
30°C	Expansión del gas y producción enzimática de azúcares
40-50 °C	Muerte de las levaduras
50-60 °C	Fuerte actividad enzimática, inicio de la solubilidad del almidón
100 °C	Desarrollo y producción de vapor de agua, formación de la corteza
110-120 °C	Formación de dextrina en la corteza (clara y amarillenta)
130-140 °C	Formación de dextrina parda
140-150 °C	Caramelización (oscurecimiento de la corteza)
150-200°C	Producto crujiente y aromático (pardo oscuro)
Más de 200 °C	Carbonización de la pieza (masa porosa y negra)

Fuente: Layango *et al.* (2015)

2.6.2.6 Enfriamiento

Desde el momento en el que sale del horno, el pan sufre una serie de transformaciones físicas que comprenden básicamente la migración del agua, alcohol y gas carbónico del interior del mismo

hacia el medio exterior, a través de la corteza. Parte de esa agua queda atrapada por la corteza en forma de humedad.

Ello explica el fenómeno claramente visible de ablandamiento de la corteza a medida que el pan se va enfriando. Si el enfriado se produce en un ambiente muy seco (baja humedad relativa del aire), la pérdida de humedad será más importante que si se produce en un ambiente de alto porcentaje de humedad, debido a la propiedad higroscópica del pan.

Al salir del horno, el producto es colocado en carros y transportado a una cámara donde se enfría hasta la temperatura óptima para ser envasado. Esta etapa dura entre tres y cinco horas. Ocurre la evaporación, y el pan pierde aproximadamente de 1 al 3% de su peso (Lezcano, 2011).

Según la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería (2010) en cuanto a la higiene, el área donde se realiza el enfriado del producto debe ser exclusiva para tal fin, separada de las anteriores y mantenerse limpia y en perfecto estado de conservación. El personal debe cumplir con las condiciones de higiene y protección en forma rigurosa. La sala de enfriado debe contar con ventilación suficiente para el enfriado del pan conforme al estándar de la receta.

2.6.2.7 Rebanado y envasado

Las piezas frías se rebanan en partes iguales y se envasan; ésta área que debe estar aislada del resto de la fábrica. A nivel industrial, suelen utilizar cortadoras de alta velocidad equipadas con cuchillas sin fin que dan un corte fino y rebanado. La temperatura de esta sala debe ser de 20 a 22 °C. Los panes son embolsados en bolsas de polietileno de alta densidad (Layango *et al.*, 2015). Las piezas son llevadas hacia un almacén donde se guardan hasta su comercialización.

2.6.2.8 Almacenado

El pan es un producto perecedero, se le añaden sustancias químicas para alargar su vida útil. La mejor forma de almacenar el pan de molde es en un lugar fresco y seco, idealmente con poca luz, y a temperatura ambiente. (Layango *et al.*, 2015). La temperatura óptima es entre 22 y 35 °C y la humedad relativa es 75%. Los panes molde se apilan máximo de 2 unidades para evitar causar daño por deformación y desmoronamiento (Lallemand baking update, 1996).

2.6.3 Deterioro microbiano del pan

El pan es un producto que se deteriora rápidamente pues presenta cambios en el sabor, pérdida de humedad de la miga y endurecimiento (Stanley, Cauvain y Young 2007). Las principales alteraciones microbiológicas son causadas por hongos y levaduras.

2.6.3.1 Deterioro por mohos

El enmohecimiento es el deterioro causado por mohos, y se manifiesta con la aparición de manchas superficiales en el pan. Los mohos del pan son *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* (Sahan, 2011). *Cladosporium*, *Fusarium* (Tarar, Rehman, Mueen-Ud-Din y Murtaza, 2010), *Mucor* y *Eurotium*; de ellos, los más generales son *Penicillium* y *Aspergillus* (Moore, Dal Bello & Arent, 2008).

a) *Aspergillus*

El género *Aspergillus* tiene más de 100 especies y pertenece al grupo *Deuteromycetes*. Las especies del género *Aspergillus* producen esporas asexuales (Jay, Loessner y Golden, 2006). El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de aspergilos, poseen distintos colores entre ellos verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro.

Las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme (Kozakiewicz, 1989).

La presencia de *Aspergillus* en los alimentos depende del sustrato y de los factores ambientales como el pH, temperatura, potencial redox, actividad de agua y presencia de conservantes. Son de hábitat terrestre y su capacidad de crecer con valores de a_w bajos, el *Aspergillus* es un género contaminante muy habitual en cereales y alimentos deshidratados. Su presencia es debida a falta de medidas de higiene, por ejemplo recipientes antihigiénicos, no desinfectados, o de aire no filtrado. También se encuentran frecuentemente contaminaciones superficiales en alimentos ricos en almidón (Jay *et al.*, 2006).

b) *Penicillium*

Las especies del género *Penicillium* son capaces de crecer en medio muy diferentes. Generalmente, estos hongos se encuentran en la naturaleza y están ligados a los procesos de descomposición de la materia orgánica, lo cual conlleva a la degradación de una variada cantidad de alimentos (Jay *et al.*, 2006). Son más de 200 especies, las más comunes, crecen y esporulan en los medios de cultivo habitualmente empleados en el laboratorio, produciendo colonias pequeñas y circulares con tonos gris verdoso o verde-azulados; por ello, la gran mayoría de las especies de este género son reconocidas a nivel de género (Jay *et al.*, 2006).

Se encuentra un gran número de su especie en alimentos, constituyendo, en la mayoría de los casos, este hongo no provoca graves pérdidas económicas (Jay *et al.*, 2006). Algunas especies aisladas a partir de alimentos tienen su hábitat natural en cereales, apareciendo en ellos justo antes o después de la cosecha. En particular, *P. aurantiogriseum*, *P. verrucosum*,

P. viridicatum y otras especies estrechamente relacionadas se encuentran en trigo, cebada y otros cereales cuando se cultivan en regiones templadas. *P. funiculosum* y *P. oxalicum* se encuentran, en cualquier lugar del mundo, asociadas a cultivos de maíz. En el caso de la industria panadera es de gran importante las contaminaciones producidas por *P. expansum* (Jay *et al.*, 2006).

2.6.3.2 Deterioro por levaduras

Las levaduras responsables del deterioro del pan son las filamentosas y las fermentativas. Las filamentosas presentan un crecimiento superficial en forma de manchas blancas, cremas o rosadas; éstas afectan a panes con alta actividad de agua. En cambio las fermentativas ocasionan un deterioro fermentativo por la variación de alcohol y/o de gases que afectan a productos baja actividad de agua (Ribotta & Tadini, 2009).

Las levaduras que causan el deterioro del pan son *Candida guilliermondii*, *Candida parapsilosis*, *Hansenula anómala*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Debaromyces hansenii*, *Serratia marcescens*, *Endomyces fibuliger*, *Saccharornycopsis fibuligera* y *Pichia burtonii* (Stanley *et al.*, 2007).

En panificación la especie *S.marcescens* causa el deterioro conocido como pan rojo por lo cual tienen pigmentos rojos brillantes. *E. fibuliger* ocasiona que el pan tenga una apariencia de yeso en la superficie, debido a la generación de manchas blancas producidas por el microorganismo (Jay, 2000).

2.6.4 Métodos de prevención contra el enmohecimiento del pan de molde

Tejero (2015) menciona métodos utilizados en la industria de panificación para evitar el crecimiento de mohos en los panes:

2.6.4.1 Luz ultravioleta

Los rayos ultravioletas se emplean para la desgerminación ambiental y el control de la expansión. Es un método que actúa sobre la atmósfera de las salas de enfriamiento y empaquetado y bandas transportadoras.

2.6.4.2 Microondas

Los panes son rebanados y empaquetados para llevarlo a la microondas. Para ello se necesita de un horno de banda transportadora a 2450 megaciclos/segundos para conseguir una temperatura de 66° C de 30 segundos a 2 minutos.

2.6.4.3 Envasado aséptico

El envasado aséptico implica el enfriamiento, cortado y envasado en condiciones estériles, descontaminado por luz ultravioleta o por la aplicación superficial por pulverización de antimicrobianos compuestos por propionato cálcico 10% y sorbato potásico 5%.

2.6.4.4 Envasado en atmósfera modificada

En este proceso se cambia el oxígeno del interior de la bolsa de plástico por un gas. El reemplazo por gas produce un efecto fúngico aumentando la conservación de productos. Para ello se necesita una máquina de llenado y sellado de la bolsa, así como un film que evita que los gases introducidos no se escapen. Se reemplaza el oxígeno con Nitrógeno o el CO₂ o una mezcla de ambos.

2.6.4.5 Conservación química

La adición de antimicorbiano es limitado depende del aditivo que se utilice. Los conservantes más eficaces en el pan de molde son:

a) El propionato cálcico

El propionato cálcico (E-282) es el conservante más utilizado en panadería, su acción evita la proliferación de mohos. A mayor acidez mayor acción (pH 5.3).

Es el conservante más eficaz en impedir el crecimiento de mohos. La acción inhibitoria de los propionatos se debe a las moléculas no disociadas del compuesto, debido a que el ácido en forma no disociada es muy soluble en las membranas celulares y puede penetrar fácilmente en la pared celular de hongos y bacterias, y dentro de la célula actúa como potente inhibidor de enzimas esenciales para el metabolismo, de esta manera se logra inhibir el crecimiento y duplicación de los mismos (Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos, 1980). Su actividad frente a levaduras es mínima, los propionatos se pueden emplear en el pan sin perturbar la actividad fermentativa de la levadura en la masa por lo que se puede añadir directamente a la misma (Stanley & Young, 1996; Quaglia, 1991).

b) El sorbato potásico

Sorbato Potásico (E-202) es muy activo contra los mohos actúa mejor con la mezcla de propionato y ácido sórbico. También se agrega en forma de pulverizado cuando el pan sale del horno.

c) Ácido sórbico

Ácido sórbico (E-200) es un ácido insaturado, u acción es muy eficaz en medio ácido pH 5. Debido a que el ácido sórbico inhibe no solo la actividad del moho sino también la de la levadura, no puede añadirse a la masa, pero debe ser rociado sobre el producto después de la cocción (Quaglia, 1991).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugares de Ejecución

La investigación se ejecutó en tres distintas universidades:

- Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL), el Centro de Investigación de Ciencia de Alimentos (CICAL) y el Laboratorio de Procesos, pertenecientes a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión, Lima - Perú.
- Laboratorio de Química de la Facultad de Química de la Universidad Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
- Laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, Lima - Perú.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Material vegetal

Para la obtención de los aceites esenciales se utilizan hojas de orégano seco semi livianas que son obtenidas del departamento de Tacna, provincia Candarave.

3.2.2 Insumos

- Harina panadera (Benoti)
- Sal (Marina)
- Levadura fresca (Mac pan)
- Azúcar blanca (Pantaleon)
- Manteca vegetal de palma (Gusto selecto de oro)
- Mejorador enzimático (Montana)

- Leche en polvo (Montana)
- Agua
- Goma Arábiga (Insuquímica S.A.C.)
- Maltodextrina DE 10 (Frutarom S.A.)
- Almidón modificado de maíz (Insumos y Soluciones S.A.C.)
- estearoil lactilato de sodio (SSL) (Granotec S.A.)
- Esencia de leche (Química)

3.2.3 Reactivos

- Alcohol etílico puro 96°C (Laboratorio CENTROLAB, Perú)
- Éter de petróleo (Merck, Perú)
- Fenolftaleína 1%
- Hidróxido de sodio 0.1 N

3.2.4 Materiales

- Bureta graduado en divisiones de 0,1mL
- Vaso precipitado 50 y 200mL
- Envases ámbar de vidrio
- Probetas 100, 250 y 500mL
- Mechero bunsen
- Placas Petrifilm
- Matraz erlemeyer 250 y 500 mL
- Pipeteador
- Pipetas 1 y 10mL
- Bolsas herméticas con zipp, medianas de 17.5 x 20cm

- Bolsas polietileno de alta densidad
- Crisol
- Termómetro de mercurio (-10 a 50°C)
- Recipientes
- Picnómetro 10mL (ISOLAB, Alemania)
- Pera de decantación 50mL
- Tela poliseda
- Inyectables
- Pinza metálica
- Envases ámbar
- Papel filtro
- Cucharillas
- Hornillas
- Termómetro infrarrojo digital (BOECO BE700, Alemania)

3.2.5 Equipos

- Extractor de aceite esencial (INNOVA, Perú)
- Atomizador mini spray dryer (BUCHI B-290, China)
- Microscopia Electrónica de Barrido (Carl Zeiss EVO MA 10, Alemania)
- Amasadora (Josisa AS 15, Perú)
- Refrigerador (LG, GM-328QC, Perú)
- Horno industrial (Josissa 036, Perú)
- Fermentadora (Josissa CF04, Perú)
- Balanza analítica (OHAUS PA214, China)

- Termo agitador con pastilla (H. W. Kessel SP18420-26, Perú)
- Termo agitador (Shaker S3, ELMI, Chile)
- Aqualab (Decagon Devices, modelo 3TE, Canadá)
- Analizador de humedad (PESACON MX-50, Perú)
- Baño ultrasónico (Branson 1-291, México)
- Autoclave (FRAVILL – AVA080)
- Potenciómetro (HANNA edge HI 2020, Romania)
- Refractómetro digital (ABBE, Alemania)
- Licuadora (Oster BRLY07-500-051, México)

3.3 Metodología experimental

La ejecución de la presente investigación se realizó en 4 etapas las cuales se esquematizan en la Figura 6.

3.3.1 Caracterización de aceite esencial de orégano

Los pasos realizados para la obtención del aceite esencial de orégano son:

3.3.1.1 Acondicionamiento de la materia prima

Se obtuvo las hojas de orégano secas del departamento de Tacna distrito Candarave, el método de secado fue mediante secadores solares con ventilación. Las hojas fueron seleccionadas de los tallos y las flores. Al llegar al laboratorio, el material se extendió para evitar la contaminación por hongos. Se colocó en un lugar con sombra a temperatura ambiente (22°C) por 24 horas.

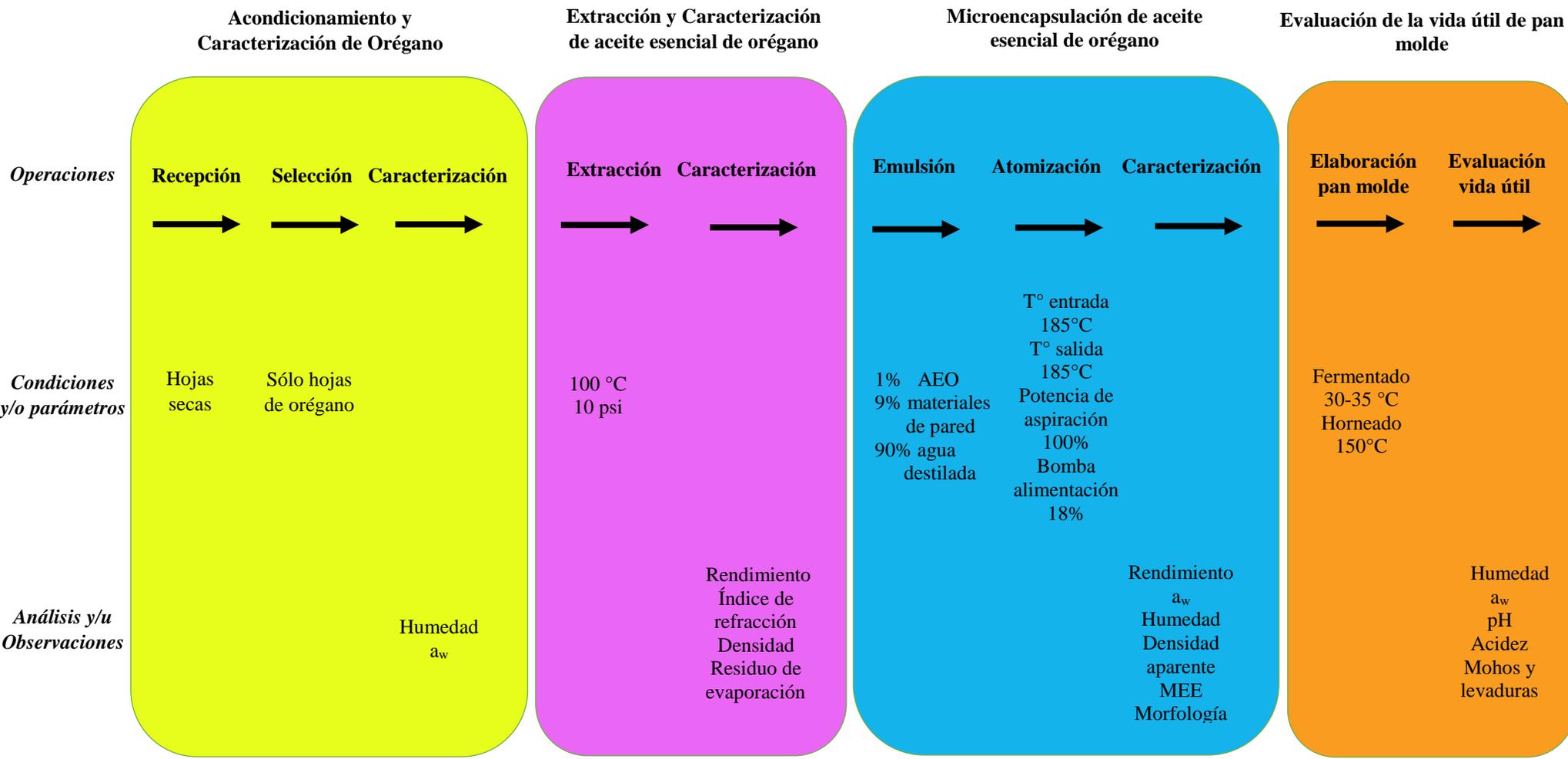


Figura 6 – Esquema general de la investigación

3.3.1.2 Caracterización de las hojas de orégano

a) Determinación de humedad

Se pesó 1 g y se procedió a colocar la muestra en el analizador de humedad (MX-50, marca: Pesacon), proporcionado por el Centro de Aplicación de Productos Unión, la medición se realizó por triplicado.

b) Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua de las hojas de orégano fue medida en el equipo Aqualab (Decagon Devices, modelo 3TE, Canadá), proporcionado por el Centro de Aplicación de Productos Unión, la medición se realizó por triplicado.

3.3.1.3 Extracción del aceite esencial de orégano

Se procesaron las hojas de orégano en tres lotes de 2kg y uno de 1.4kg, cada extracción tardó 90 min. El procedimiento para la extracción de aceite esencial de orégano se realizó por arrastre de vapor según la metodología de Albarracín y Gallo (2003). El esquema del equipo usado se muestra en la Figura 7.

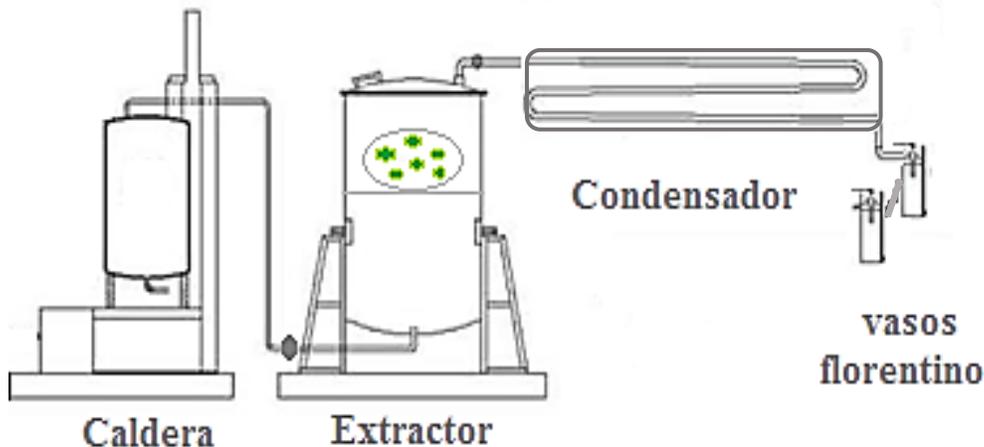


Figura 7 – Esquema de destilador mediante arrastre por vapor

El vapor de agua se inyectó desde una caldera externa por medio de tubos difusores, ubicados en la parte inferior del extractor. Las hojas de orégano (envueltas en poliseda) se colocaron sobre una parrilla interior del tanque extractor. Se cerró el tanque de extracción y se permitió el pase del vapor de agua (100°C y 10 psi), éste provocó que los aceites esenciales se difundan desde las membranas de la célula hacia fuera. Los vapores de agua y aceite esencial que salieron, se enfriaron hasta regresar a la fase líquida en el condensador, posterior a ello se recolectó aceite esencial y agua floral, y finalmente se procedió a la decantación del aceite esencial. El aceite esencial se almacenó en un envase ámbar y se mantuvo refrigerado a -5 °C durante 12 horas.

3.3.1.4 Caracterización de aceite esencial de orégano

a) Rendimiento de aceite esencial orégano

El rendimiento se obtuvo a partir de la ecuación 1:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{aceite esencial obtenido (mL)}}{\text{peso de orégano (g)}} \times 100 \quad (1)$$

b) Índice de refracción

La medición del índice de refracción se realizó en el laboratorio de la Facultad de Química de la Universidad Mayor de San Marcos según la Norma Técnica Peruana 209.121.1975. Se limpió cuidadosamente el prisma con acetona. La prueba se realizó utilizando un refractómetro digital ABBE. Se vertió unas gotas de la muestra en el prisma inferior, se ajustó con el prisma superior de forma que quede entre ellos una capa de muestra, libre de burbujas de aire.

Se dejó en reposo de uno a dos minutos o hasta que la muestra alcanzó 20°C. Se hicieron girar los prismas hasta que el campo aparezca dividido en una porción oscura y otra iluminada,

procurando que en la separación de ambas porciones no aparezca una banda de dispersión, sino una línea nítida. Se ajustó la posición de esta línea de modo que pase por el punto de intersección de los hilos del retículo y se lee sobre la escala el valor del índice de refracción de la muestra, el análisis se realizó por triplicado.

c) **Densidad**

El procedimiento general para la determinar de la densidad del aceite esencial de orégano fue mediante el método picnométrico, mediante la Norma Técnica Peruana 209.128.1980. Se utilizó un picnómetro de 10mL, el picnómetro estuvo a temperatura ambiente y se procedió a pesar y anotar. Segundo, se llenó de agua hasta el borde superior del tubo, se pesó y se anotó. Finalmente se llenó de aceite esencial de orégano, se pesó y se anotó. Así se calculó la densidad expresada en g/mL. El análisis se realizó por triplicado. Para sacar el cálculo de la densidad se utilizó la ecuación 2:

$$Densidad = \frac{(P'' - P)}{(P' - P)} \times D \quad (2)$$

Donde:

P = peso en g del picnómetro vacío.

P' = peso en g del picnómetro lleno con agua

P'' = peso en g del picnómetro lleno con aceite

D = densidad del agua

d) Residuo de evaporación

La determinación del residuo de evaporación se llevó a cabo mediante el método descrito Norma Técnica Peruana 319.089:1974, para aceites esenciales.

Se pesó 1 g de aceite esencial de orégano, y se añadió en una cápsula de porcelana que se taró previamente. Se llevó la cápsula con la muestra al baño de vapor, en donde se dejó ininterrumpidamente una hora a 80°C se retiró del baño y se dejó enfriar en el desecador. Finalmente se procedió a pesar. La prueba se realizó por triplicado. Los resultados se expresaron en porcentajes y se calcularon con la ecuación 3:

$$\% \text{ residuo de evaporación} = \frac{\text{peso del residuo (g)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100 \quad (3)$$

3.3.2 Microencapsulación de aceite esencial de orégano mediante secado por atomización

La microencapsulación se realizó con los siguientes materiales: goma arábiga, maltodextrina, almidón modificado, agua destilada y aceite esencial de orégano. El equipo utilizado fue el atomizador de marca BUCHI -290 Meri Spray.

3.3.2.1 Elaboración de la emulsión

Para la elaboración de la emulsión, se obtuvo la formulación de Alvarenga *et al.* (2012) con modificaciones.

- Para la preparación de 1 litro de emulsión, primero se hidrataron la maltodextrina y goma arábiga en agua destilada durante 12 horas a 25°C, luego los materiales de pared se licuaron en agua destilada a 60-70°C por 1 minuto.

- Después se añadió el almidón modificado a temperatura no mayor de 80 °C y se procedió a homogenizar durante 1 minuto. Se añadió el aceite esencial de orégano con temperatura de 10°C, se prosiguió con la mezcla hasta conseguir una emulsión completamente homogénea. En la Tabla 5 se presentan los componentes y porcentajes usados para la formación de la emulsión.

Tabla 5 - componentes para la formación de la emulsión

Componentes	Porcentaje
Agua destilada	90%
Materiales de pared*	9%
Aceite esencial orégano	1%

* Maltodextrina 12.75%, goma arábiga 36.25% y almidón modificado de maíz 51%

3.3.2.2 Secado por atomización

Los parámetros para el secado por atomización de aceite esencial de orégano, fueron obtenidos de Alvarenga *et al.* (2012) (Tabla 6). Mientras que en la Figura 8 se muestra el esquema del proceso de microencapsulación.

Tabla 6 – Parámetros de atomización

Parámetros	condiciones
Temperatura de aire de entrada	185 °C
Temperatura de aire de salida	185 °C
Potencia de aspiración	100%
Bomba peristáltica de alimentación	18%
Caudal de alimentación	1 L.h ⁻¹

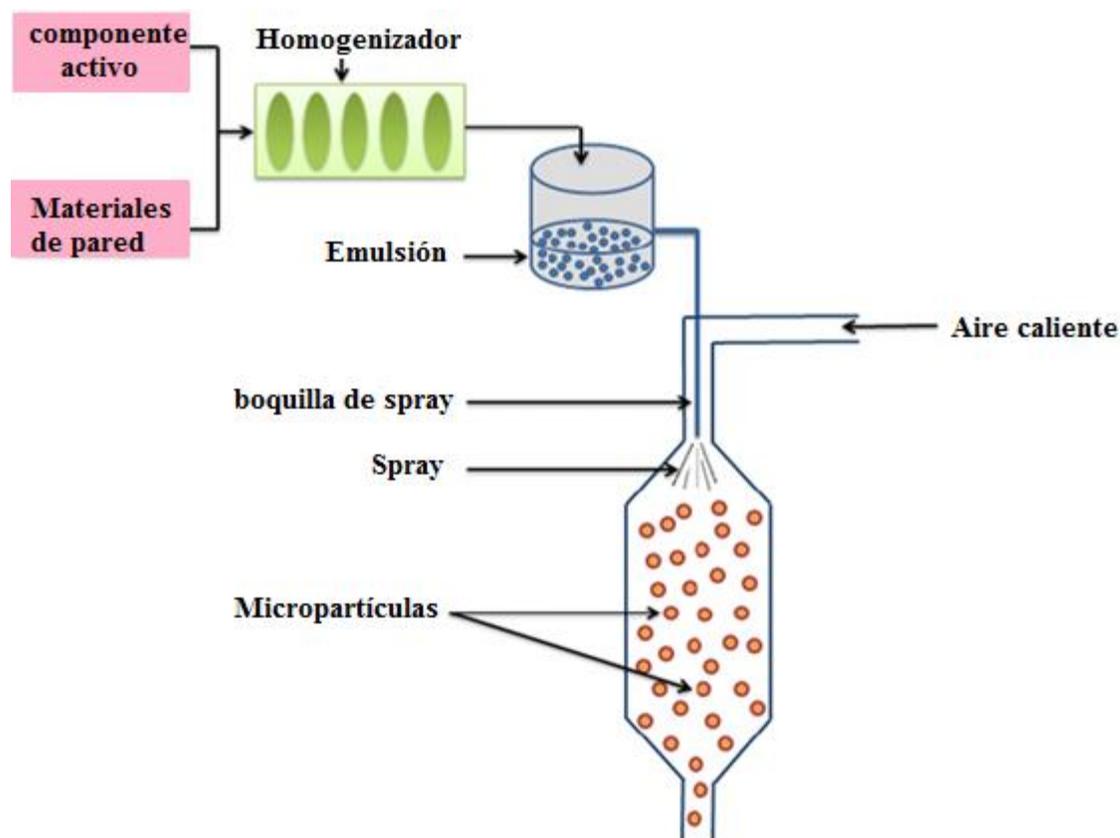


Figura 8 - Esquema del proceso de microencapsulación mediante secado por pulverización (Bakry *et al.*, 2015)

3.3.2.3 Caracterización de microencapsulado de aceite esencial de orégano

a) Rendimiento de microencapsulado

La muestra en polvo obtenida tras el secado por atomización fue pesada en una balanza semi-analítica CKG-3 y se obtuvo el rendimiento a partir de la ecuación 4:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{microencapsulado obtenido (g)}}{\text{materiales de pared y aceite esencial (g)}} \times 100 \quad (4)$$

b) Actividad de agua (a_w)

El análisis de a_w se realizó en la planta de productos unión, se colocó en el equipo una pequeña cantidad de microencapsulado aceite esencial de orégano y se esperó por unos minutos la lectura correspondiente, el análisis se realizó por triplicado.

c) Determinación de humedad

Se pesó 1 g de microencapsulado de AEO y se procedió a colocar la muestra en el analizador de humedad (MX-50), proporcionado por el Centro de Aplicación de Productos Unión, el análisis se realizó por triplicado.

d) Determinación de la densidad aparente

Dos gramos de microencapsulado se pesaron en una probeta de 10mL, el volumen es leído después de dos golpes suaves sobre una superficie plana. La densidad aparente se calculó a partir del peso de microencapsulado contenido en la probeta entre el volumen ocupado. (Bhandari *et al.*, 1992). La prueba se realizó por triplicado. La densidad aparente se calculó mediante la ecuación 5:

$$D = \frac{M}{V} \quad (5)$$

Donde:

D: densidad

M: masa (g)

V: volumen (mL)

e) Eficiencia microencapsulación (MEE)

Según Velasco, Marmesat, Dobarganes y Márquez (2006) la eficiencia de microencapsulación se calcula a partir del contenido de aceite total y la cantidad de aceite superficial, según la ecuación 6:

$$MME = \frac{\text{Aceite Total} - \text{Aceite superficial (mL)}}{\text{Aceite total (mL)}} \times 100 \quad (6)$$

f) Cantidad de aceite superficial

El aceite superficial, también conocido como fracción de aceite no encapsulado, se determinó según Quispe *et al.* (2011) con modificaciones. Se pesó la muestra (500 mg) en un embudo con papel filtro preparado manualmente. El embudo se colocó encima de una probeta de 25mL que fue tarada previamente. Las microcápsulas se lavaron 5 veces usando 1mL de éter de petróleo a temperatura ambiente utilizando un total de 5mL. Después de la filtración, el disolvente se evaporó de la probeta y se determinó el aceite extraído, que se consideró como el aceite superficial. El análisis se realizó por triplicado.

g) Cantidad de aceite total microencapsulado

La metodología utilizada fue la de Quispe *et al.* (2011). En un vaso de precipitado de 50mL se depositó 500mg de microcápsula y fue disuelta en 5mL de solución acuosa de etanol (85mL de etanol/100 mL). La muestra se agitó suavemente y se colocó en un baño de ultrasonidos a temperatura ambiente (25°C) por 15 minutos.

Se procedió a colocar el vaso de precipitado en un agitador, la muestra fue mezclada con 5mL de éter de petróleo. Al observar la separación de fases, se vertió la fase superior en una placa

petri previamente tarada. Este procedimiento se realizó cinco veces utilizando un total de 25mL de éter de petróleo. El éter de petróleo se evaporó y el aceite esencial quedó capturado. Finalmente se pesó la placa y se obtuvo el contenido de aceite total, el análisis se realizó por triplicado.

h) Morfología de microcápsulas

Para conocer la morfología exterior de las microcápsulas de aceite esencial de orégano se llevó a analizar la muestra al laboratorio de Microscopia Electrónica de Barrido de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, en el equipo de Microscopia Electrónica de Barrido (Carl Zeiss EVO MA10 SEM), mediante el software SmartSEM versión 5.09.

3.3.3 Elaboración de pan molde con microencapsulado AEO

Los panes molde con MAEO se elaboraron de la siguiente manera (Figura 9):

a) Pesado

Se realizaron 3 tratamientos, 16 panes molde con 1% de microencapsulado, 16 panes molde con 1.5% de microencapsulado y 16 panes molde con 2% de microencapsulado.

b) Mezclado

Para cada formulación se realizó primero la mezcla de productos secos: harina panadera, sal, azúcar, leche en polvo, SSL (estearoil lactilato de sodio) y MAEO (microencapsulado de aceite esencial de orégano), posteriormente se añadió la manteca vegetal, levadura fresca y agua fría. El tiempo de mezclado fue de 3 minutos.

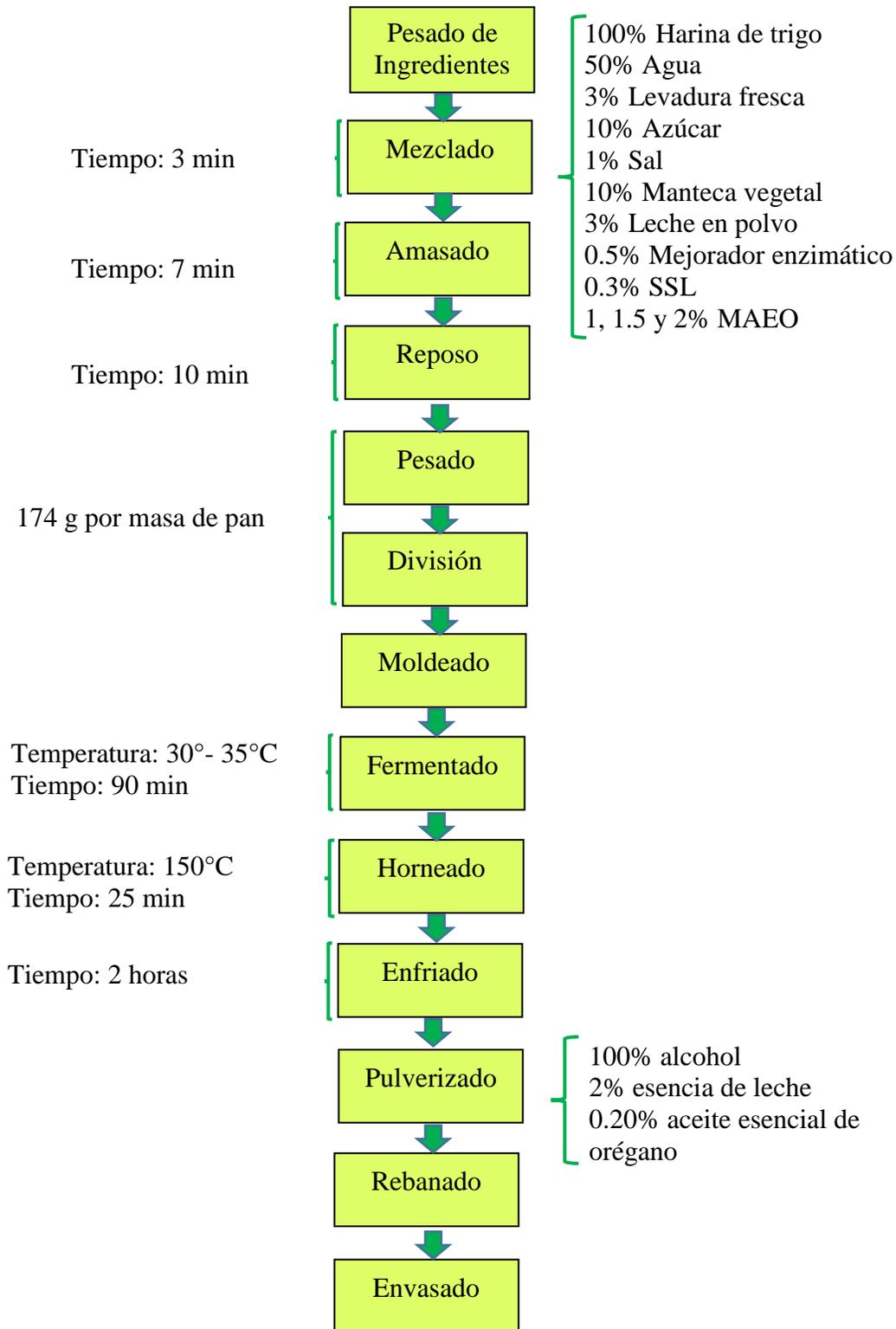


Figura 9 – Diagrama de flujo de la elaboración de pan molde

c) Amasado

El amasado se realizó mecánicamente. Por un lapso de 7 minutos en segunda velocidad, hasta lograr la elasticidad de la masa, llegando al punto gluten.

d) Reposo

Se dejó la masa en reposo por 10 minutos, la mesa fue engrasada previamente para evitar que se pegue a ésta.

e) Pesado y división

Posteriormente se pesó la masa total y se procedió a dividir, el peso de un pan molde fue de 174g. Alternó a esta etapa se lavaron, desinfectaron, secaron y engrasaron con poca cantidad de manteca cada uno de los moldes para poder colocar la masa.

f) Moldeado

Las masas se bolearon dando una forma cilíndrica se comprimieron, estiraron y sellaron. Luego las masas fueron colocadas en los moldes.

g) Fermentado

Para el fermentado se colocaron los moldes en bandejas que posteriormente se introdujeron a la cámara fermentadora a 30-32°C por 1 hora y 30 minutos.

h) Horneado

El horno fue precalentado con 20 minutos de anticipación para alcanzar la temperatura de 150°C, luego se retiraron los moldes de la cámara fermentadora y se colocaron en el horno, el tiempo de cocción fue de 25 minutos.

i) Enfriado

Culminado el tiempo de cocción, se retiraron los moldes del horno, e inmediatamente se separaron los panes de sus moldes. Se dejaron enfriar encima de láminas de papel por 2 horas a temperatura ambiente (25°C), con el objetivo de que éste absorba la grasa del pan.

j) Pulverización superficial

Una vez enfriado, todos los panes fueron cubiertos por un tratamiento superficial aplicando una solución que contuvo 300mL alcohol etílico, 6mL de esencia de leche y 0.6mL de aceite esencial de orégano.

k) Rebanado

En este proceso se tuvo cuidados higiénicos, puesto que los panes son propensos a los mohos del medio ambiente. Se procedió a contar los panes en 11 rebanadas.

l) Envasado

El pan rebanado, se envasó en bolsas de polietileno de alta densidad. Se simularon las condiciones de almacenamiento comúnmente realizados por empresas panaderas, para ello se llevó al laboratorio de Procesos, para mantenerlo en un ambiente fresco, seco, y con poca luz, la temperatura varió entre 22 y 25°C (Figura 10).



Figura 10 - Panes molde con 1%, 1.5% y 2 % de MAEO

3.3.4 Evaluación del efecto antimicrobiano de AEO microencapsulado y pulverizado

Para evaluar el efecto antimicrobiano de pan molde con microencapsulado, se trabajaron con los factores de actividad de agua, humedad, acidez, pH y, mohos y levaduras.

3.3.4.1 Diseño experimental

El diseño experimental escogido fue el Diseño de Bloques Completamente Aleatorio (DBCA)

(Tabla 7). Las variables estudiadas fueron:

- **Variables independientes:** Días de almacenamiento (1 al 21 días), tratamientos (1%, 1.5% y 2% de MAEO)
- **Variables dependientes:** actividad de agua, humedad, acidez, pH y, mohos y levaduras.

Tabla 7 – Diseño de Bloques Completamente Aleatorio

Variable dependiente			
Días de almacenamiento	Tratamiento 1	Tratamiento 1.5	Tratamiento 2
1			
3			
5			
7			
9			
11			
13			
15			
17			
19			
21			

Se realizó el análisis de COVARIANZA, una combinación de análisis de varianza y de regresión lineal. El ANOVA fue medido en los últimos días de almacenamiento (15 a 21 días). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistics 7.0 y Microsoft Excel 2013.

3.3.4.2 Procedimiento para el análisis de vida útil

Se elaboraron 48 panes molde, de tales se cogió 3 muestras por día. Los análisis de laboratorio se realizaron interdiariamente por 21 días. Los análisis realizados fueron:

a) Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua de la miga fue medida usando el AquaLab Series Decagon Devices, modelo 3TECanadá a 25 °C. El análisis se realizó por triplicado.

b) Humedad

Se pesó 1.3g de miga y se procedió a colocar la muestra en el plato para el análisis de humedad, proporcionado por el Centro de Aplicación de Productos Unión, se realizó por triplicado.

c) Acidez titulable (ATT)

Se determinó según la AACC por el método 02-31.

d) pH

Se determinó según la AACC por el método 02-52.

e) Determinación de mohos y levaduras

Para comprobar el efecto que tuvo la adición de microencapsulado de aceite esencial de orégano sobre el crecimiento de mohos y levaduras se evaluaron los panes molde con la metodología AOAC 2014.05.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Caracterización de las hojas de orégano

4.1.1 Determinación de humedad

La humedad en base seca de las hojas de orégano es de 13.44%. En comparación con otras hojas (Tabla 8), la humedad obtenida de las hojas de orégano es mayor, este resultado se debe, a que el producto es expuesto al ambiente por 24 horas antes de procesarlo, con el objetivo de evitar la proliferación de mohos. Según Vásquez, Alva y Marreros (2001) la humedad correcta es importante, pues ésta demuestra si se perdieron sustancias químicas del aceite esencial en el proceso de secado.

Tabla 8 - Tipos de secado y humedad final de diferentes materias primas

Tipo de producto	Tipo de secado	Humedad Final (%)	Referencia
Hojas de orégano	Secado natural	10-12	Limache (2012)
Hojas <i>Lippia origanoides</i> H.B.K (orégano de monte)	Secado en sombra a 18°C durante 8 días	12	Arango, Hurtado, Pantoja, & Santacruz (2014)
Hojas hierbabuena	Secado eléctrico	10	De León (2005)

4.1.2 Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua es de 0.617. El Codex Alimentarius (2014) mediante las especificaciones mínimas de calidad para hierbas y especias, menciona que la actividad de agua es un parámetro clave para el crecimiento microbiológico. Cuando un microorganismo se encuentra en un substrato

con una actividad de agua menor de la que necesita, su crecimiento se detiene, por tanto se recomienda un valor máximo de 0.65. Tonguino (2011) realiza la deshidratación de orégano y menta, la actividad de agua es de 0.45 y 0.43 respectivamente. García, Rugel, Rodríguez y Vargas (2010) obtienen la actividad de agua del cilantro y el perejil deshidratados sus valores son de 0.27 a 0.41. La actividad de agua obtenida en comparación con otras hojas es mayor, a pesar de ello, no excede el parámetro establecido por el Codex Alimentarius.

4.2 Caracterización de aceite esencial de orégano

4.2.1 Rendimiento del aceite esencial de orégano

El rendimiento obtenido es de 0.5%, quiere decir que se obtuvo 37mL de aceite esencial a partir de 7.4Kg. Comparando el resultado obtenido con otros autores (Tabla 9) el rendimiento obtenido es menor.

Tabla 9 - Rendimientos de extracción de aceite esencial de orégano

Orégano	Método	Rendimiento (%)	Referencia
Seco y molido	Arrastre vapor	1.30	Albado, Saez & Grabiell (2001)
Silvestre seco	Arrastre vapor planta piloto	2.76	Arango <i>et al.</i> (2012)
Seco	Hidrodestilación cleveger	0.1 a 0.7	Gong, Liu, Zhou & Xiaoying (2014)
Seco	Hidrodestilación	0.647	Andreatta <i>et al.</i> (2009)

El motivo de esta variación es debido a diferentes factores tales como el origen, la edad y la especie de planta, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de cultivo); métodos de cultivo y condiciones geobotánicas: clima, altitud, tipo de suelo, luminosidad, pluviosidad; época de recolección (Stashenko *et al.*, 2010; Blanco y Agudelo, 2007). También el método de extracción y los parámetros operacionales del proceso tales como tiempo, temperatura y cantidad de agua empleada (Tafur, Martinez & Stashenko, 2005).

4.2.2 Índice de refracción

El índice de refracción es una propiedad utilizada para controlar la pureza y calidad de los aceites. El resultado obtenido en este trabajo es de 1.478. Torrenegra, Matiz, Gil y León (2015) y Albado, Saenz y Grabiél (2001) obtienen 1.476 y 1.477 respectivamente para aceite esencial de orégano. Rodríguez (2014) evalúa el aceite esencial de cultantro y obtiene un resultado de 1.475. Por otro lado Granados, Santafé y Acevedo (2015) encuentran un valor de 1.464 para aceite esencial de eucalipto. Comparando los resultados de los autores con el obtenido en este trabajo, son similares. Para añadir Simon y Singh (2001) mencionan que los aceites esenciales tienen un alto índice de refracción, estos valores denotan un gran contenido de compuestos oxigenados.

4.2.3 Densidad

La densidad del aceite esencial de orégano obtenida es de 0.9127g/mL. En la Tabla 10 se observa las densidades de aceites esenciales de orégano, en comparación con este trabajo es similar, pero con otros aceites esenciales las densidades son diferentes.

Tabla 10 – Densidad de distintos aceites esenciales

Aceite esencial	Características	Densidad (g/mL)	Referencia
Orégano	Hidrodestilación, hojas desecadas y trituradas	0.9037	Guerra, Galán, Méndez & Murillo (2008)
Orégano	arrastre vapor, hojas secas y molidas	0.9232	Albado, Saez & Grabiél (2001)
Orégano	arrastre vapor, hojas frescas y trozadas	0.9259	Torrenegra, Matiz, Gil & León (2015)
orégano comercial	arrastre de vapor	0.938	Paparella, Mazzarrino, Chaves, Rossi, Sacchetti, Guerrieri & Serio (2016)
Manzanilla	Arrastre vapor	0.66	González (2004)
Cedro	con material seco	0.64	
Romero	Arrastre vapor	0.82	Coy & Acosta (2013)
Tomillo	Con material	0.80	
Cúrcuma	fresco	1.25	

4.2.4 Residuo de evaporación

El residuo de evaporación es de 0.24g. González, Corral y González (2012) evalúan el residuo de evaporación de aceite esencial de orégano sus resultados varían entre 0.2981 y 0.7798g. Flores

(2009) también evalúa el residuo de evaporación de aceite esencial de orégano y sus resultados varían entre 0.15 y 0.45g. Por otro lado Camacho (2011) encuentra que el residuo de evaporación de aceite esencial de muña está entre 0.8442 y 0.8526g.

Ortuño (2006), Husnu y Buchbauer (2016) mencionan que el residuo de evaporación es un método importante utilizado para la determinación de pureza de los aceites esenciales. Como normal general un aceite esencial se evapora fácilmente, no tiene partículas en suspensión y no deja residuo sólido al evaporarse a 100°C. Un valor alto indica la presencia de materiales que no son volátiles. El valor resultante en este trabajo es bajo, por tanto se considera que el aceite esencial de orégano es de buena calidad.

4.3 Caracterización del microencapsulado del aceite esencial de orégano

4.3.1 Rendimiento del microencapsulado

De 100 g de materiales de pared y aceite esencial de orégano, se obtuvo 72.22 g por tanto, el rendimiento de microencapsulado es de 72.22%. Cuaspud (2015) microencapsula aceite de palta con goma arábica y maltodextrina en relaciones de 1:0 y 1:1 a 180°C, el rendimiento es de 36%. Alvarenga *et al.* (2012) microencapsulan aceite esencial de orégano, ellos utilizan maltodextrina, goma arábica y almidón modificado, la temperatura es de 185°C y el rendimiento obtenido es 59.7%. Tonon, Brabet y Hubinger (2008) microencapsulan açai con maltodextrina, la temperatura es de 112°C obteniendo un rendimiento de 55.66%. Adamiec (2009) microencapsula aceite esencial de hierbabuena a distintas concentraciones de maltodextrina, la temperatura está entre 159-160°C y los rendimientos son de 57.2%, 67.5% y 70.6%.

En comparación con los autores, el resultado obtenido en este trabajo es mayor. Roccia, Martinez, Llabot y Ribotta (2004) refieren que la temperatura de secado, la velocidad de alimentación y la capacidad de aspiración del ciclón son los factores que influyen para obtener mejores

resultados, dado que a altas temperaturas el aire de secado incrementa la velocidad de evaporación del agua, lo que da como resultado mayor cantidad de microencapsulado.

Otro factor influyente es la elección y la cantidad de materiales de pared usados en la emulsión, mientras mayor es el contenido de sólidos en la mezcla, la viscosidad aumenta, ocasionando que estos sólidos se adhieran a la pared del atomizador, reduciendo así el rendimiento de microencapsulado (Rosenberg, Kopelman & Talmon, 1990; Goubet, Le Quere & Voilley, 1998; Tonon *et al.*, 2008).

4.3.2 Determinación de la actividad de agua (a_w)

Un factor importante en la estabilidad de microcápsulas es la actividad de agua, el resultado obtenido es de 0.161. En la Tabla 11 se muestra los resultados de otros autores.

Tabla 11 - Actividad de agua de distintos microencapsulados

Microencapsulado	Materiales	a_w	Referencia
Aceite esencial de orégano	Goma arábica, maltodextrina y almidón modificado	0.061-0.159	Alvarenga <i>et al.</i> (2012)
Aceite esencial de romero	goma arábica	0.113-0.843	De Barros <i>et al.</i> (2013)
Aceite esencial de sucupira	goma arábica y maltodextrina	0.09-0.276	Alves <i>et al.</i> (2014)

Soottitawat *et al.* (2004) indican que, con el aumento de actividad del agua aumenta la velocidad de liberación del núcleo. Ésta idea se refuerza con la de Hardas *et al.* (2002), cuando el

microencapsulado se almacena en actividades acuosas bajas entre 0.14 y 0.44, la liberación del núcleo se realiza de forma lenta, este suceso ocurre debido a la menor movilidad de las moléculas. Además Gharsalloui *et al.* (2007), Pillai, Prabhasankar, Jena y Anandharamakrishnan (2012) y Turchiuli *et al.* (2005) indican que la actividad de agua con valor máximo de 0.2 para microcápsulas, asegura la estabilidad microbiológica, reduce el riesgo de degradaciones químicas y biológicas, además evita la coalescencia de partículas. Por tal motivo la actividad de agua obtenida en este trabajo, es propicia para la conservación del microencapsulado.

4.3.3 Determinación de la humedad

La determinación de la humedad se realiza en base seca, el resultado es de 6.10%. En la Tabla 12 se muestra los resultados de humedad de distintos autores.

Tabla 12 – Humedad de microencapsulados de distintos aceites esenciales

Microencapsulado	Temperatura atomización	Humedad (%)	Referencia
Aceite esencial de <i>lippia sidoides</i>	160°C	4.23-4.82	Fernandes <i>et al.</i> (2008)
Aceite esencial de romero	170 °C	1.40-3.56	De Barros <i>et al.</i> (2014)
Aceite de lino	135 °C	3.49-5.33	Quispe-Condori <i>et al.</i> (2011)
Aceite esencial de chía	135°C	4.34-5.38	Rodea <i>et al.</i> (2012)

En comparación con este estudio, se obtiene un contenido de humedad superior. El caudal de alimentación en este trabajo es de 1 L.h^{-1} , mientras que para De Barros *et al.* (2013) varía entre 0.50 y 1 L.h^{-1} , de tal forma que su óptimo caudal es de 0.7 L.h^{-1} , según el autor las altas velocidades de alimentación incrementan la humedad de la microcápsula.

La concentración de goma arábica en este trabajo es de 36.25% , Tonon, Grosso y Hubinger (2011) argumentan que otro motivo por el cual la humedad del microencapsulado es alta, es por la concentración de goma arábica puesto que las moléculas son grandes e impiden la difusión de las moléculas de agua.

4.3.4 Determinación de la densidad aparente

Uno de los parámetros de calidad para evaluar el microencapsulado es la densidad aparente, debido a que afecta en la fluidez y estabilidad de almacenamiento (Fitzpatrick, 2005). La densidad aparente es de 0.370g/mL . Alvarenga *et al.* (2012) determinan la densidad aparente de microcápsulas de aceite esencial de orégano, sus valores varían entre 0.338 y 0.451g/mL . De Barros *et al.* (2013) evalúan las microcápsulas de aceite esencial de romero, de la mezcla de goma arábica y maltodextrina obtienen una densidad de 0.31g/mL . Laohasongkrama, Mahamaktudsanee y Chaiwanichsiri (2011) microencapsulan aceite de macadamia con caseinato de sodio y maltodextrina, y la densidad aparente varía entre 0.33 y 0.43g/mL .

Según Beristain, García y Vernon (2001) la temperatura es uno de los parámetros más influyentes en la densidad aparente. Pero también influyen el tamaño de partícula, la humedad, las condiciones de procesamiento y la manipulación. Gómez y Jiménez (2014) comentan que cuando la temperatura del aire en la entrada es baja (menor a 140°C), la velocidad de evaporación disminuye y produce encapsulados con membranas de alta densidad, alta contenido de agua, poca fluidez y facilidad de aglomeración. Y a temperaturas altas ($160\text{-}220^{\circ}\text{C}$) se forma una membrana

semipermeable en la superficie de la gota que le brinda una retención óptima. La temperatura de entrada para la microencapsulación es de 185°C (temperatura alta), la densidad aparente obtenida es cercana en comparación con la de los autores.

4.3.5 Eficiencia microencapsulación (MME)

La eficiencia de microencapsulación de aceite esencial de orégano es de 96.39%. López *et al.* (2014) microencapsulan aceite esencial de molle a 160°C, utilizan goma arábica y maltodextrina, obteniendo resultados entre 96 y 100%. Silva, Vieira y Hubinger (2014) microencapsulan aceite de café verde a 170°C con almidón modificado, goma arábica y maltodextrina, obtienen resultados entre 82 y 99% de eficiencia. Bringas-Lantigua *et al.* (2011) microencapsulan aceite de mandarina a 200°C, con goma arábica y maltodextrina, las eficiencias de microencapsulado son entre 98.4 y 99.6%.

El resultado obtenido en este trabajo similar en comparación con los resultados de otros autores. Favaro, Pinho y Rocha (2008) argumentan que la selección de un material de pared es importante para obtener una óptima microencapsulación. Considerando la información se utilizó goma arábica, maltodextrina y almidón modificado puesto que son los materiales más utilizados. Kanakdande, Bhosale y Singhal (2007) refieren que la goma arábica como material de soporte proporciona una mayor protección en comparación con la maltodextrina y el almidón modificado. Ellos realizan pruebas de mezclas de la goma arábica, la maltodextrina y el almidón modificado, logrando una mejor protección de la oleorresina de comino.

Según Barbosa *et al.* (2005), cuanto más estable es la emulsión, mayor es la eficiencia de microencapsulación, es decir, menor es la cantidad de aceite esencial no encapsulado en la superficie de las partículas. Carneiro, Tonon, Grosso y Hubinger (2013), Jyothi *et al.* (2012)

mencionan que otro motivo para obtener una buena eficiencia son las diferencias entre las matrices poliméricas formadas por los materiales de pared.

4.6.5 Morfología de microcápsulas

Las muestras analizadas presentan formas irregulares, algunas microcápsulas con superficies lisas y otras con deformaciones similares a cráteres (Figura 13). Alvarenga *et al.* (2012) evalúan la morfología de microcápsulas de aceite esencial de orégano, éstas resultan esféricas y otras con deformaciones superficiales. Las microcápsulas más pequeñas muestran deformaciones superficiales profundas, lo que indica que existe solidificación de las paredes antes del comienzo de la expansión de las micropartículas. La temperatura de atomización es de 185 °C (Figura 11).

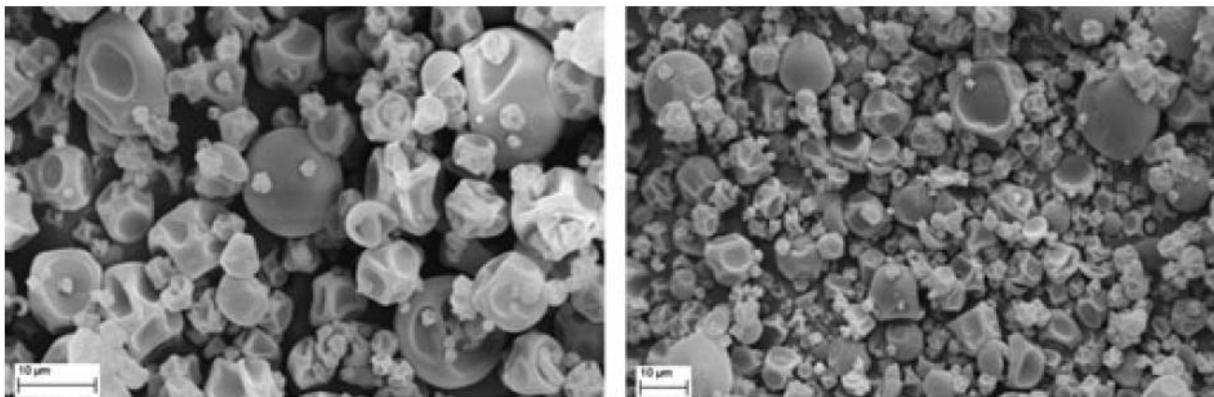


Figura 11 - Microfotografías de microcápsulas de aceite esencial de orégano producido por secado por atomización

Ribeiro *et al.* (2014) evalúan la morfología de microcápsulas de aceite esencial de romero. La mayoría de las partículas exhiben una forma esférica con la aparición de encogimiento (Figura 12). Los autores indican que se pueden producir diversas morfologías de partículas cambiando las condiciones del proceso.

Ferrándiz (2015) microencapsula aceite esencial de orégano, el tratamiento óptimo tiene una relación másica de 1:2 (goma arábica: aceite), temperatura de entrada (160°C) y el flujo de aspiración (75%), el autor hace énfasis en que los dos últimos son los parámetros influyentes para formar microcápsulas esféricas.

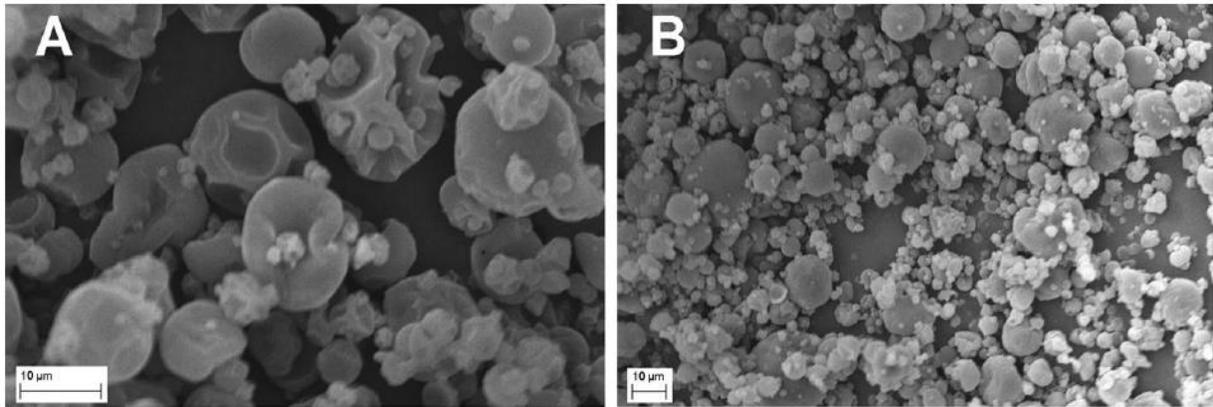


Figura 12 - Microfotografías electrónicas de barrido de microcápsulas de aceite esencial de romero (Ribeiro *et al.*, 2014)

Priyanka Biswas *et al.* (2016) argumentan que el aumento de la temperatura conduce a la formación de cápsulas huecas más grandes y una cubierta externa más delgada.

Las deformaciones en la superficie de la microcápsula son comunes en el proceso de secado por atomización, esto se atribuye al porcentaje alto de sólidos contenidos en la emulsión o a un secado desigual (Karaca, Nickerson y Low, 2013). En específico Masters (1990), Vaidya, Bhosale y Singhal (2006) y, Kanakdande, Bhosale y Singhal (2007) refieren que la goma arábica es un encapsulante que forma microcápsulas con muchas deformaciones en la superficie, mientras que la maltodextrina tiene la particularidad de producir microcápsulas rotas y no completas.

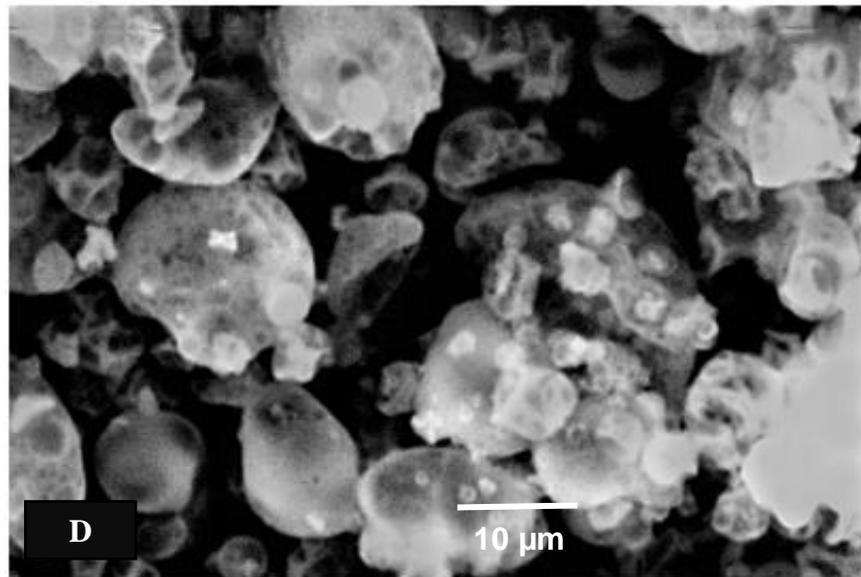
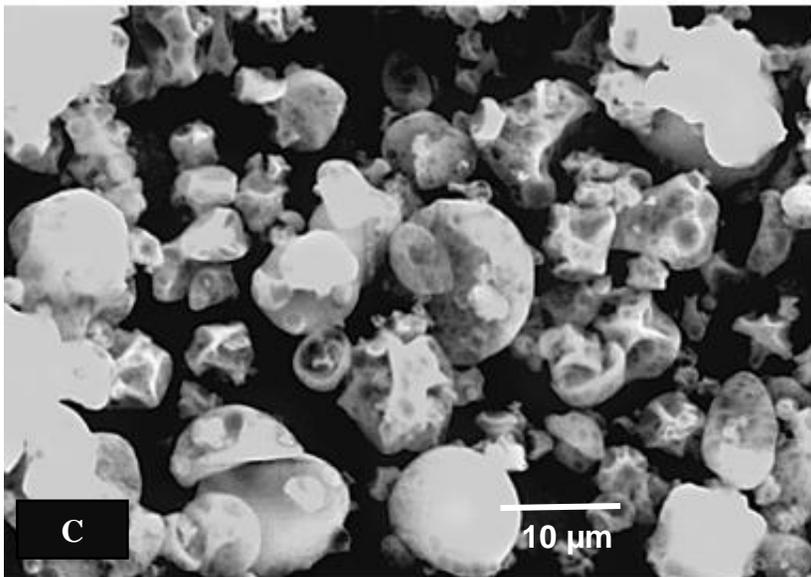
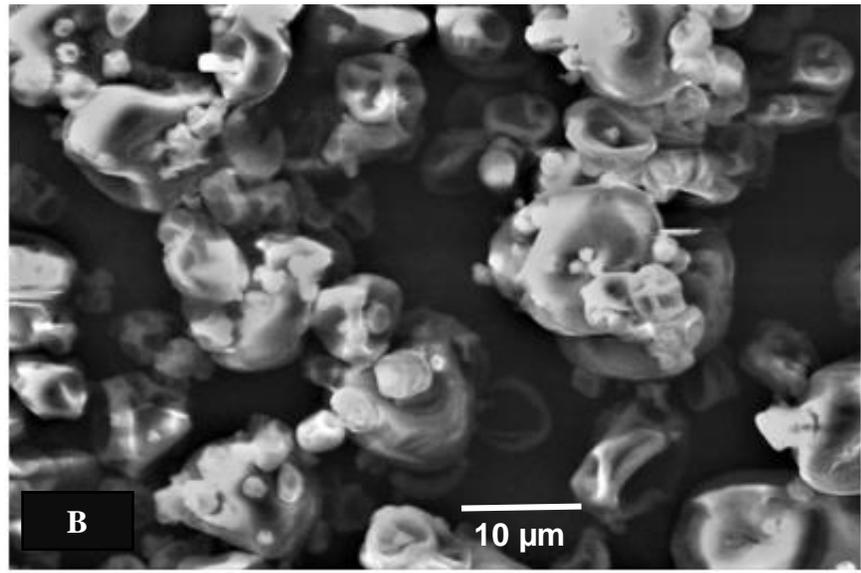
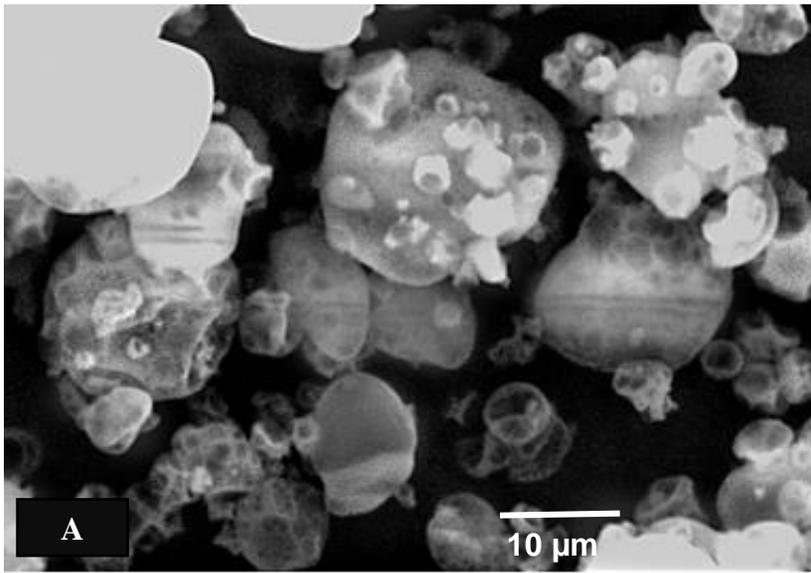


Figura 13 – Microfotografías de microcápsulas de aceite esencial de orégano producido mediante secado por atomización

4.4 Evaluación del efecto antimicrobiano de AEO microencapsulado y pulverizado

Para esta evaluación no se consideró la prueba control (sin aceite esencial y sin microencapsulado), puesto que se realizaron 9 pruebas preliminares de distintos tratamientos incluyendo la prueba control, el resultado obtenido fue que a los 11 días se manifiesta la proliferación de mohos y levaduras en la superficie del pan. A partir de ello el enfoque fue la cantidad de microencapsulado añadido al pan, y el tiempo en el que mantenga sus características microbiológicas dentro de los parámetros establecidos por la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería.

Además, se hizo la simulación del trato del mercado, los panes fueron trasladados a distintos ambientes de la universidad y fuera de ella, también fueron colocados sobre distintas superficies como mesas, sillas y al nivel del piso.

4.4.1 Actividad de agua (a_w)

El análisis estadístico (Tabla 19) muestra que la actividad de agua no depende de los días de almacenamiento (15 al 21) y de los tratamientos (1%, 1.5% y 2%). Esto se debe a que no existe variación significativa entre los panes con 1, 1.5% y 2% de microencapsulado.

Por otro lado, en la Figura 14 se muestra la disminución de la actividad de agua a partir del día 1 en adelante, el tratamiento de 1% de 0.942 a 0.925, el tratamiento 1.5% de 0.946 a 0.915 y el tratamiento 2% de 0.941 a 0.918. Badui (2006) afirma que la actividad de agua inicial del pan es de 0.94. Mientras que Magan, Aldred y Arroyo (2012) indican que la actividad de agua del pan varía entre 0.94 y 0.97. San Lucas (2012) afirma que un valor de 0.98, es una condición propicia para la aparición de mohos y levaduras. Deschuyffeleer *et al.* (2011) identifican las levaduras que causan la putrefacción de pan precocido envasado en atmósfera modificada, éstos crecen en un

rango de 0.96 y 0.98. Comparando los resultados obtenidos de los autores con los de este trabajo los resultados son menores.

Por otro lado, MICROAL (2013) menciona que la disminución de la actividad de agua con el paso de los días, aminora las probabilidades de contaminación microbiana. Pero a medida que la actividad de agua disminuye, la textura del alimento se endurece y el producto se seca más rápido.

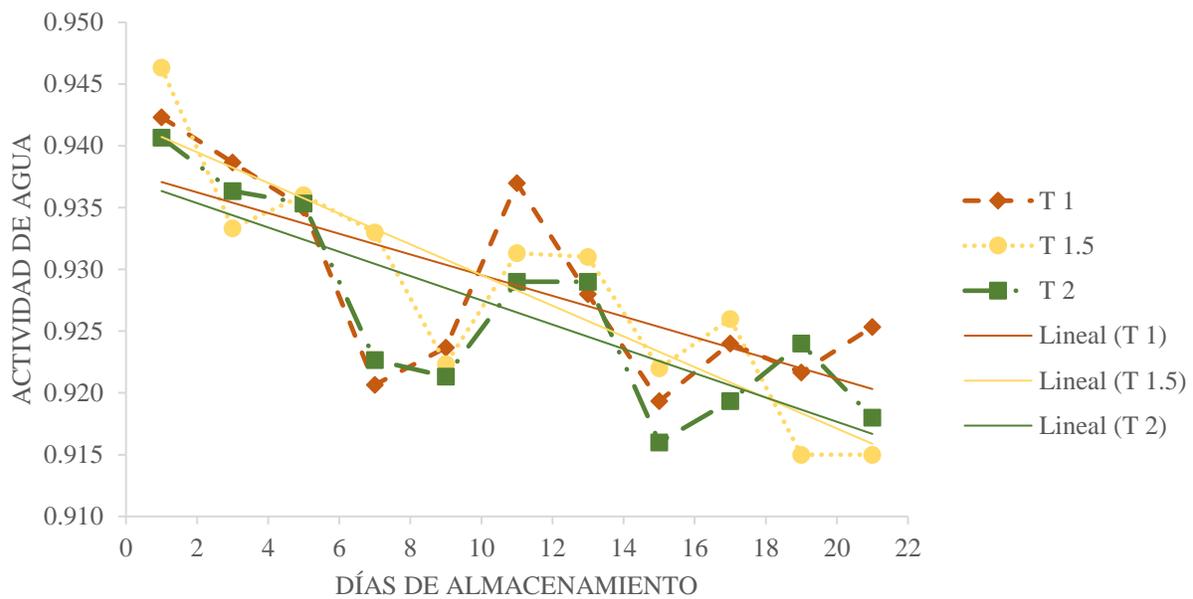


Figura 14 – Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la actividad de agua

4.4.2 Humedad

El análisis estadístico (Tabla 20) muestra que la humedad si depende de los días de almacenamiento (15 al 21) y de los tratamientos (1%, 1.5% y 2%). La humedad presenta cambios con una tendencia a la disminución (Figura 15). El tratamiento 1% disminuye de 35.71 a 27.51%, el tratamiento 1.5 % de 34.51 a 27.60% y el tratamiento 2% de 34.24 a 25.97%. La Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería (2010) indica que para pan molde la humedad no debe pasar del 40%. Quintong y Tenesaca (2013)

analizan panes molde blanco por 11 días, la humedad disminuye de 39.85% a 37.78%. Rocha y Vásquez (2011) elaboran pan de harina de trigo y, pan de haba y trigo, ellos obtienen humedad de 37.09 y 34.10% respectivamente. Ribeiro *et al.* (2014) evalúan la humedad de masas frescas por 12 días, para el tratamiento con aceite esencial de romero la humedad es de 34.48 a 28.61% y para el tratamiento con microencapsulado de aceite esencial de romero es de 32.03 a 28.67%. La humedad del pan molde en este trabajo es similar al del autor, puesto que ambos trabajan con aceite esencial puro y microencapsulado, mientras que en comparación con panes molde sin microencapsulado la humedad es mayor. Además, Clayton, Bush y Keener (2012) explican que los alimentos con menor humedad tienen una vida útil más larga, puesto que no permiten que los microorganismos puedan crecer.

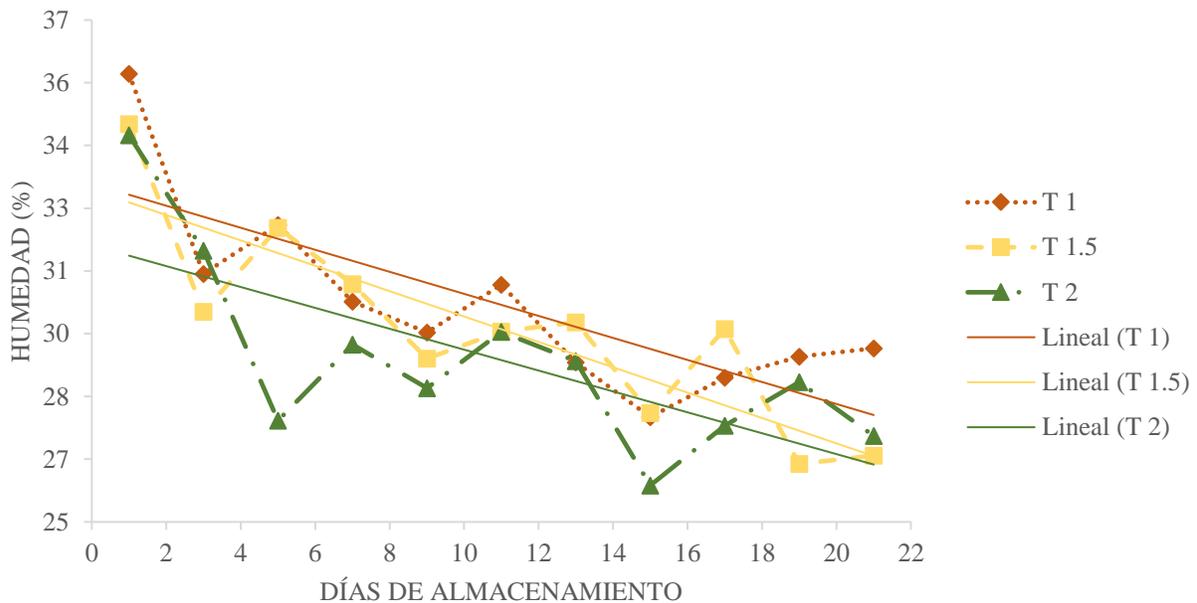


Figura 15 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la humedad

4.4.3 Acidez Titulable

El análisis estadístico (Tabla 21) muestra que la acidez si depende de los días de almacenamiento (15 al 21) mas no depende de los tratamientos (1%, 1.5% y 2%). Los diferentes tratamientos con microencapsulado no tienen algún componente que ocasione cambios en el pan molde. Mientras que, con el paso de los días la acidez varía como se muestra en la Figura 16 donde el tratamiento de 2% manifiesta un aumento y los tratamientos de 1% y 1.5% una disminución.

Los valores obtenidos para tratamiento 1% son de 0.023 a 0.014, para tratamiento 1.5% de 0.020 a 0.015 y para tratamiento 2% de 0.020 a 0.014. Según la Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería (2010) el límite máximo permisible para pan es de 0.5% expresado en ácido sulfúrico. Layango *et al.* (2015) elaboran panes molde con goma de tara y obtiene una acidez de 0.085% de ácido sulfúrico. Hernández (2011b) elabora pan molde con propionato de calcio, los valores de acidez varían entre 0.058 y 0.075%. Arone (2015) realiza panes molde con combinaciones entre harina de quinua, chíá y trigo, los porcentajes de acidez varían entre 0.0166 y 0.0053%.

Según Fierro y Jara (2010) los mohos se desarrollan perfectamente en un medio de acidez elevada (mayor de 0.5%), Clemente *et al.* (2013) indican que esta acidez es debida a la presencia de ácido láctico, acético, fosfórico y sulfúrico, presentes en el pan molde debido fundamentalmente a la aparición de microorganismos indeseables. Comparando los resultados de este trabajo con el de los autores, se obtuvieron valores bajos de acidez, siendo beneficioso debido a que perjudica la actividad de mohos y levaduras.

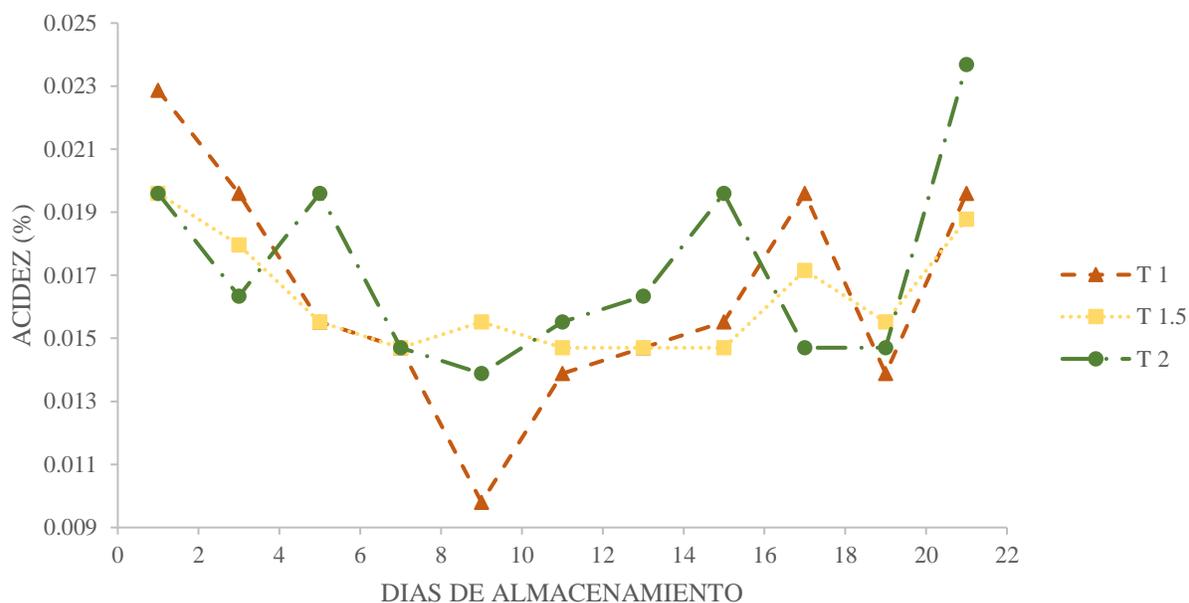


Figura 16 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la acidez

4.4.4 pH

El análisis estadístico (Tabla 22) muestra que el pH si depende de los días de almacenamiento (15 al 21) y de los tratamientos (1%, 1.5% y 2%). En la Figura 17 se observa que hay una tendencia al aumento del pH con el paso de los días, éste es mayor en el tratamiento de 1.5 y 2% de microencapsulado, mientras que el tratamiento 1% es menor. Esto se debe a que el tratamiento 1% contiene microcápsulas con mayor eficiencia de microencapsulación, mientras que los otros dos tratamientos no tienen las mismas posibilidades, puesto que sus microcápsulas no retienen el mayor porcentaje de AEO.

La variación para el tratamiento 1% es de 5.74 y 5.99, para el tratamiento 1.5% de 5.73 y 6.13 y para tratamiento 2% de 5.72 y 6.08. Fierro y Jara (2010) evalúan la vida útil de pan molde por 10 días, ellos obtienen un pH entre 5.29 y 5.47. Hernández (2011b) elabora panes de molde blanco

con propionato de calcio y halla un pH entre 5.46 y 5.59. Por otro lado, Balarezo (2011) encuentra que panes sin antimicrobianos manifiestan un pH entre 5.20 y 5.88. Los valores obtenidos en este trabajo en comparación con los autores, son mayores, esto es perjudicial puesto que el crecimiento de algunos mohos se da a valores superiores de 6 (Abdel-Hadi y Magan, 2009). A pesar de ello, el tratamiento con 1% de microencapsulado es el más propicio para la conservación de pan molde con el paso de los días.

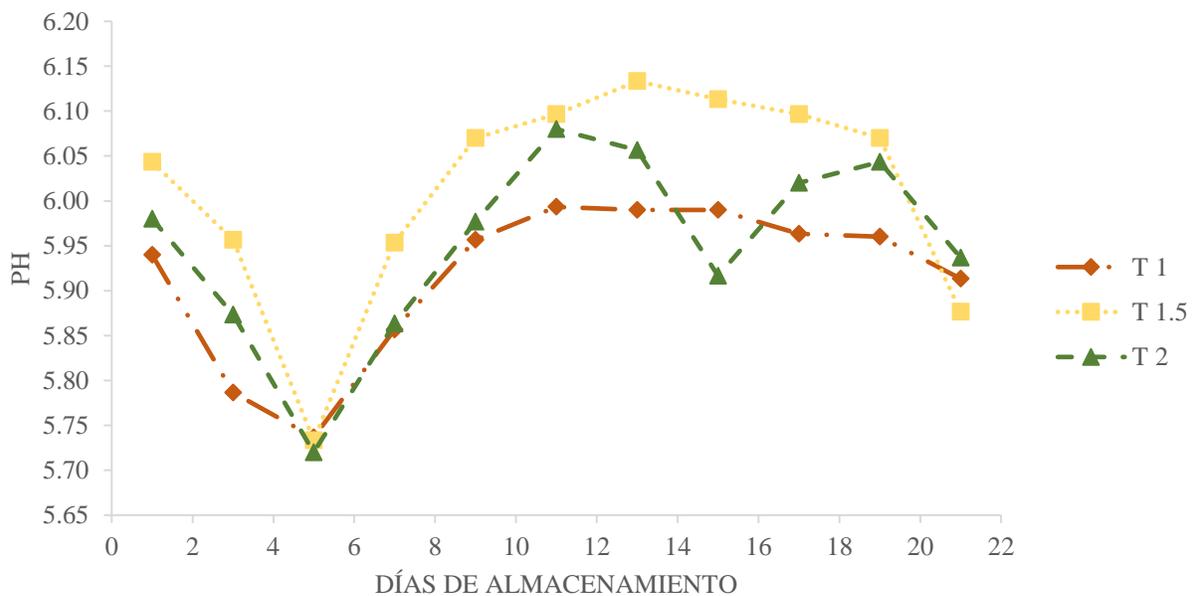


Figura 17 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con el pH

4.4.5 Mohos y levaduras

El análisis estadístico (Tabla 23) muestra que la cantidad de mohos y levaduras depende de los días de almacenamiento (15 al 21) mas no de los tratamientos (1%, 1.5% y 2%). Esto significa que en los últimos días los panes manifiestan diferencias con la presencia de mohos y levaduras, mientras que la cantidad de microencapsulado no causa variación significativa entre los panes. En la Figura 18 se observa el incremento de ufc/g con el paso de los días. Para el tratamiento 1% se

manifiesta de 50 a 1080ufc/g, para el tratamiento 1.5% de 10 a 1620ufc/g y para el tratamiento 2% de 30 a 1760ufc/g. Según la Norma Sanitaria para la Fabricación y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería (2010) menciona que el límite mínimo es 100ufc/g y el límite máximo es de 1000ufc/g.

Ribeiro *et al.* (2014) evalúan la actividad antifúngica del aceite esencial de romero en masas frescas, sin adición de aceite esencial (control), con adición de 1.5% aceite esencial puro y 1.5% de aceite esencial microencapsulado. Los autores encuentran que en el día 8 de almacenamiento a 25°C, los tratamientos de aceite esencial muestran menor cantidad de hongos en comparación con la prueba testigo. Además observan un número menor de hongos para el tratamiento de aceite esencial de romero microencapsulado después de 12 días de almacenamiento, en relación con el tratamiento de aceite esencial puro. Según los autores la liberación del material del núcleo, en este caso el aceite esencial de romero, se produce gradualmente a lo largo del tiempo permitiendo así, que su acción antimicrobiana se prolongue. Pero ésta situación puede variar dependiendo de las condiciones a las que se sometan los microcápsulas, puesto que los aceites esenciales presentan componentes que son muy volátiles.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales es una función de los compuestos presentes en el aceite esencial, estos son: timol, carvacrol, aldehídos, cetonas, alcoholes y otros. Sus grupos fenólicos ejercen efecto directo sobre la membrana citoplasmática de los microorganismos alterando su estructura (Sikkema, Bont y Poolman, 1995; Dorman y Deans, 2000; Ozcan y Boyraz, 2000). Viuda, Ruiz, Fernández y Pérez (2006) mencionan que el aceite esencial de orégano tiene un efecto antifúngico contra los hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus ochraceus*. Esto se ratifica con un estudio realizado por Portillo *et al.* (2008) que evalúan el efecto del aceite esencial de orégano mexicano combinando con la disminución de la actividad de agua

para inhibir el crecimiento de mohos *Apergillus*, *Rhizopus* y *Penicillium*, los autores extienden la vida útil de varios productos de panadería.

Considerando los parámetros mínimos establecidos por la Norma, los tres tratamientos demuestran efecto antimicrobiano hasta el día 19, pero el tratamiento 1% manifiesta menor contenido de mohos y levaduras. Esto se debió a que el primer microencapsulado es utilizado para la elaboración de los panes del tratamiento 1%, mientras que para los tratamientos 1.5% y 2% se trabajó con un segundo microencapsulado que posiblemente no es tan eficiente como el primero, ocasionando así que la actividad antimicrobiana de éstos sea poco menor que el tratamiento 1%, a pesar de ello estadísticamente los tres tratamientos no manifiestan un efecto significativo.

En este trabajo de investigación el pan molde paso por un proceso de horneado a temperatura de 150°C, ocasionando que no haya diferencias entre los tratamientos, Rotman y Blatt (1995) explican que las microcápsulas son adecuadas para ser usadas en productos que se sometan a un breve período de cocción con temperaturas moderadas. Casaña *et al.* (2015) reafirman esta idea, pues los microencapsulados pueden tolerar procesos en la industria alimentaria, como la homogenización, pasteurización e incluso ciertos tipos de horneado, así como cocción casera. Por ejemplo microencapsulados añadidos a yogurt toleran temperatura aproximadamente de 65°C durante 1-4 horas. Pero a altas temperaturas causan inestabilidad de la microcápsula, los materiales de pared llegan a un punto en el cual la temperatura influye en la capacidad para proteger el material activo (Parzanese, 2016). Comparando los resultados de este estudio con las pruebas realizadas por Ribeiro *et al.*, (2014) se observa que las masas no sometidas a horneado tiene mayor efecto antimicrobiano que las que si son sometidas.

Respecto a la adición de aceite esencial de orégano por pulverización, se realiza con el fin de proteger el pan molde de los mohos y levaduras del medio ambiente, específicamente en el proceso de envasado. La razón de esa decisión se debe a que en las pruebas anteriores la presencia de estos microorganismos era a partir del quinto día de almacenamiento. Pero cuando se empieza a añadir el aceite esencial sobre la superficie del pan, estos se deterioran fúngicamente a partir del día 9. Es por ello la necesidad de la combinación del microencapsulado y la pulverización de AE en el producto.

Por otro lado, el promedio de la vida útil de un pan molde es de 15 días, mientras que en este estudio fue de 19 días, superando así la expectativa del período de vida del producto. Finalmente el tratamiento con 1% de microencapsulado, es el que desarrolla mayor efecto antimicrobiano, es de menor concentración lo cual ocasiona menor costo en la elaboración de pan molde.

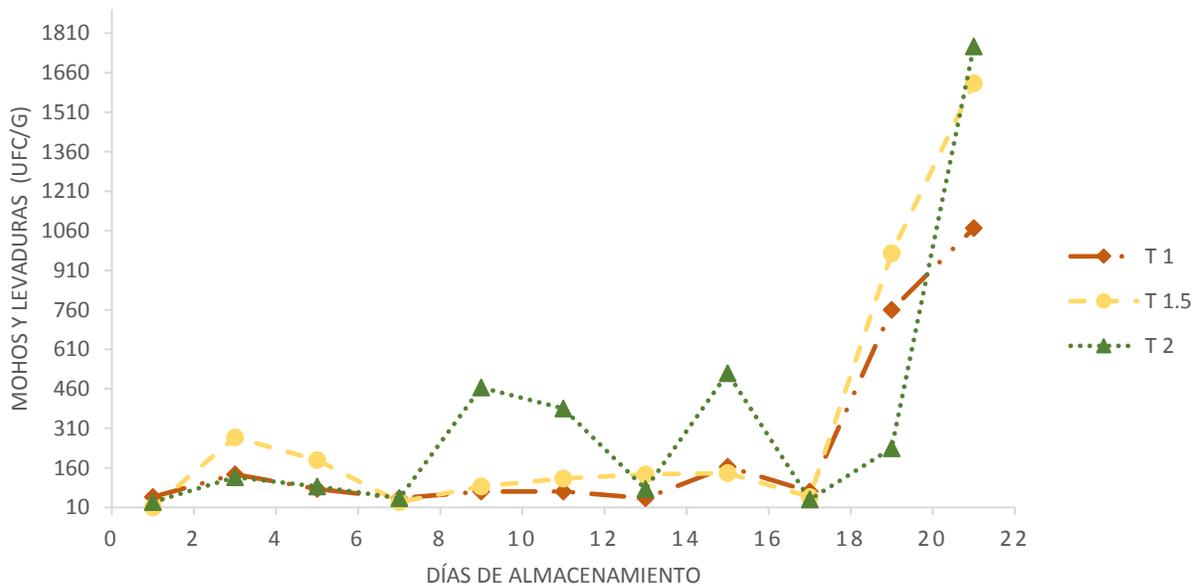


Figura 18 - Regresión lineal de los días de almacenamiento en relación con la presencia de mohos y levaduras

V. CONCLUSIONES

El rendimiento obtenido del aceite esencial de orégano es de 0.5%, el índice de refracción es 1.478, la densidad es 0.9127g/mL y el residuo de evaporación es 0.24g.

La emulsión de aceite esencial de orégano se elaboró a partir de: 1% de aceite esencial de orégano, 9% de materiales de pared (51% almidón modificado, 36.25% de goma arábiga y 12.75% de maltodextrina) y 90% de agua destilada. La emulsión fue secada por el método de atomización con los siguientes parámetros: temperatura entrada 185°C, temperatura de salida 185°C, potencia de aspiración 100%, bomba peristáltica de alimentación 18% y caudal de alimentación 1 L.h⁻¹, obteniendo un rendimiento de 72.22%.

Algunas características fisicoquímicas del aceite esencial de orégano microencapsulado fueron: actividad de agua de 0.161, humedad de 6.10%, la densidad aparente de 0.370g/mL y la eficiencia de microencapsulado de 96.39%. La morfología de las microcápsulas observada a 10µm presentó formas irregulares, una parte con superficies lisas y otras con deformaciones en forma de cráteres. Considerando los parámetros establecidos por la Norma, los tres tratamientos tienen una vida útil de 19 días, pero el tratamiento con 1% de microencapsulado es el que manifiesta mayor efecto antimicrobiano.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar más pruebas para la extracción de aceite esencial de orégano, puesto que la presión es el parámetro más influyente para un mejor rendimiento.

Microencapsular aceites esenciales con diferentes concentraciones de materiales de pared y distintos parámetros atomización, puesto que estos influyen significativamente en el rendimiento y la eficiencia del microencapsulado.

Realizar más pruebas de porcentaje de microencapsulado añadido a panes molde y el uso de otros aceites esenciales. Considerando que el microencapsulado y spray de aceite esencial tengan más afinidad con el alimento al cual se desea añadir para que no altere el aspecto sensorial del producto.

VII. REFERENCIAS

- Abdel-Hadi, A. & Magan, N. (2009). Influence of environmental factors on growth, sporulation and ochratoxin A and B production of the new grouping of the *A. ochraceus* group. *World Mycotoxin Journal*, 2, 429-434.
- Adamiec, J. (2009). Moisture sorption characteristics of peppermint oil microencapsulated by spray drying. *Drying Technology*, 27(12), 1363-1369. Doi: 10.1080/07373930903383695.
- Agboola, S., Akingbala, J. & Oguntimein, G. (1991). Physicochemical and functional properties of low DS cassava starch acetates and citrates. 43, 62-66.
- Aguilar, C. (2007). Optimización del proceso de modificación del almidón de maíz ceroso por extrusión y el uso de mezclas de almidones modificados con mucilago de nopal para la encapsulación de aceite esencial de naranja empleando el secado por aspersión. (Tesis de grado). México. 125 p.
- Albarracín, G. & Gallo, S. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *piper aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. Universidad Nacional de Colombia. 103 p.
- Albado, E., Saez, G. & Grabiell, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista Médica Herediana*, 12(1), 17-19.
- Aliyiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. & Chinou, I. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal Agricultura Food Chemical*, 49, 4168-4170.
- Alvarenga, D., Vilela, S., De Barros, R., Dantas, A., Gomes, J. & Reginaldo, G. (2012). Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated orégano essential oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(11), 2289-2296.
- Alves, S., Borges, L., Dos Santos, T., de Paula, J., Conceição, E. & Bara, M. (2014). Microencapsulation of essential oil from fruits of *pterodon emarginatus* using gum arabic and maltodextrin as Wall Materials: Composition and Stability. *Drying Technology*, 32, 96-105. ISSN: 0737-3937.
- Alzate, L., Arteaga, D. & Jaramillo, Y. (2011). Evaluación de usos potenciales del desecho del fruto del algarrobo (*Hymenaea courbaryl L*), cáscara y semillas, como conservante natural para alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(1), 90-95.
- Ameri, M. & Maa, Y. (2006). Spray drying of biopharmaceutical: Stabilities and process considerations. *Drying Technology*, 24 (6), 763-768.
- American Association of Cereal Chemists (AACC). (1995). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Ninth Edition. Ed. AACC. Minnesota, USA.

- Andreatta, A., Longo, M., Utrera, C., Saavedra, M. & Foco, G. (2009). Caracterización de aceites esenciales del departamento san Justo (Córdoba). *9*, 29–36.
- Anker, M. & Reineccius, G. (1988). Encapsulated orange oil. American Chemical Society, Symposium Series. *370*, 78-86.
- Arango, O., Bolaños, F., Villota, O., Hurtado, A. & Toro, I. (2012). Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *10(2)*, 217-226.
- Arango, O., Hurtado, A., Pantoja, D. & Santacruz, L. (2014). Actividad inhibitoria del aceite esencial de *Lippia origanoides* H.B.K sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*. *Acta Agronómica*, *64(2)*.
- Aromatherii (2016). Aceites esenciales, descripción. Recuperado de <http://www.aromatherii.com/blog/aceites-esenciales/>
- Arone, H. (2015). Evaluación de las propiedades físicas, químicas y organolépticas del pan tipo molde enriquecido con harina de quinua (*Chenopodium quinoa willd*) y chia (*Salvia hispanica l.*). Tesis. 216 p.
- Arteche, A., Fernandez, J., Guenechea, J. & Vanaclocha, B. (1998). Fitoterapia. *Vademecum* de prescripción. Barcelona.
- Astray, G., Mejuto, J., Rial, R., González, C. & Simal, J. (2009). A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, *23(7)*, 1631-1640.
- Avila-Sosa, R., Gastélum-Franco, M., Camacho-Dávila, A., Torres-Muñoz, J. & Nevárez-Moorillón, V. (2010). Extracts of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) with antioxidant and antimicrobial activity. *Food Bioprocess Technol.* *3*, 434-440.
- Ayala, J. & Gonzalez, A. (2010). Optimizing the use of garlic oil as antimicrobial agento fresh-cut tomato through a controlled release system. *Journal of Food Science*, *75(7)*, M398-M405.
- Badui, D. (2006). Química de los alimentos. Cuarta edición. Pearson educación. México. 716 p.
- Bajpai, V., Baek, K. & Baek, S. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Res. Int.* *45*, 722-734.
- Bakry, A., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M., Mousa, A. & Liang, L. (2015). Microencapsulation of oils: A comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *15(1)*, 143-182. Doi: 10.1111/1541-4337.12179
- Balarezo, P. (2011). Evaluación del uso de propionato de calcio y sorbato de potasio en la estabilidad del pan precocido almacenado en refrigeración, para su comercialización en supermercados. 156 p.

- Balasubramani, P., Palaniswamy, P., Visvanathan, R., Thirupathi, V., Subbarayan, A. & Prakash, J. (2015). Microencapsulation of garlic oleoresin using maltodextrin as wall material by spray drying technology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 210-217.
- Baratta, M., Dorman, H., Deans, S., Biondi, D. & Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 10, 618-627.
- Baratta, M., Dorman, H., Deans, S., Figueiredo, C., Barroso, J. & Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *J. Flavour and Fragrance*, 13, 235-244.
- Barbosa, M., Borsarelli, C. & Mercadante, A. (2005). Light stability of spraydried bixin encapsulated with different edible polysaccharide preparations. *Food Research International*, 38 (8-9), 989-994.
- Bassolé, I., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R. & Dicko, M. (2010). Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*. 15, 7825-7839.
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. & Karadoğan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15, 169-172.
- Beristain, C., García, H. & Vernon, E. (2001). Spray-dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *Food Science and Technology*. 34, 398-401.
- Bhandari, B., Dumoulin, H., Richard, H., Noleau, I. & Lebert, A. (1992). Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. *Journal of Food Science*. 57, 217-221.
- Bhandari, B. (2001). Glass transition in relation to stickiness during spray drying. *Food Technology International*. 7, 64-68.
- Biesterbos, J., Dudzina, T., Delmaar, C., Bakker, M., Russel, F. & Von Goetz, N. (2013). Usage patterns of personal care products: Important factors for exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 5, 8-17.
- Blanco, K. & Agudelo, A. (2007). Estudio comparativo de los aceites esenciales de *Lippia alba* Mill cultivada con tres tipos de compost. Facultad de Ciencias, Universidad Industrial de Santander. Colombia.
- Bosquez, M., Bautista, E. & Morales, J. (2009). Essential oils: biopreservatives of high potential in the food industry. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Branon, L. (1993). Controlled release in the food and cosmetics industries. *In Polymeric Delivery Systems*. 3, 42-52.

- Bringas-Lantigua, M., Exposito-Molina, I., Reineccius, G., Lopez-Hernandez, O. & Pino, J. (2011). Influence of spray-dryer air temperatures on encapsulated mandarin oil. *Dry Technol.* 29, 520-526.
- Bullerman, L., Lieu, Y. & Seier, S. (1977). Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal Food Science.* 42, 1107-1109.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 66-72.
- Burt, S. (2007). Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food. Institute for Risk Assessment Sciences, Division of Veterinary Public Health, Utrecht University, Utrecht, Netherlands.
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. & Velázquez, O. (2009). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
- Camacho, H. (2011). Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de la muña (*Minthostachys setosa*) y su estudio antibacteriano. Perú. 150 p.
- Carneiro, H., Tonon, R., Grosso, C. & Hubinger, M. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115 (1): 443-451. Doi: 10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033.
- Cervato, G., Carabelli, M., Gervasio, S., Cittera, A., Cazzola, R. & Cestaro, B. (2000). Antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare*) leaf extracts. *Journal of Food Biochemistry.* 24, 453-465.
- Casaña, G., Gimeno, S., Gimeno, S. & Moser, M. (2015). Proceso de multi-microencapsulación continuo para la mejora de la estabilidad y almacenamiento de ingredientes biológicamente activos. Patente CA N° 2550615A1. Canadá: <https://www.google.com/patents/WO2005058476A1?cl=es>
- Chemical Marketing Reporter. (1989). Special Report: Food Additives.
- Chirinos, O., Bride, E., Abarca, J., Coaquira, J., García, L. & León, D. (2009). Exportación de orégano de Tacna al mercado de Brasil. Lima: Universidad ESAN. 210 p.
- Choi, H., Song, H., Ukeda, H. & Sawamura, M. (2000). Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal. Agricultural. Food Chemical.* 48, 4156.
- Chronakis, I. (1999). On the molecular characteristics, compositional properties, and structural-functional mechanisms of maltodextrins: a review. *Food Science.* 38, 599-637.
- Clayton, K., Bush, D. & Keener, K. (2012). Métodos para la conservación de alimentos. Department of Food Science. FS-15-S-W. 1-6 pp.

- Clemente, N., Mayayo, C., Rozas, M. & Santa Catalina, S. (2013). Análisis diferencial en distintos panes de molde. *Ciencia y Tecnología de los Vegetales*. 29 p.
- Codex Alimentarius. (2014). Programa conjunto de la FAO/OMS sobre normas alimentarias comité sobre especias y hierbas culinarias. 13 p.
- Colin, J., Nolan, C. & Holub, B. (2009). Bioequivalence of encapsulated and microencapsulated fish-oil supplementation. *Journal of Functional Foods*. 1, 38 -43.
- Corella, R. & Ortega, M. (2013). Importancia del aceite esencial y la producción de orégano *lippia palmeri watson* en el estado de sonora. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 15(1), 57-64.
- Cousidine, D. (1982). *Foods and Food Production Encyclopedia*. John Wiley Inc., New York. 142 p.
- Cox, S., Mann, C. & Markham, J. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Microbiol.* 91, 492-497.
- Coy, C. & Acosta, G. (2013). Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(2), 237-246.
- Cuaspud, A. (2015). Obtención de aceite de aguacate microencapsulado mediante secado por atomización. Tesis de pregrado. Ecuador. 142 p.
- Daferera, D., Ziogas, B. & Polissiou, M. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal Agricultura. Food Chemical*. 48, 2576-2581.
- D'Antuono, L., Galletti, G. & Bocchini, P. (2000). Variability of Essential Oil Content and Composition of *Origanum vulgare* L. *Annals of Botany*. 86(3), 471-478.
- Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T. & Linssen, J. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal Science Food Agriculture*. 77, 140-146.
- Därr, A. (1981). *Tecnología farmacéutica*. Zaragoza: Editorial Acribia. 33, 150 -151.
- Deans, S. & Svoboda, K. (1990). The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *J. Flavour and Fragrance*. 5, 187-190.
- De Barros, R., Vilela, S., Alvarenga, D., Keven, E., Gomes, J. & Queiroz, F. (2013). Microencapsulation of Rosemary Essential Oil: Characterization of Particles. *Drying Technology*. 31, 1245-1254. ISSN: 0737-3937.
- De Barros, R., Vilela, S. & Alvarenga, D. (2013). Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. *Ciencia e Tecnologia de alimentos*, 33(1), 171-178.

- De Barros, R., Vilela, S. & Alvarenga, D. (2014). Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 101, 524-532.
- Deighton, N., Glidewell, S., Deans, S. & Goodman, B. (1993). Identification by spectroscopy of Carvacrol and Thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils. *Journal. Science Food Agricultural*, 63(2), 221-225.
- Delaquis, P., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 74, 101-109.
- De León, T. (2005). Extracción de aceite esencial crudo de hierbabuena (*mentha citrata ehrh.*) con la aplicación del método de extracción por arrastre con vapor variando los tamaños de muestra y humedad a partir de pruebas a nivel laboratorio. Guatemala. 83 p.
- Deschuyffeleer, N., Audenaert, K., Samapundo, S., Ameye, S., Eeckhout, M. & Devlieghere, F. (2011). Identification and characterization of yeasts causing chalk mould defects on par-baked bread. *Food Microbiology*, 28, 1019-1027.
- Dieter, F. (2009). Manual técnico de cultivo ecológico de orégano (*Origanum sp. L.*). Perú. 60 p.
- Dirección Regional de Agricultura (DIREA). (2013). Tacna: Producción y exportación de aceituna, orégano y cebolla. 112 p.
- Dirección Regional de Agricultura de Tacna. (2016). Producción y exportación de orégano en la Región Tacna. 58 p.
- Dorman, H. & Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. *Journal of applied Microbiology*, 88, 308-316.
- El Asbahania, A., Miladic, W., Badric, M., Ait Addib, H. & Casabiancad, A. (2015) Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483 (1), 220-243.
- Elgayyar, M., Draughon, F., Golden D. & Mount, J. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Protect*, 64 (7), 1019-1024.
- El Wahab, H. & Moram, G. (2013). Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicol and Healt*, 29(2), 224-232.
- Estevinho, B., Rocha, F., Santos, L. & Alves, A. (2013). Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications. *Food Science & Technology*, 31(2), 138-155. Doi: 10.1016/j.tifs.2013.04.001.
- Favaro, C., Pinho, S. & Rocha, G. (2008). Revisão: Microencapsulacão de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11, 103-112.
- Favaro, C., Santana, A., Monterrey, E., Trindade, M. & Netto, F. (2010). The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 336-340.

- Fennema, R. (2000). *Química de los alimentos*. 2a ed. Zaragoza, España: Acribia.
- Fernandes, L., Turatti, I., Lopes, N., Ferreira, J., Candido, R. & Oliveira, W. (2008). Volatile retention and antifungal properties of spray-dried microparticles of *Lippia sidoides* essential oil. *Drying Technology*, 26, 1534-1542.
- Ferrándiz, M. (2015). Encapsulación de aceites esenciales funcionales para su aplicación en agricultura. Tesis Doctoral. 285 p.
- Fierro, H. & Jara, J. (2010). Estudio de vida útil del pan molde blanco. Escuela superior politécnica del litoral. Tesis de grado. 34 p.
- Fitzpatrick, J. (2005). *Food powder flowability*. Florida: Taylor & Francis. 247-260 pp.
- Fleche, G. (1985). Chemical modification and degradation of starch. In: *Starch Conversion Technology*. Marcel Dekker Inc., New York. 73-99 pp.
- Flores, E. (2009). Potencial productivo del orégano (*Lippia graveolens HBK*) y calidad de su aceite esencial en dos localidades de el mezquital. 130 p.
- Foti, M. & Ingold, K. (2003). Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by α -terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant. *Journal Agriculture Food Chemical*, 34(1).
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M., Ordonnaud, C., Peyrat, M. & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27-35.
- García, G., González, M., Ochoa, M. & Medrano, H. (2004). Microencapsulación del jugo de cebada verde mediante secado por aspersión. *Revista Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 4(4), 262-266.
- García, M., Rugel J., Rodriguez, E. & Vargas E. (2010). Aprovechamiento de cilantro (*Coriandrum sativum*) y perejil (*Petroselinum crispum*) aplicando procesos combinados de deshidratación. *Resultados de investigación*, 3(2), 7-29. ISSN 2027-0291.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A. & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. *Food Research International*, 40(9), 1107-1121.
- Gómez, N. & Jiménez, M. (2014). Métodos de secado de emulsiones alimentarias. Temas selectos de ingeniería de Alimentos. México. 23-33 pp.
- Gong, H., Liu, W., Zhou, Y. & Xiaoying. (2014). Análisis de aceites esenciales de *Origanum vulgare* de seis áreas de producción de China y Pakistán. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(1), 25-32.
- Gonzales, E., Domínguez, R., Moreno, D. & García, C. (2010). Review: Natural bioactive compounds of citrus limon for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 327-345.

- González, M., Corral, L. & González, M. (2012). Calidad del aceite esencial de orégano según el proceso de destilación y equipo de extracción. 2-6 pp.
- Gonzalez, A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. 87 p.
- Goubet, I., Le Quere, J. & Voilley, A. (1998). Retention of aroma compounds by carbohydrates: influence of their physical state. *J Agric Food Chem*, 48, 1981-1990.
- Granados, C., Santafé, G. & Acevedo, D. (2015). Composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Eucalyptus camaldulensis* de norte de santander (Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 18(1), 235 - 240.
- Guarnizo, A. & Martínez, P. (2009). Experimentos de química orgánica con enfoque en ciencias de la vida. 89-92 p. ISBN: 978-958-97744-6-5.
- Guerra, C., Galán, J., Méndez, J. & Murillo, E. (2008). Evaluacion del efecto del extracto de orégano(*Oregano vulgare*) sobre algunos parámetros de cerdo destetados. 16-29 p.
- Hammer, K., Carson, C. & Riley, T. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86, 985-990.
- Hardas, N., Danviriyakul, S., Foley, J., Nawar, W. & Chinachoti, P. (2002). Effect of relative humidity on the oxidative and physical stability of encapsulated milk fat. *J. Am. Oil Chem.*, 79, 151-158.
- Hayes, R. (1993). Microbiología e higiene de los alimentos. Editorial Acribia. 376 p. ISBN: 9788420007403.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Verissimo, A., Falerio, M. & Miguel, M. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian thymus oils. *Food Chem.*, 116, 714-721.
- Hernández J. (2010a). Aditivos Alimentarios. Toxicología alimentaria. España. 13 p.
- Hernández, J. (2011b). Efecto del Propionato de calcio y del biocitro sobre el crecimiento de mohos en el pan de molde blanco. Universidad Nacional del Callao. 18 p.
- Hernández, M. (1999c) Tratado de nutrición. 1era edición. Madrid. Editorial Díaz de Santos. ISBN: 84-7978-387-7.
- Hernández, P. (2011d). Encapsulación de aceite esencial de clavo en su aplicación en la industria alimentaria. Universidad Católica San Antonio. 276 p.
- Hernando, D. & Gómez, M. (2012). Evolución de la vida útil en panes sin corteza blancos al sustituir el mejorante y sórbico habituales. Universidad de Valladolid. 20 p.
- Hitoko, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S. & Kurata, H. (1980). Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxicogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 818-822.

- Hodge, J., Osman, E. & Fennema, R. (1982). Introducción a la ciencia de los alimentos. 2da edición. España: Reverte, 47-153.
- Husnu, K. & Buchbauer, G. (2016). Analysis of essential oils. Handbook of essential oils, science, technology and applications. Second edition. 195-222 pp. ISBN: 978-1-4665-9047-2.
- Ibáñez, F., Torre, P. & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. Área de Nutrición y Bromatología. Universidad Pública de Navarra. 10 p.
- Ibrahim M., Abd El-Ghany, M. & Ammar, M. (2013). Effect of Clove Essential Oil as Antioxidant and Antimicrobial Agent on Cake Shelf Life. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 8(2), 140-146. Doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2013.8.2.7633.
- Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (ICMSF). (1980). Ecología microbiana de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza-España. 179-187 pp.
- Ismail, A. & Pierson, M. (1990). Inhibitory of growth and germination of *C. Botulinum* 33A, 40B Y 1623E by essential oil of apices. *Journal. Food Science*, 55(6), 1676.
- ISO 4.715. (1978). Essential oils. Quantitative evaluation of residue on evaporation.
- Jacobson (1972). Eaters Digest. The consumers factbook of food additives. Anchor Books. Doubleday y Company Inc. New York.
- Jang-Hyuk ahn, Young-pil Kim & Eun-Mi Seo. (2008). Antioxidant effect of natural plant extracts on the microcapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of food engineering*, 84, 327-334.
- Jay, J. (2000). Microbiología moderna de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza. España. 790 p.
- Jay, M., Loessner, J. & Golden, A. (2006). Modern Food Microbiology. Seventh edition. 790 p. ISBN-13: 978-0387231808.
- Jiménez, M. (2010). Microorganismos probióticos encapsulados en polímeros microbianos: evaluación de la capacidad protectora de la encapsulación para su administración oral. Tesis Posgrado. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. España.
- Jyothi, S., Seethadevi, A., Suria, K., Muthuprasanna, P. & Pavitra, P. (2012). Microencapsulation: a review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(1), 1555-1562.
- Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 813 -829 pp.
- Kanakdande, D., Bhosale, R. & Singhal, R. (2007). Stability of cumim oleoresin microencapsulated in different combination of gum arabic, maltodextrin and modified starch. *Carbohydrate Polymers*, 67, 536-541.

- Kanazawa, K., Kawasaki, H., Samejima, K., Ashida, H. & Danno, G. (1995). Specific desmutagens (antimutagens) in oregano against a dietary carcinogen, Trp-P-2, are galangin and quercetin. *Journal Agriculture Food Chemical*, 43, 404-409.
- Karaca, A., Nickerson, M. & Low, N. (2013). Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. *Food Chemistry*, 139, 448-457.
- Karapinar, M. (1990). Influence of menthol and thymol on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Mitt. Geb. Lebens. Hyg*, 81, 287-295.
- Kenyon, M. (1995). Modified starch, maltodextrin, and corn syrup solids as wall materials for food encapsulation. *Encapsulation Control Release of Food Ingredients*, 7, 43-50.
- Kha, T., Nguyena, M., Roacha, P. & Stathopoulos, C. (2014). Microencapsulation of Gac oil: Optimisation of spray drying conditions using response surface methodology. *Powder Technology*, 264, 298-309.
- Khaki, M., Sahari, M. & Barzegar, M. (2012). Efectos del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*) en la torta. *Journal of Medicinal Plants*, 11(43), 9-18.
- Kim, C., Kyonggi, D., Shih, F., Champagne, E. & Daigle, K. (1999). Effects of phosphorylating salts and temperatura on the preparation of rice starch phosphates by extrusion. 51(8-9), 260-286.
- Kim, J., Marshall, M., Cornell, J., Freston, J. & Wei, C. (2006). Antibacterial activity of carvacrol, citral and gerianol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science*. 60: 1364-1368.
- Kim, J., Marshall, M. & Wei, C. (1995). Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal Agriculture Food Chemical*, 43, 2839-2845.
- Klauer, D. (2009). Manual Técnico de cultivo ecológico de orégano (*Origanum sp L.*). Asociación de promoción y desarrollo. Perú. 56 p.
- Kozakiewicz, Z. (1989). Ornamentation types of conidia and conidiogenous structures in fasciculate *Penicillium* species using scanning electron microscopy. *J. Linn. Soc. Bot.*, 99, 273-293.
- Kwak, H., Ihm, M. & Ahn, J. (2001). Microencapsulation of β -galactosidasa whith fatty acid esters. *Journal Dairy Science*, 84, 1576-1582.
- Lallemand Baking update. (1996). Causas y efectos del envejecimiento del pan. Envejecimiento del pan. México. 1(16), 2.
- Lambert, R., Skandamis, P., Coote, P. & Nychas, G. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91, 453-462.

- Laohasongkrama, K., Mahamaktudsanee, T. & Chaiwanichsiri, S. (2011). Microencapsulation of Macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Science*, 1,1660-1665.
- Layango, H., Valverde, K. & Mayaute, Y. (2015). Evaluación de la goma de tara (*caesalpinia spinosa*) como retenedor de humedad en una premezcla para pan molde. Universidad Nacional del Callao. 124 p. ISBN: 978-84-943486-9-3.
- León, M., Rueda, M., Castillo, M., Ceballos, R. & Fernández, S. (2000). Estudio de los aditivos alimentarios y su repercusión en la población infantil. *Medicina de Familia*, 1, 25-30.
- Lezcano, E. (2011). Análisis de producto Productos panificados. 27 p.
- Light, J. (1990). Modified food starches: why, what, where and how. *Cereal Foods World*, 35, 1081-1092.
- Limache, H. (2012). Efecto del nitrógeno y fósforo en el rendimiento de hoja seca y aceite esencial en el orégano (*Origanum vulgare L.*) ecotipo peruano mejorado. Tesis pregrado. Perú. 99 p.
- Llanos, S. (2012). Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle L.*). 14 p.
- Loksuwan, J. (2007). Characteristics of microencapsulated β -carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrina. *Food Hydrocolloids*, 21, 928-935.
- Longo, R. (1995). Le Monografie Tedesche. Versione italiana. Tomo III. Studio Edizioni, Milano.
- López, H. & Gómez, D. (2008). Preparación de microesferas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana Farmacia*, 42(3), 0-0. ISSN: 1561-2988.
- López, A., Castro, S., Andina M., Ures, X., Munguía, B., Llabotb, J., Elder, H., Dellacassa, E., Palmab, S. & Domínguez, L. (2014). Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil. *Industrial Crops and Products*, 53, 209- 216.
- López, F., Goycoolea, Y., Valdez, F. & Calderón, A. (2006). Goma de mezquite: una alternativa de uso industrial. *Interciencia*, 31(3), 183-189.
- López, M., Ochoa, Z., Santoyo, P., Anaya, L., Medina, M., Martínez, T. & Loeza, L. (2008). Bacteriocinas de bacterias Gram positivas: una fuente potencial de nuevos tratamientos biomédicos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(3), 49-57.
- López, O. (2010). Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(3), 381-389.
- López, O., Turiño, L. & Nogueira, A. (2015). Microencapsulación de sabores mediante secado por aspersión. *Alimentos, Ciencia e Investigación*, 23(1), 65-69.
- Lozano, M. (2009). Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de opuntia stricta mediante secado por atomización. Tesis de grado. Universidad Politécnica de Cartagena. 69 p.

- Ma, Y. (1991). Investigation of the correlation between glass transition and stability of flavors microcapsules. Tesis de Maestría. Universidad de Minesota. Departament Food Science and Nutrition.
- Madene, A., Scher, J. & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 4(1), 1-21.
- Magan, N., Aldred, D. & Arroyo, M. (2012). Mould prevention in bread. Cranfield University, UK. 24, 598-613.
- Maguna, F., Romero, A., Garro, O. & Okulik, N. (2006). Mecanismos de acción de los aceites esenciales. Argentina. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias.
- Márquez, D. (2011). Evaluación del rendimiento en la obtención del aceite “*piper auritum kunth*” mediante la hidrodestilación asistida por microondas. México. 63 p.
- Matiz, G., Fuentes, K. & León, G. (2015). Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en matrices poliméricas de almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*) modificado. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 44(2), 189-207.
- Maximixe (2007). Informe de mercado: orégano. Perú-Lima.
- MICROAL (2013). Mohos en alimentos, beneficiosos o perjudiciales. 9, 3-16. Recuperado de <http://www.microal.com/documentos/boletin%20diciembre13.pdf>.
- Ministerio de Comercio Exterior y Turismo, MINCETUR. (2004). Estudio de Factibilidad de la Producción de Orégano orgánico en Susapaya y Yabroco y aceite esencial de orégano y sus derivados en Tacna. 50 p.
- Ministerio de Agricultura y Riego, MINAGRI. (2014). Sistema Integrado de Estadística Agraria - SIEA. Recuperado de <http://siea.minag.gob.pe/siea/>
- Miyakazaki, M., Maeda, T. & Morita, N. (2005). Starch retrogradation and firming of bread substituted with hydroxypropylated, acetylated and phosphorylated cross-linked tapioca starches for wheat flour. *Cereal Chemistry*, 82,639-644.
- Montes, R. & Carvajal, M. (1998). Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. *Journal of Food Protection*, 61, 616-619.
- Moore, M., Dal Bello, F. & Arendt, E. (2008). Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread. *European Food Research Technology*, 226,1309-1316.
- Moreno, A. & Suyón, J. (2011). Extracción y evaluación de aceite esencial del fruto de choloque (*Sapindus Saponaria*).156 p.
- Morkhade, D. & Joshi, S. (2007). Evaluation of gum damar as a novel microencapsulating material for ibuprofen and diltiazem hydrochloride. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69(2), 263-268.

- Morozumi, S. (1978). Isolation, purification and antibiotic activity of o-methoxycinnamaldehyde from cinnamon. *Applied Environmental Microbiology*, 36, 577-583.
- Muller, F., Berger, B. & Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oil of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2262-2266.
- Muñoz, L. (2002). Plantas medicinales españolas: *Origanum vulgare L.* 273-280 pp.
- Muñoz, F. (2008). El riesgo en los niños del consumo de alimentos transformados. Los agentes químicos en los alimentos. 279-331 pp.
- Murúa, B., Beristain, C. & Martínez, F. (2009). Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 91(3), 380-386.
- Nguefack, J., Leth, V., Amvam, P. & Mathur, S. (2004). Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 329-334.
- Nielsen, P. & Rios, R. (2000). Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs and the possible application in active packaging with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 60, 219-229.
- Norma Mexicana NMX-F-115. (1987). Alimentos. Aceites y grasas vegetales o animales. Determinación del punto de congelación en grasas.
- Norma Mexicana NMX-F-516 (1992). Alimentos. Productos de panificación. Clasificaciones y definiciones. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. México.
- Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería: R.M. N° 1020-2010/MINSA / Ministerio de Salud.
- Norma Técnica Peruana 209.128. (1980). Aceites y grasas comestibles. Método de determinación de la densidad relativa. 3 p.
- Norma Técnica Peruana 209.121. (1975). Aceites y grasas comestibles. Método de determinación del índice de refracción. 5 p.
- Norma Técnica Peruana 319.089:1974. (2016). Aceites esenciales. Método de evaluación del residuo de evaporación.
- Nychas, G. (1995). Natural antimicrobials from plants. *New methods of food preservation*, 58-89 p. Doi: 10.1007/978-1-4615-2105-1_4.
- Ochoa, K., Paredes, L., Bejarano, D. & Silva, R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens Wedd* (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*, 3, 291-302.

- Ortuño, M. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. 276 p. ISBN: 84-937522-1-1.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L. & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18, 414-420.
- Ozcan, M. & Boyraz, N. (2000). Antifungal properties of some herb decoctions. *European Food Research and Technology*, 212, 86-88.
- Padilla, H. & Jara, J. (2010). Estudio de vida útil del pan de molde blanco. Tesis de grado. 34 p.
- Pandit, J., Aqil, M. & Sultana, Y. (2016). Nanoencapsulation technology to control release and enhance bioactivity of essential oils. Doi: 10.1016/B978-0-12-804307-3.00014-4.
- Paparella, A., Mazzarrino, G., Chaves-López, C., Rossi, C., Sacchetti, G., Guerrieri, O. & Serio, A. (2016). Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork. *Food Microbiology*, 59, 23-31.
- Parzanese, M. (2016). Tecnologías para la Industria Alimentaria. Microencapsulación. 12 p.
- Paster, N., Juven, B., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H. & Ravid, U. (1990). Inhibition effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 11, 33-37.
- Paster, N., Menasherov, M., Ravid, U. & Juven, B. (1995). Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *Journal of Food Protection*, 58(1), 81-85.
- Patkar, K., Usha, C., Shetty, H., Paster, N. & Lacey, J. (1994). Effects of spice oil treatment of rice on moulding and mycotoxin contamination. 13, 519-524.
- Pichersky, E., Noel, J. & Dudareva, N. (2006). Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science*, 311, 808-811.
- Pilco-Quesada, S., Quito, M. & Quispe-Condori, S. (2009). Conservación de pan artesanal ezequiel y pan superbuono usando aceite esencial de clavo de olor (*Eugenia caryophyllus*). *Revista Investigación Universitaria*, 1(1), 12-17.
- Pillai, D., Prabhasankar, P., Jena, B. & Anandharamakrishnan, C. (2012). Microencapsulation of *Garcinia cowa* fruit extract and effect of its use on pasta process and quality. *International Journal of Food Properties*, 15(3), 590-604.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. (2001). Antioxidants in food: practical applications. CRC Press, Woodhead Publishing Limited. Cambridge.
- Portillo, R., Viramontes, R., Gastélum, F., Muñoz C., Torres, M. & Nevarez M. (2008). Efecto antifúngico de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Shauer) sobre

- hongos contaminantes en productos de panadería. Tercera Reunión Nacional sobre orégano. México.
- Priyanka Biswas, Sen, D., Mazumder, S., Basak, C. & Doshi, P. (2016). Temperature Mediated Morphological Transition during Drying of Spray Colloidal Droplets. *American Chemical Society*, 32, 2464-2473. Doi: 10.1021/acs.langmuir.5b04171.
- Puertas, M., Hillebrand, S., Stashenko, E. & Winterhalter, P. (2002). In vitro radical scavenging activity of essential oils from columbian plants and fractions from orégano (*Origanum vulgare L.*) essential oil. Flavour Fragr.
- Quintong, A. & Tenesaca, J. (2013). Análisis de la retrogradación del pan molde blanco mediante métodos experimentales convencionales y análisis térmico. Escuela superior politécnica del litoral. Tesis de grado. 93 p.
- Quaglia, G. (1991). Ciencia y tecnología de la panificación. Editorial Acribia. Zaragoza-España. 385-395.
- Quispe, S., Saldaña, M. & Temelli, F. (2011). Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9):1880-1887.
- Rasooli, I. & Owlia, P. (2005). Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry*, 66(24), 2851- 2856.
- Rasooli, I. & Razzaghi, M. (2004). Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus*. Revista Mexicana de fitopatología. *Food Control*, 15,479-483.
- Reineccius, G. (2004). The spray drying of food flavors. *Drying Technology*, 22(6): 1289 -1324.
- Ré, M.I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology* 16,1195-1236.
- Ribeiro, R., De Barros R., Alvarenga, D., Vilela, S. & Umbelina, A. (2014). Characterization of Microencapsulated Rosemary Essential Oil and Its Antimicrobial Effect on Fresh Dough. *Food Bioprocess Technol.* Doi: 10.1007/s11947-014-1302-1.
- Ribotta, P. & Tadini, C. (2009). Alternativas tecnológicas para la elaboración y la conservación de productos panificados. Primera edición. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 327 p.
- Roccia, P., Martinez, M., Llabot, J. & Ribotta, P. (2014). Influence of spray-drying operating conditions on sunflower oil poder qualities. *Powder Technology*, (1):1-30.
- Rocha, M. & Vásquez, M. (2011). Utilización de harina de haba (*Vicia faba L.*) en la elaboración de pan. Escuela Superior Politécnica del litoral. 67 p.
- Rodea, D., Cruz, J., Román, A., Rodríguez, M., Vernon, E. & Pérez, C. (2012). Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica L.*) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *Journal of Food Engineering*, 111, 102-109.

- Rodríguez, M., Alcaráz, L. & Real, S. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. México. 38 p.
- Rodríguez, J. (2014). Estructura química y actividad antioxidante *in vitro* del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. “siuca culantro”. 44 p.
- Rokka, S. & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiótica bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur. Food Technol.*, 231, 1-12.
- Rosenberg, M., Kopelman, I. & Talmon, Y. (1990). Factors affecting retention in spray drying encapsulation of volatile material. *Journal Agriculture Food Chemical*, 38, 1288-1294.
- Rotman, A. & Blatt, Y. (1995). Microcápsulas que contienen aditivos para alimentos y su uso. Patente ES N° 2073478, España: Oficina española de patentes y marcas.
- Sahan, Y. (2011). Effect of *Prunus laurocerasus* L. (Cherry Laurel) leaf extracts on growth of bread spoilage fungi. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*, 17(1), 83-92.
- Sáenz, C., Tapia, S., Chávez, J. & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616–622.
- Salamanca, M. & Sánchez, M. (2009). Extracción y caracterización de la oleorresina del orégano (*Origanum vulgare*). 94 p.
- Salgado, A. & Jiménez, M. (2012). Métodos de control de crecimiento microbiano en el pan. México. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental.
- San Lucas, C. (2012). Uso de Natamicina en Pan de Molde Sin Corteza para Aumentar el Tiempo de Vida Útil. Ecuador. 6 p.
- Santos, G. (2014). Encapsulación por la tecnología de vibración con aplicación en investigación e industrias de alimentos, química, farmacéutica y biotecnología. 48 p.
- Sao Pedro, A., Cabral, E., Ferreira, D. & Sarmiento, B. (2009) Chitosan: an option for developed of essential oil delivery system for oral activity care. *Carbohydrate polymers*, 76, 501-508.
- Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). (2004). Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. 31 p.
- Schmidt, H. (1990). Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos. Aplicaciones y comentarios de orden químico y tecnológico. Chile. 156 p.
- Shiga, H, Yoshii, H. & Nishiyama, T. (2001). Flavor encapsulation and release characteristics of spray-dried powder by the blended encapsulant of cyclodextrin and gum arabic. *Drying Technol.*, 19: 1385-95.
- Sikkema, J., De Bont, J. & Poolman, B. (1995). Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 259, 2201-2222 pp.

- Silva, V., Vieira, G. & Hubinger, M. (2014). Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. *Food Res Int.* 61, 132-143.
- Simon, O. & Singh, N. (2001). Demonstration of anticonvulsant properties of an aqueous extract of Spirit Weed (*Eryngium foetidum L.*). *West Indian Med J.*, 35(2), 121-125.
- Soottitantawat, A., Yoshii H., Furuta, T., Ohgawara M., Forssell P., Partanen, R., Poutanen, K. & Linko, P. (2004). Effect of Water Activity on the Release Characteristics and Oxidative Stability of D-Limonene Encapsulated by Spray Drying. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 52(5) 1269–1276. doi: 10.1021/jf035226a.
- Stanley, P., Cauvain, S. & Young, L. (1996). Fabricación del pan. Editorial Acribia. Zaragoza-España. 69-291 pp.
- Stanley, P., Cauvain, S. & Young, L. (2007). Technology of bread making. Second edition. Springer Science Business Media. New York. EE UU. 389 p.
- Stashenko, E., Ruíz C., Arias, G., Durán, D., Salgar, W., Cala, M. & Martínez, M. (2010). *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS analysis and PCA. *J. Sep. Sci.*, 33, 93-103.
- Tafurt, G., Martinez, J. & Stashenko, E. (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Química*, 34(1), 43-55.
- Talavera, R. (2015). Aplicación de recubrimientos a base de antimicrobianos naturales para la mejora de la conservación de pan. España. 33 p.
- Tarar, O., Rehman, S., Mueen-Ud-Din G. & Murtaza, M. (2010). Studies on the shelf life of bread using acidulants and their salts. *Turkish Journal of Biology*, 34, 133-138.
- TECNOVA. (2014). Estudio sobre el uso de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales en la industria agroalimentaria. 31 p.
- Tejero, F. (2015). Moho: Prevención en el pan de molde envasado. Asesoría Técnica en Panificación. Madrid, España. Disponible en línea: <http://www.franciscotejero.com/tecnicas/moho-prevencion-en-el-pan-de-molde-ensado/>
- Tonguino, M. (2011). Determinación de las condiciones óptimas para la deshidratación de dos plantas aromáticas, menta (*Mentha piperita L*) y orégano (*Origanum vulgare L*). 196 p.
- Tonon, R., Brabet, C. & Hubinger, M. (2008). Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 88(1), 411-418. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.02.029.
- Tonon, R., Grosso, C. & Hubinger, M. (2011). Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. *Food Research International*, 44(1), 282-289. Doi: 10.1016/j.foodres.2010.10.018.

- Torrenegra, M., Matiz, G., Gil, J. & León, G. (2015). Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(3), 512-523.
- Turchiuli, C., Fuchs, M., Bohin, M., Cuvelier, M., Ordonnaud, C., Peyrat, M. & Dumoulin, E. (2005). Oil encapsulation by spray drying and fluidized bed agglomeration. *Innovate Food Science and Emerging Technologies*, 6,29-35.
- Usano, J., Pala, J. & Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. 7(2), 60-70.
- Vaidya, S., Bhosale, R. & Singhal, R. (2006). Microencapsulation of cinnamon oleoresin by spray drying using different wall materials. *Drying Technology*, 24, 983-992.
- Van Der Bij, J. (1976). The analysis of starch derivatives. *In: Examination and Analysis of Starch*. Applied Science Publishers. 189-213.
- Vázquez, M. (2001). Avances en seguridad alimentaria. Área de tecnología de los alimentos. España. 29 p.
- Vásquez, O., Alva, A. & Marreros, J. (2001). Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Revista Amazónica de Investigación Alimentaria*, 1(1), 38-42.
- Velluti, A., Sanchis, A., Ramos, J., Egado, J. & Marin, S. (2003). Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. *J. Food Microbiol*, 89(2-3), 145-154.
- Vehring, R. (2008). Pharmaceutical particle engineering via spray drying. *Pharmaceutical Research*, 25(5), 999-1022.
- Velasco, J., Marmesat, S., Dobarganes, C. & Márquez, G. (2006). Heterogeneous aspects of lipid oxidation in dried microencapsulated oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1722-1729.
- Viuda, M., Ruiz, Y., Fernández, J. & Pérez, J. (2006). Innovative Food Science & Emerging Technologies. 10(4), 590-600.
- Vizcarra, M. (2007). Estudio de mercado de orégano en Brasil. Lima: Ayuda Proyecto.
- Voigt, R. (1982). Tratado de tecnología farmacéutica. Zaragoza: Editorial Acribia. 64-65.
- Wang, S., Chen, P. & Chang, S. (2005). Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*, 96(7), 813-818.
- Wang, R., Wang, R. & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 289-292.

- Wandrey, C., Bartkowiak, A. & Harding, S. (2010). Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. 83-86 pp.
- Watson, L. & Dallwitz, M. (1992). Las familias de plantas con flores. Descripciones, ilustraciones, identificación y recuperación de información. Recuperado de <http://delta-intkey.com/angio/www/labiateae.htm>.
- Williams, W., Covelier, M. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *U. Technol*, 28, 25.
- Xiang-Nan Tian, Zi-Tao Jiang & Rong Li. (2008). Inclusion interactions and molecular microcapsule of *Salvia sclarea* L. essential oil with β -Cds derivates. *Eur Food Res Technol*, 227, 1001-1007.
- Yáñez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Márquez, M. & Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva*, 21, 313-319.
- Yoshi, H., Furuta, T. & Soottitantawat, A. (2001). Microencapsulation of food flavors by spray drying. *Food Sci Emerg Technol*, 2, 55-61.
- Young, D. & Agric, J. (1996) Microencapsulation properties of gum Arabic and several food proteins: spray-dried orange oils emulsion particles. *Food Chem*, 44, 1314-1320.
- Zusatzstoffe, I. (1986). Ihre Wirkung und Anwendung in Lebensmitteln. B. Behr's Verlag.

ANEXOS

Anexo 1 - Procedimiento de atomización

El mini Spray BUCHI-290 funcionó según el principio de flujo paralelo, es decir, el producto pulverizado y el aire seco se desplazan en el mismo sentido. El procedimiento del secador es el siguiente (Lozano, 2009):

- Se enciende el compresor que suministra el caudal de aire de atomización.
- Se enciende el interruptor de general del equipo.
- Se introduce la goma de silicona de la bomba peristáltica hasta el fondo de un vaso de precipitado con agua destilada.
- Se pone en marcha la potencia de aspiración a 100%.
- Se selecciona la temperatura de aire de entrada y se pone en marcha la calefacción.
- Se espera que se alcance la temperatura seleccionada.
- Se ajusta el caudal de la bomba peristáltica de alimentación a 18%, y se pone en marcha.

Cuando el agua llega a la tobera se inició la atomización:

- Se observa la temperatura de salida y se espera que alcance un valor estable que es de 185°C.
- Se alcanza el estado estacionario, se cambia la goma de silicona de la bomba peristáltica del vaso con agua al vaso de precipitado que contiene la emulsión preparada. Se comprueba la temperatura ambiente (25°C).
- El proceso de atomización y secado se inicia, y el polvo comienza a aparecer en el recipiente de recogida.
- Una vez que ha pasado toda la muestra a atomizar se cambia la goma de silicona de la bomba peristáltica al vaso de precipitado con agua destilada. Se espera unos minutos hasta que el agua limpie internamente la goma de silicona y la boquilla de atomización, luego se detiene la bomba de alimentación y se apaga el compresor.

- Se apaga la aspiración y se procede a abrir el recipiente de recogida de polvo. Con la ayuda de una cucharilla se recoge todo el polvo.
- El producto en polvo obtenido se recoge en bolsas herméticas con cierre.
- Finalizado el experimento se desmonta el cilindro de atomización, el ciclón y el recipiente de recogida de polvo seco, se lava y seca cuidadosamente.

Anexo 2 – Análisis de Acidez titulable (ATT)

- Se añade 10 g de pan molde en 100mL de agua destilada y se mezcla bien. Posteriormente se deja reposar aproximadamente 1 hora.
- Luego se pipetea 17.6mL de muestra y se deposita en un vaso de precipitado. Se enjuaga la misma pipeta con 17.6mL de agua destilada y se vuelve a añadir en el vaso.
- A continuación, se añade 0.5mL de fenolftaleína y se valora con NaOH 0.1 N hasta que la solución tome un color ligeramente rosado que persista durante 30 segundos.
- Los análisis se realizan por triplicado.

Para hallar el porcentaje de acidez se aplica la ecuación 7:

$$\%Acidez = \frac{\text{Gasto base (mL)} \times \text{Normalidad base} \times \text{Factor de ácido sulfúrico}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100 \quad (7)$$

Anexo 3 – Análisis de pH

- Se coloca 15g de trozos pequeños de pan sin corteza (solo la miga) en un matraz Erlenmeyer y se añade 100mL agua destilada.
- Se agita manualmente el matraz hasta que el pan se suspenda y no haya grumos.
- Se mantiene la suspensión en reposo durante 30 minutos.
- Se decanta el sobrenadante líquido en un vaso de precipitado.
- Se coloca el electrodo dentro del vaso y se determina el pH hasta que la lectura se estabilice.
- Los análisis se realizan por triplicado.

Anexo 4 - Determinación de mohos y levaduras

- Se pesa 10g de muestra en una placa petri estéril y se homogeniza la muestra con 90mL de agua destilada y esterilizada.
- Se coloca las placas petrifilm en una superficie plana, se levanta la parte superior de ésta y se procede a inocular 1mL de cada muestra en el centro, para ello se utiliza una pipeta estéril.
- Posteriormente se procede a colocar el esparcidor encima de la placa petrifilm y presionar suavemente sobre el centro para distribuir uniformemente la muestra. Se retira el esparcidor y se deja la placa en reposo durante 1 minuto para la formación del gel.
- Luego, se colocan las placas petrifilm en una incubadora a temperatura a 28°C.
- Posterior a ello, se cuentan las colonias de cada placa después de 3, 4 o 5 días de incubación, se considera hasta que los mohos dejen de crecer y sea estable.
- Se informa las unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g) de mohos y levaduras, el análisis se realiza por duplicado.

Anexo 5 - Resultados de evaluación de vida útil de pan molde

Tabla 13 – Resultados de actividad de agua

Días de almacenamiento	T 1	T 1.5	T 2
1	0.942	0.946	0.941
3	0.939	0.933	0.936
5	0.935	0.936	0.935
7	0.921	0.933	0.923
9	0.924	0.922	0.921
11	0.937	0.931	0.929
13	0.928	0.931	0.929
15	0.919	0.922	0.916
17	0.924	0.926	0.919
19	0.922	0.915	0.924
21	0.925	0.915	0.918

Tabla 14 – Resultados de humedad

Días de almacenamiento	T 1	T 1.5	T 2	
1	35.71	34.51	34.24	%
3	30.93	30.02	31.48	%
5	32.10	32.03	27.42	%
7	30.27	30.69	29.24	%
9	29.53	28.91	28.20	%
11	30.67	29.55	29.54	%
13	28.81	29.78	28.85	%
15	27.51	27.60	25.87	%
17	28.45	29.61	27.30	%
19	28.95	26.39	28.34	%
21	29.15	26.59	27.06	%

Tabla 15 – Resultados de acidez

Días de almacenamiento	T 1	T 1.5	T 2	
1	0.023	0.020	0.020	%
3	0.020	0.018	0.016	%
5	0.016	0.016	0.020	%
7	0.015	0.015	0.015	%
9	0.010	0.016	0.014	%
11	0.014	0.015	0.016	%
13	0.015	0.015	0.016	%
15	0.016	0.015	0.020	%
17	0.020	0.017	0.015	%
19	0.014	0.016	0.015	%
21	0.020	0.019	0.024	%

Tabla 16 – Resultados de pH

Días de almacenamiento	T 1	T 1.5	T 2
1	5.94	6.04	5.98
3	5.79	5.96	5.87
5	5.74	5.73	5.72
7	5.86	5.95	5.86
9	5.96	6.07	5.98
11	5.99	6.10	6.08
13	5.99	6.13	6.06
15	5.99	6.11	5.92
17	5.96	6.10	6.02
19	5.96	6.07	6.04
21	5.91	5.88	5.94

Tabla 17 – Resultados de mohos y levaduras

Días de almacenamiento	T 1	T 1.5	T 2	
1	50	10	30	ufc/g
3	135	275	125	ufc/g
5	80	190	90	ufc/g
7	45	30	45	ufc/g
9	70	90	465	ufc/g
11	70	120	385	ufc/g
13	45	135	80	ufc/g
15	165	140	520	ufc/g
17	70	50	40	ufc/g
19	760	975	235	ufc/g
21	1070	1620	1760	ufc/g

Anexo 6 - Análisis estadístico de actividad de agua

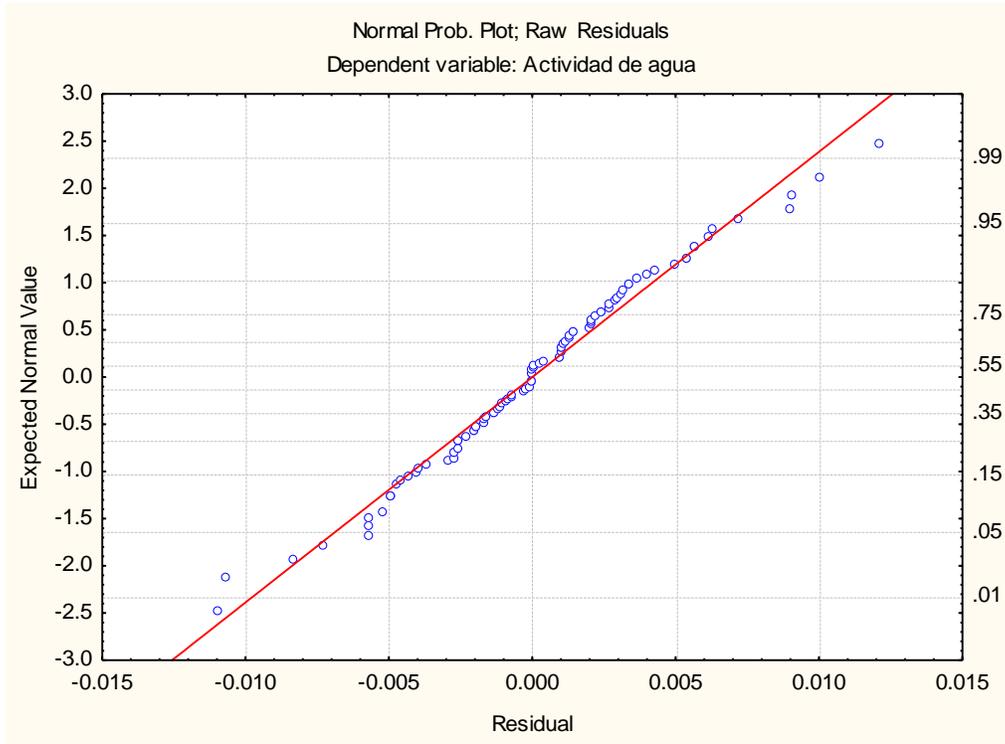


Figura 19 – Normalidad de residuos de los datos de actividad de agua

Tabla 18 – Análisis de varianza de la variable actividad de agua de 15 a 21 días

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	30.50169	1	30.50169	1958724	0.000000
Días de almacenamiento	0.00009	3	0.00003	2	0.148591
Tratamientos	0.00008	2	0.00004	3	0.092396
Error	0.00047	30	0.00002		

Anexo 7 - Análisis estadístico de humedad

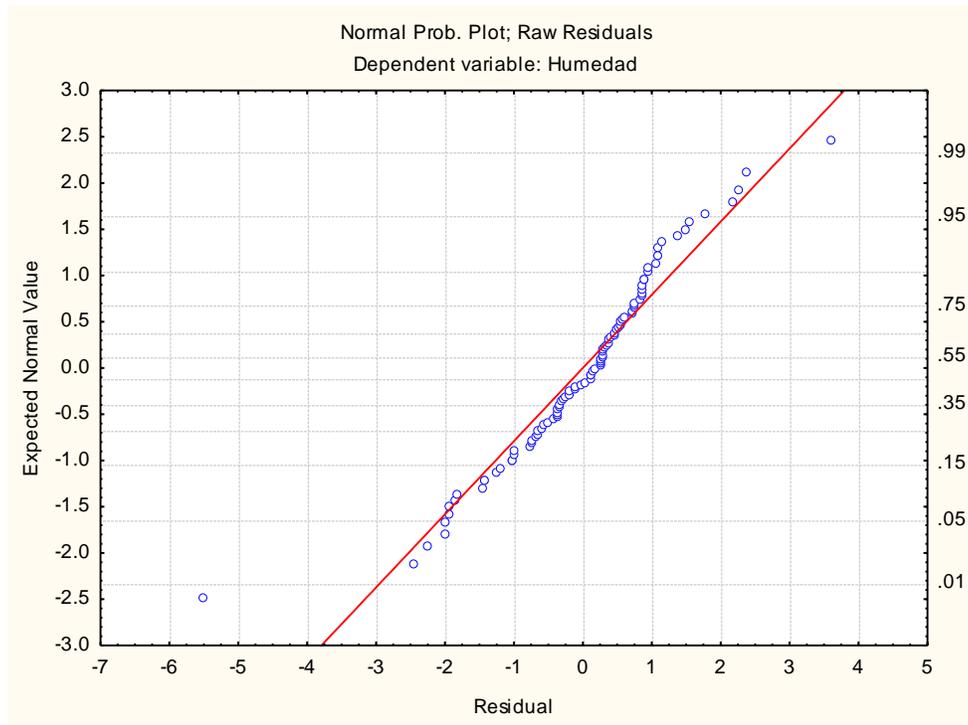


Figura 20 - Normalidad de los residuos de los datos de humedad

Tabla 19 – Análisis de varianza de la variable humedad de 15 a 21 días

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	27693.40	1	27693.40	25614.28	0.000000
Días de almacenamiento	9.98	3	3.33	3.08	0.042435
Tratamientos	11.89	2	5.95	5.50	0.009229
Error	32.44	30	1.08		

Anexo 8 - Análisis estadístico de Acidez

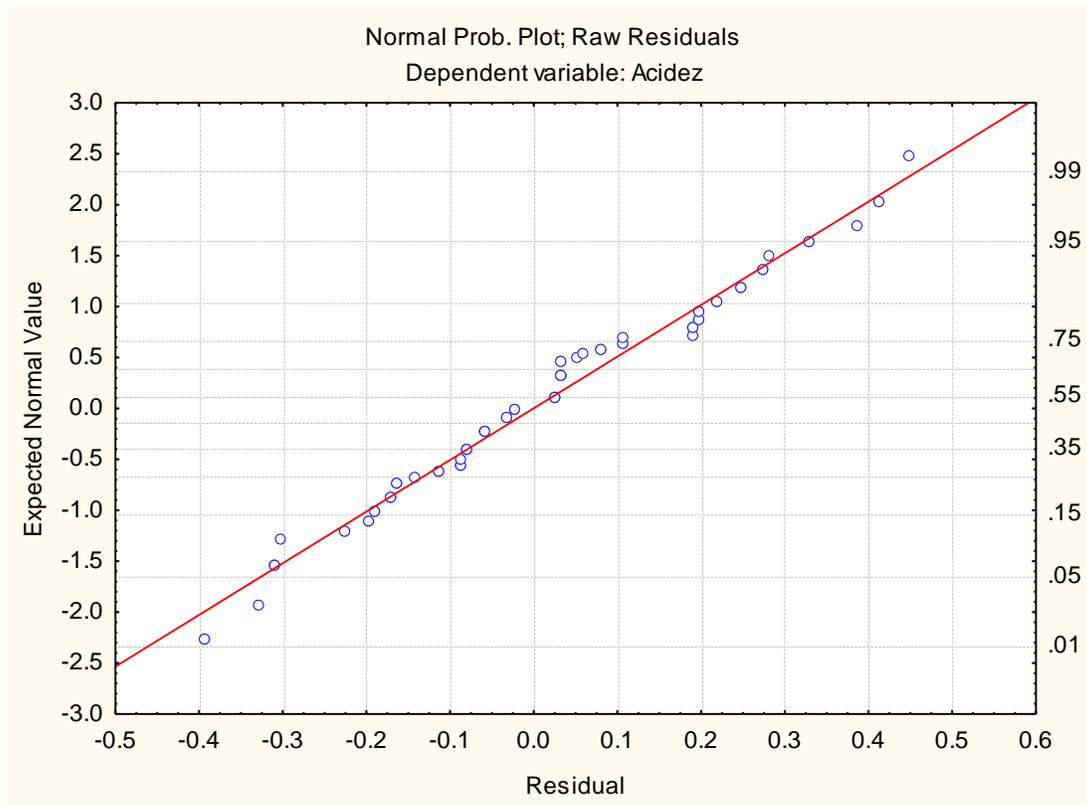


Figura 21 - Normalidad de los residuos de los datos de acidez

Tabla 20 – Análisis de varianza de la variable acidez de 15 a 21 días

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	0.011060	1	0.011060	2525.334	0.000000
Días de almacenamiento	0.000175	3	0.000058	13.334	0.000010
Tratamientos	0.000020	2	0.000010	2.328	0.114883
Error	0.000131	30	0.000004		

Anexo 9 - Análisis estadístico de pH

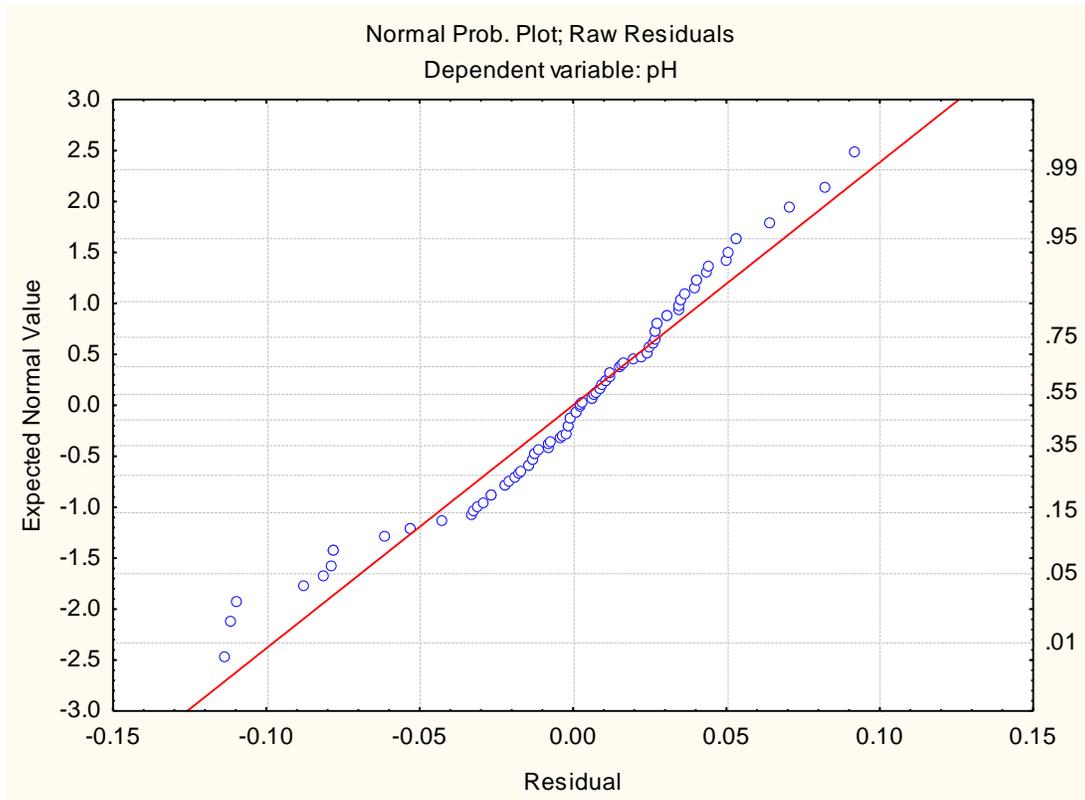


Figura 22 - Normalidad de los residuos de los datos de pH

Tabla 21 - Análisis de varianza de la variable pH de 15 a 21 días

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1292.403	1	1292.403	541047.6	0.000000
Días de almacenamiento	0.084	3	0.028	11.8	0.000029
Tratamientos	0.044	2	0.022	9.1	0.000796
Error	0.072	30	0.002		

Anexo 10 - Análisis estadístico de mohos y levaduras

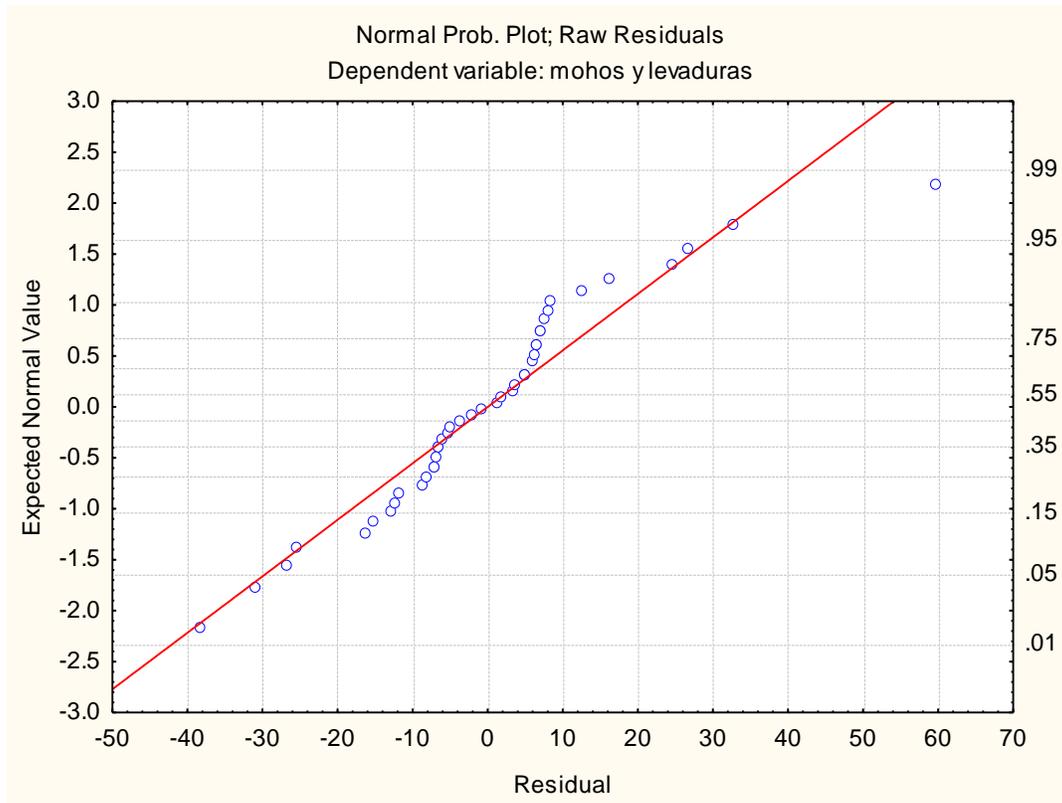


Figura 23 - Normalidad de los residuos de los datos de mohos y levaduras

Tabla 22 - Análisis de varianza de la variable mohos y levaduras de 15 a 21 días

	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	53476.56	1	53476.56	59.69161	0.000009
Días de almacenamiento	41609.19	3	13869.73	15.48167	0.000291
Tratamientos	588.06	1	588.06	0.65641	0.435009
Error	9854.69	11	895.88		

Anexo 11 - Comparación de panes molde de día 1 y día 21 en los días de almacenamiento



Día 1

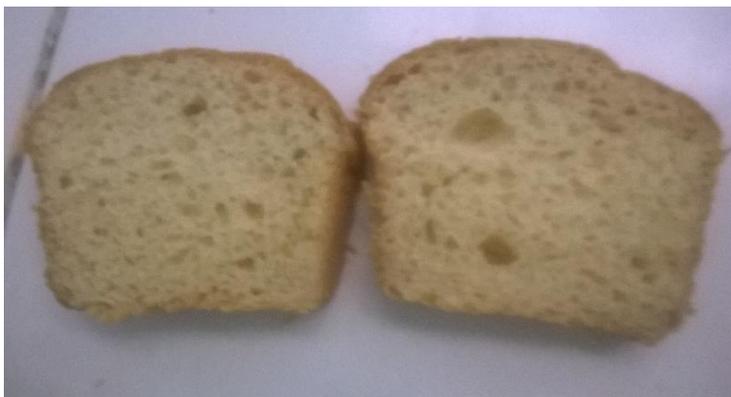


Día 21

Anexo 12 - Comparación de los panes con microencapsulado del día 1 y del día 19

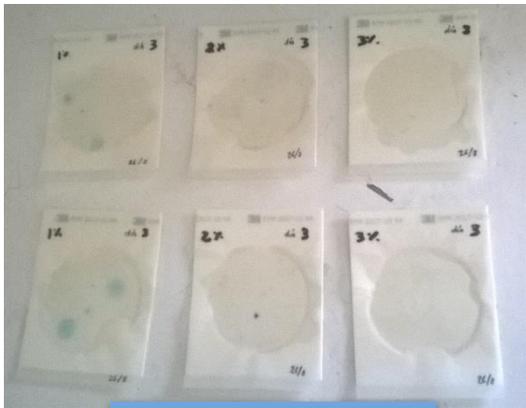


Día 1

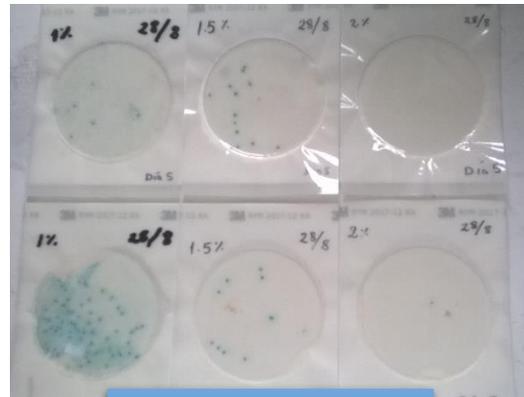


Día 19

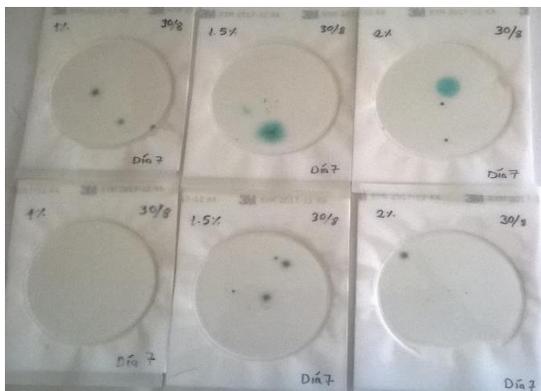
Anexo 13 – Mohos y levaduras presentes en las placas petrifilm con el paso de los días de almacenamiento



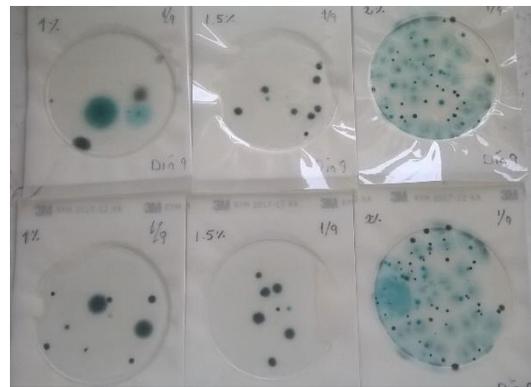
Día 3



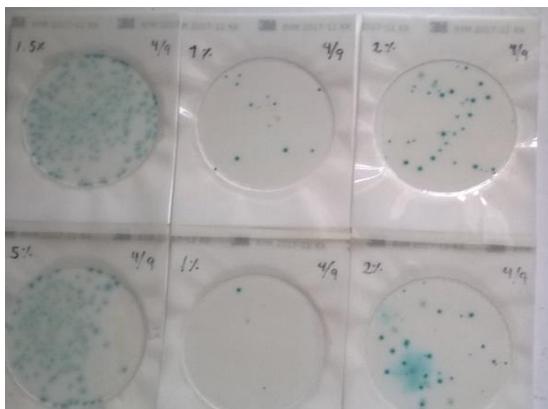
Día 5



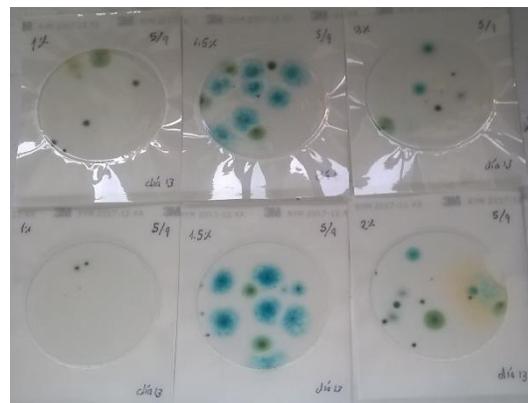
Día 7



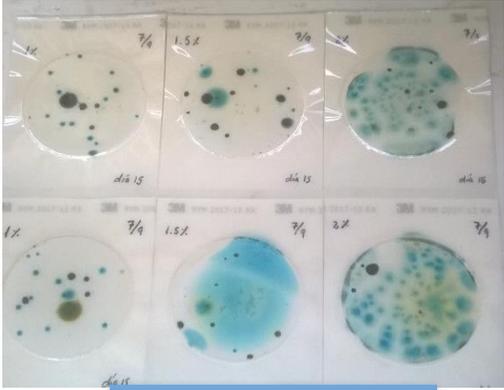
Día 9



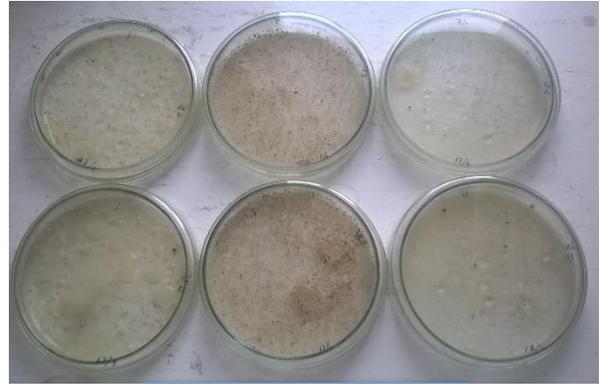
Día 11



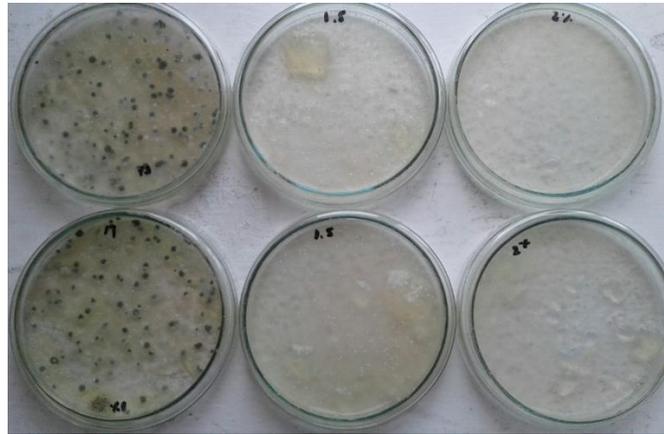
Día 13



Día 15



Día 19



Día 21