

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS



Una Institución Adventista

Aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela (*Cinnamomun verum*) y alginato de sodio en la calidad postcosecha del arándano azul (*Vacinium corymbosum*)

Tesis para obtener el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos

Por:

Maria Stephanie Michelle Segura Cantu

Asesor:

PhD. Noé Benjamín Pampa Quispe

Lima, diciembre de 2019

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL INFORME DE TESIS

Yo Noé Benjamín Pampa Quispe, de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente informe de investigación titulado: "Aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum*) y alginato de sodio en la calidad postcosecha del arándano azul (*Vaccinium corymbosum*)" constituye la memoria que presenta la Bachiller Maria Stephanie Michelle Segura Cantu para aspirar al título Profesional de **Ingeniero de Alimentos**, cuya tesis 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 19 días de febrero del año 2020.



PhD. Noé Benjamin Pampa Quispe

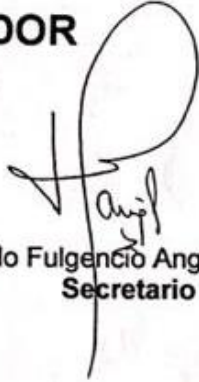
Aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum*) y alginato de sodio en la calidad poscosecha del arándano azul (*Vaccinium corymbosum*)

TESIS

Presentada para optar el Título Profesional de Ingeniero de Alimentos


JURADO CALIFICADOR


Dr. Rodrigo Alfredo Matos Chamorro
Presidente


Ing. Guido Fulgencio Anglas Hurtado
Secretario


MSc. Daniel Sumire Qquenta
Vocal


MSc. Dora Jhanina Rodríguez Fernández
Vocal


Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe
Asesor

Lima, 26 de diciembre de 2019

DEDICATORIA

Con mucho cariño, a mis padres Flor de María

Cantu Moyohuara y Luis Alberto Viera

Gutiérrez por su sacrificio, amor y apoyo

incondicional durante mi carrera profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Flor de María Cantu Moyohuara y Luis Alberto Viera Gutierrez, por su apoyo y confianza en todo momento para finalizar este trabajo de investigación.

A mi asesor, Dr. Noé Benjamín Pampa Quispe, por su constante apoyo y dedicación durante el desarrollo de esta investigación y por ayudarme a cumplir uno de mis objetivos.

A la Facultad de Ingeniería y Arquitectura y a la Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos por haberme brindado el tiempo y espacio para el desarrollo de esta investigación.

A la Escuela Profesional de Medicina Humana perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Salud por el tiempo y el espacio brindado en los laboratorios de microscopía y microbiología.

Al Dr. Félix Nicolás Palacios Morales por la asesoría brindada durante esta investigación.

Al Ing. Israel Machaca Sucapuca, Ing. Elva Delgado e Ing. Fredy Flores de la fábrica Productos Unión, por permitirme el uso de equipos y por haberme brindado el tiempo necesario para realizar los ensayos de esta investigación.

A la Ing. Kety Arellano Lino por su apoyo brindado en el Centro de Investigación de Ciencia de Alimentos.

A mis dictaminadores: Msc Daniel Sumire Qqenta y Msc. Dora Jhanina Rodríguez Fernández, por la paciencia y tiempo durante las revisiones de la presente investigación.

INDICE GENERAL

CAPITULO I. EL PROBLEMA.....	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 El arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i>).....	3
2.1.1 Generalidades.....	3
2.1.2 Ubicación taxonómica.....	3
2.1.3 Descripción botánica.....	4
2.1.4 Producción nacional.....	5
2.1.5 Exportación.....	6
2.1.6 Composición nutricional.....	7
2.1.7 Características fisicoquímicas.....	8
2.1.8 Factores que afectan la calidad de los arándanos.....	8
2.2 Recubrimientos comestibles.....	9
2.2.1 Generalidades.....	9
2.2.2 Ventajas y desventajas.....	11
2.2.3 Composición.....	12
2.3 Aceites esenciales.....	16
2.3.1 Generalidades.....	16
2.3.2 Actividad antimicrobiana de aceites esenciales.....	16
2.4 Nanoemulsión.....	20
2.4.1 Generalidades.....	20
2.4.2 Formulación de nanoemulsiones.....	20

2.4.3 Métodos de fabricación de nanoemulsiones	21
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1 Lugar de ejecución	25
3.2 Materiales e insumos.....	25
3.2.1 Materia prima.....	25
3.2.2 Insumos	25
3.2.3 Materiales	26
3.2.3 Reactivos	27
3.2.5 Equipos.....	27
3.3 Metodología Experimental	28
3.3.1 Obtención de la nanoemulsión de aceite esencial de canela	28
3.3.2 Caracterización de la nanoemulsión del aceite esencial de canela	29
3.3.3 Elaboración del recubrimiento comestible	30
3.3.4 Aplicación del recubrimiento comestible	31
3.3.5 Actividad antimicrobiana del recubrimiento	32
3.4 Diseño experimental.....	33
3.4.1 Diseño estadístico.....	33
3.4.2 Análisis estadístico.....	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1 Caracterización de la nanoemulsión del aceite esencial de canela.....	37
4.1.1 Conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$).....	39
4.1.2 Sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$)	41

4.1.3 Actividad de agua (A_w)	42
4.1.4 Diámetro de gota.....	44
4.2 Caracterización de la materia prima	50
4.2.1 Composición proximal.....	50
4.2.2 Análisis fisicoquímico	52
4.3 Evaluación fisicoquímica del arándano.....	52
4.3.1 Sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix)	53
4.3.2 Acidez titulable.....	57
4.3.3 Actividad de agua (a_w)	61
4.3.4 pH.....	65
4.3.5 Análisis de parámetro de color.....	68
4.3 Actividad microbiológica del arándano recubierto	75
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
5.1 Conclusiones.....	83
5.2 Recomendaciones.....	84
REFERENCIAS	85
ANEXOS.....	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Respiración del arándano a diferentes temperaturas	3
Tabla 2. Exportación de arándanos a la Unión Europea	7
Tabla 3. Contenido de nutrientes por cada 100 g de arándano	8
Tabla 4. Materiales usados para recubrimientos y películas comestibles	13
Tabla 5. Aplicación de recubrimientos comestibles con ingredientes antimicrobianos	15
Tabla 6. Aplicación del extracto de canela en <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i> O157:H7	18
Tabla 7. Mecanismo de acción de ciertos aceites esenciales contra diferentes microorganismos.....	19
Tabla 8. Ingredientes comunes usados en nanoemulsiones alimenticias	21
Tabla 9. Formulaciones utilizadas para la nanoemulsión.....	28
Tabla 10. Formulaciones utilizadas para el recubrimiento comestible	30
Tabla 11. Parámetros y niveles del diseño ortogonal Taguchi L8 (2 ⁵).....	34
Tabla 12. Diseño ortogonal Taguchi para variables independientes y dependientes .	34
Tabla 13. Parámetros y niveles del diseño factorial 3 ²	35
Tabla 14. Diseño factorial 3 ² para variables dependientes e independientes.....	35
Tabla 15. Análisis de varianza de la nanoemulsión del aceite esencial	37
Tabla 16. Conductividad (μS/cm) de las emulsiones	41
Tabla 17. Sólidos solubles (°Brix) de las emulsiones.....	42
Tabla 18. Actividad de agua (Aw) de las emulsiones.....	44
Tabla 19. Diámetro de gota de las emulsiones	46
Tabla 20. Análisis proximal del arándano	51

Tabla 21. Análisis fisicoquímico del arándano	52
Tabla 22. Análisis de varianza de sólidos solubles (°Brix)	54
Tabla 23. Análisis de varianza de acidez titulable (g/100mL).....	58
Tabla 24. Análisis de varianza de actividad de agua (Aw)	62
Tabla 25. Análisis de varianza de pH	66
Tabla 26. Valores de los parámetros de color de los arándanos recubiertos y control	68
Tabla 27. Análisis de varianza de luminosidad (L*)	70
Tabla 28. Análisis de varianza de a*	73
Tabla 29. Análisis de varianza de b*	75
Tabla 30. Medida de halos de inhibición para <i>E. Coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	76
Tabla 31. Análisis de varianza de <i>Escherichia coli</i>	79
Tabla 32. Análisis de varianza de <i>Staphylococcus aureus</i>	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A) Planta de <i>Vaccinium corymbosum</i> B) Hojas C) Raíz y D) Frutos. (García, Gonzáles y Ciordia, 2018)	5
Figura 2. Zonas potenciales de producción de arándanos (MINAGRI, 2016)	6
Figura 3. Defectos en arándanos: A) Deshidratación B) Exhudación de jugo C) Pudrición u hongos D) Daño mecánico (Chilean Blueberry Committee, 2015)	9
Figura 4. Barreras comestibles (Rojas et al., 2009).....	10
Figura 5. Estructura química del A) cinamaldehído y B) eugenol (Gómez y López, 2009)	17
Figura 6. Proceso de emulsificación por formación espontánea (Cardoso y Jiménez, 2015)	22
Figura 7. Aplicación del recubrimiento comestible.....	32
Figura 8. Evaluación de actividad antimicrobiana del recubrimiento.....	33
Figura 9. Gráfica de efecto principal para la conductividad	38
Figura 10. Gráfica de efecto principal para la actividad de agua	38
Figura 11. Gráfica de efecto principal para sólidos solubles (°Brix).....	38
Figura 12. Gráfica de efecto principal para diámetro de gota	39
Figura 13. Conductividad de las emulsiones	40
Figura 14. Sólidos solubles (°Brix) de las emulsiones	42
Figura 15. Actividad de agua de las emulsiones	43
Figura 16. Microscopía de las emulsiones preparadas.....	48
Figura 17. Distribución de tamaño de gotas de las emulsiones.....	49
Figura 18. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de sólidos solubles (°Brix) .	54

Figura 19. Sólidos solubles (°Brix) de arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente	56
Figura 20. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de acidez titulable (g/100mL)	58
Figura 21. Acidez titulable de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente	60
Figura 22. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de actividad de agua (aw) .	62
Figura 23. Actividad de agua de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente	64
Figura 24. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de pH	66
Figura 25. pH de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente.....	67
Figura 26. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de luminosidad (L*)	71
Figura 27. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de a*	73
Figura 28. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de b*	75
Figura 29. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de <i>Escherichia coli</i>	79
Figura 30. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de <i>Staphylococcus aureus</i>	80
Figura 31. Resistencia antimicrobiana de <i>Escherichia Coli</i>	81
Figura 32. Resistencia antimicrobiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	82

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de °Brix.....	95
Anexo 2. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de acidez titulable	96
Anexo 3. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de actividad de agua.....	97
Anexo 4. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto del pH.....	98
Anexo 5. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la luminosidad (L*)	99
Anexo 6. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la escala a*	100
Anexo 7. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la escala b*	101
Anexo 8. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de <i>Staphylococcus aureus</i>	102
Anexo 9. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de <i>Escherichia Coli</i> O157:H7	103
Anexo 10. Equipos utilizados para la emulsión y el recubrimiento.....	104
Anexo 11. Equipos utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana	105
Anexo 12. Recubrimiento y secado de los arándanos.....	106
Anexo 13. Almacenamiento de los arándanos	108
Anexo 14. Hidratación de cepas <i>Escherichia Coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	110

Anexo 15. Preparación del patrón de McFarland	110
Anexo 16. Informe de ensayo de composición proximal del arándano	111
Anexo 17. Certificado de análisis de Agar Mueller Hinton	112
Anexo 18. Certificado de análisis de Agar TSA.....	113
Anexo 19. Datos de diámetro de gotas de las nanoemulsiones	114

SÍMBOLOS

a*: Coordenada rojo-verde

a_w: Actividad de agua

b*: Coordenada amarillo-azul

L*: Luminosidad

mm: Milímetro

N: Normalidad

rpm: Revoluciones por minuto

g: Gramos

°C: Celsius

AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales

ANOVA: Análisis de varianza

LS: Cuadrado medio

SS: Suma de cuadrados

GL: Grados de libertad

F_o: Valor de F

min: Minutos

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato de sodio en la calidad postcosecha del arándano azul y su capacidad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* O157:H7. El estudio se desarrolló en dos partes, la primera consistió en la elaboración de la nanoemulsión del aceite esencial de canela mediante un diseño octogonal Taguchi L8 donde se evaluó el efecto de la goma arábiga, tiempo de agitación, rpm, aceite esencial de canela y ultrasonido sobre el tamaño de gota, °Brix, actividad de agua y conductividad. En la segunda parte se realizó un diseño factorial 2³ con un punto central para la elaboración de los recubrimientos comestibles donde se evaluó el efecto del alginato de sodio (0.2-0,3%) y la temperatura de secado (25, 30 y 35°C) sobre la calidad postcosecha del arándano (°Brix, actividad de agua, pH, acidez), actividad antimicrobiana (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 43888) y finalmente colorimetría. En la primera parte, el ANOVA mostró significancia ($p < 0.05$) en el tamaño de gota, °Brix y conductividad, excepto en la actividad de agua, donde con un mayor tiempo de homogeneización y mayor cantidad de emulsionante se obtuvo un menor tamaño de gota. En la segunda parte, el ANOVA mostró significancia en la luminosidad (L*), escala a*, escala b* e inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Palabras clave: Nanomulsión de aceite esencial de canela, recubrimiento comestible, alginato de sodio, goma arábiga, actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was the effect of the application of an edible coating based on nanoemulsion of cinnamon essential oil and sodium alginate in the post-harvest quality of blueberry and antimicrobial capacity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia Coli* O157: H7. The study was used in two parts, the first one was the elaboration of the nanoemulsion of the essential oil through an octagonal design Taguchi L8 where the effect of the gum arabic, agitation time, rpm, cinnamon essential oil and ultrasound were evaluated about the drop size, °Brix, water activity and conductivity. In the second part a factorial design 2³ was carried out with a central point for the preparation of edible coatings, where the effect of sodium alginate (0.2-0.3%) and the drying temperature (25, 30 and 35°C) were evaluated on the postharvest quality of blueberry (°Brix, water activity, pH, acidity), antimicrobial activity (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 43888) and finally colorimetry. In the first part, the ANOVA showed significance ($p < 0.05$) in the drop size, ° Brix and conductivity, except in the water activity, where with a longer homogenization time and a greater amount of emulsion, a smaller drop size. In the second part, ANOVA showed significance in luminosity (L *), scale a *, scale b * and inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: Cinnamon essential oil nanoemulsion, edible coating, sodium alginate, gum arabic, antimicrobial activity.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Los arándanos son catalogados por Defilippi, Robledo y Becerra (2013) como frutos climatéricos, de tamaño pequeño y con una alta tasa de respiración (34 mL CO₂/kg por hora a 20°C), esto los hace frutos muy perecederos y más susceptibles a la deshidratación y al daño mecánico, además de la piel delgada que poseen. La deshidratación del arándano genera cambios como el ablandamiento, la flacidez, la pérdida de peso y el arrugamiento, que se produce si el arándano pierde peso entre 3 a 5% de su peso inicial afectando su valor comercial (Figuroa, Guerrero y Bensch, 2010).

Asimismo, los daños mecánicos que ocurren después de la cosecha de los frutos, incrementan la pérdida de calidad y disminuyen la vida en anaquel, debilitando la pared celular, la pérdida de firmeza y el incremento de la actividad enzimática (Núñez, NeSmith, Sánchez, Prussia y Soto, 2005). Estos daños mecánicos como lesiones, cortes e impactos, inducen la pérdida de agua causando la pérdida del producto, además causan la mayor pérdida post cosecha. Las consecuencias de los daños mecánicos pueden ser físicas que provocan ablandamiento, en consecuencia, roturas (García, 2013).

Por otro lado, los arándanos son también susceptibles a la contaminación por patógenos transmitidos por los alimentos, siendo los más comunes la *Escherichia coli* O157: H7 y *Staphylococcus aureus*, que se han visto implicados en varios brotes (Cao, Huang y Chen, 2017). La producción de arándanos y el proceso de recolección humana confieren muchas fuentes de contaminación, en consecuencia, en el año 2008 en Honduras un brote *Staphylococcus aureus* transmitido por alimentos afectó a niños de una guardería (Mejía et al., 2008) y la *Escherichia Coli* serotipo O157:H7 está relacionada con infecciones graves transmitidas por frutas, verduras, lácteos, alimentos poco cocidos y sin pasteurizar (Rubaglio y Tesone, 2007).

Otro problema predominante en estos frutos es la pudrición, donde los patógenos que atacan frecuentemente son la *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum sp.* y *Rhizopus spp.*, siendo el principal

problema la *Botrytis cinerea*, puesto que puede desarrollarse a 0°C. Por lo tanto, es difícil entregar un producto de calidad a los principales mercados consumidores como EE. UU. y Unión Europea, ya que se encuentran distantes y la integridad de los frutos se ve afectada durante el viaje.

El uso de agentes antimicrobianos en la elaboración de recubrimientos comestibles se está incrementando, reportándose recientemente investigaciones donde se demuestra que el aceite esencial de canela posee propiedades antimicrobianas, por lo que su adición en el arándano hace que la membrana celular de los microorganismos se deteriore (Gómez y López, 2009). No obstante, el uso de los aceites esenciales contribuye a las características sensoriales de sabor y olor, un factor que no es agradable para los consumidores, por lo cual es necesario emplear la nanotecnología para reducir las dimensiones que van de 20 a 500 nm. Su uso en la ingeniería de alimentos ha ido en aumento, debido a que se han encontrado resultados novedosos en las características como la textura, sabor, color y estabilidad durante la vida en anaquel de la fruta. (Cardoso y Jiménez, 2015)

El presente proyecto tiene por finalidad contribuir a preservar la calidad post cosecha del arándano durante el transporte hacia los destinos donde son exportados. Así mismo, es importante el uso de los recubrimientos comestibles como envases biodegradables ya que son amigables con el medio ambiente y no es necesario el uso de empaques desechables. Por otra parte, el uso de la nanotecnología en la industria de alimentos se encuentra en desarrollo y mediante este proyecto se buscará aprovechar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de canela, usándolo como un compuesto bioactivo para reducir la cantidad de microorganismos presentes en el arándano.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato de sodio en la calidad postcosecha del arándano azul y su capacidad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* O157:H7.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 El arándano (*Vaccinium corymbosum*)

2.1.1 Generalidades

El arándano es una baya redondeada de 7 a 9 mm de diámetro, de color negro azulado, cubierta de pruina azul y un ribete en lo alto; su carne es de sabor agridulce de color vinoso y en la parte central contiene diversas simientes. Este fruto pertenece a la familia de los berries, originaria de América del Norte, donde se cultivan dos tipos de arándano: Lowbush blueberry y Highbush blueberry. Posee una gran cantidad de antioxidantes y se usan como frutas frescas, productos secos, alimentos procesados, bebidas, etc.; estos atributos incentivan su consumo en Estados Unidos, Europa y Asia (Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), 2016).

Defilippi et al. (2013) mencionan que los arándanos tienen un comportamiento climatérico, pero a diferencia de otros frutos deben ser cosechados cercanos a su madurez ya que sus atributos organolépticos no mejoran después de la cosecha. Además, su tasa de respiración (Tabla 1) está influenciada por la temperatura y debido a su tamaño pequeño y su piel delgada son más susceptibles a la deshidratación y al daño mecánico.

Tabla 1. Respiración del arándano a diferentes temperaturas (Defilippi et al., 2013).

Temperatura (°C)	Respiración (mL CO ₂ /kg por h)
0	3
10	9
20	14

2.1.2 Ubicación taxonómica

El arándano perteneciente a la familia de las Ericáceas se clasifica taxonómicamente de acuerdo a Acuña (2015) de la siguiente manera:

Reino: *Planta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Ericales*

Familia: *Ericaceae*

Subfamilia: *Vaccinioideae*

Género: *Vaccinium*

Especie: *V. Corymbosum*

2.1.3 Descripción botánica

García, Gonzáles y Ciordia (2018) señalan que los arbustos de los arándanos son rastreros (Figura 1), con una altura que varía dependiendo de la especie (0.3 a 0.7 m), tiene hojas caducas, alternas o perennes y también poseen una gran longevidad que puede superar los 50 años. La raíz tiene características fibrosas y finas que no poseen pelos absorbentes, lo que dificulta la absorción de agua del suelo y a su vez, es susceptible al encharcamiento cuando se encuentra en suelos pesados. Las hojas son simples, pediceladas, de forma elíptica-lanceoladas de 5 cm de longitud y de color verde pálido. Las flores son axilares que se encuentran en racimos de 6 a 10 en cada yema, son de color rosa y están formadas por 4 a 5 pétalos fusionados.

Por último, el fruto es una baya de 1 a 3 cm de diámetro, pesa de 0.5 a 4 g y posee entre 20 a 100 semillas dentro de su interior dependiendo del tamaño; además al final de la maduración adquiere el tono azul característico de este fruto. La epidermis del arándano está cubierta de secreciones cerosas que lo hacen atractivo y que es una característica relevante a nivel comercial, así como la cicatriz que posee cuando se desprende del pedúnculo (García, Gonzáles y Ciordia, 2018).



Figura 1. A) Planta de *Vaccinium corymbosum* B) Hojas C) Raíz y D) Frutos (García, Gonzáles y Ciordia, 2018)

2.1.4 Producción nacional

De acuerdo al MINAGRI (2016) en la ciudad de Arequipa el año 2008 se realizó la primera plantación de arándanos donde se inició con 10 ha y 100000 plantas. Luego se empezó a plantar numerosas hectáreas de arándanos hasta llegar a 2500 hectáreas en el 2015, teniendo un crecimiento de 60% de áreas sembradas. En la región La Libertad se produce el 90% del total producido y exportado del país, luego les sigue Ancash, Arequipa, Cajamarca, Ica, Lima y Lambayeque (Figura 2). En el año 2015 se tuvo una producción de 10300 toneladas, esto refleja a un aumento de áreas sembradas para la producción.



Figura 2. Zonas potenciales de producción de arándanos (MINAGRI, 2016)

2.1.5 Exportación

En el año 2010 se realizó la primera exportación de arándanos con un volumen de 6.4 toneladas, después de 3 años la exportación crece a 1489 toneladas con una valorización de US\$ 16.3 millones y en el año en 2015 se produce un gran aumento de 289%, es decir 10210 toneladas y un valor de US\$ 95.8 millones con respecto al año 2014 (MINAGRI, 2016).

El MINAGRI (2016) agrega que los principales mercados se han ido diversificando cada año, en el año 2010 se tenían 5 mercados y en el año 2015 aumentó a 20 mercados que se encuentran ubicados en el Hemisferio Norte donde el Perú abastece cuando éstos mercados no cuentan con producción local. Estados Unidos y la Unión Europea demandan un 97% de mercados (Tabla 3), con respecto a la Unión Europea las exportaciones se concentran principalmente en Holanda e Inglaterra, siendo los demás países España, Alemania, Francia, Bélgica, Italia y Dinamarca.

Tabla 2. Exportación de arándanos a la Unión Europea (MINAGRI, 2016)

Año	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Total UE	-	2.1	4.0	41.2	570.6	970.9	4399.6
Holanda	0.0	0.3	2.0	18.1	332.9	639.1	2890.4
Inglaterra	0.0	0.3	-	14.9	157.4	265.6	1397.6
España	0.0	0.0	0.0	0.0	32.4	40.6	53.6
Alemania	0.0	0.0	0.0	0.5	1.8	10.0	17.5
Francia	0.0	0.0	0.2	-	0.7	3.8	15.0
Bélgica	0.0	1.5	1.8	7.6	43.8	11.0	13.8
Italia	0.0	0.0	0.0	0.0	1.7	0.6	11.3
Dinamarca	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4

2.1.6 Composición nutricional

Pino (2007) menciona que el arándano se caracteriza por su bajo aporte calórico, contenido de fibra, alto aporte de potasio y excelente fuente de vitamina A y C (Tabla 2). Además, tiene muchos beneficios en la salud debido a su capacidad antioxidante ya que se puede encontrar en este fruto betacaroteno, vitamina C, antocianinas que son responsables del color azul oscuro del arándano (25-495 mg de cianidina -3- glucósido/100 g), ácido eleágico, ácido fólico y fenoles (171-868/100 g).

Jimenez (2014) añade que el contenido de calorías que poseen los arándanos es de 80 calorías/100 g, debido a que son bajos en grasas y libres de colesterol. Además, son buena fuente de fibra alimentaria, tienen una fuente potencial de pectina y un alto contenido de agua, en consecuencia, tienen propiedades antibióticas y disminuyen enfermedades coronarias y cerebro vasculares.

Tabla 3. Contenido de nutrientes por cada 100 g de arándano (Jimenez, 2014)

Componente	Cantidad
Agua (%)	87.8
Carbohidratos (%)	6.1
Fibras (%)	4.9
Proteínas (%)	0.6
Grasas (%)	0.6
Azúcares totales (%)	6.1
Acidez titulable (%)	0.3-0.8
Tiamina (mg)	0.02
Riboflavina (mg)	0.02
Niacina (mg)	0.09
Vitamina B6 (mg)	0.06
Vitamina C (mg)	22
Vitamina A (µg)	5.7

2.1.7 Características fisicoquímicas

El arándano se encuentra en un rango de 10-15°Brix, y posee un pH de 2.85 a 3.49 (Belitz et al., 2009). Además, Barrios de Leon (2007) señala que el peso del arándano oscila entre 0.8 a 3.4g, ya que depende de las condiciones de cosecha que son la fertilización de los arbustos y la reserva de carbohidratos. Los sólidos solubles de este fruto tienen como principales compuestos a la glucosa, fructosa y sacarosa y el rango de acidez se encuentra entre 0.40 y 1.31% donde los ácidos predominantes en el arándano es el ácido cítrico y ácido málico.

2.1.8 Factores que afectan la calidad de los arándanos

a) Temperatura y humedad relativa

Defilippi et al. (2013) expone que la temperatura es un factor muy importante que debe ser controlado desde la cosecha hasta el empaquetado, este factor está relacionado directamente con el metabolismo de la fruta ya que después de la cosecha la fruta se encuentra a temperatura ambiente y la tasa de respiración se incrementa. Al momento del empaquetado es necesario tener sistemas para lograr reducir la temperatura entre 0 y 1°C, uno de los tratamientos puede ser el

enfriamiento por aire forzado donde los arándanos enfriados a 1.5°C durante 2 horas presentaron un bajo nivel de pudrición después del almacenamiento. Por otro lado, los arándanos son altamente susceptibles a la pérdida de agua, por lo que se produce “arrugamientos” en la fruta y por ello es recomendado aumentar la humedad relativa a 95% a 0°C para reducir la pérdida de agua (Figura 3).

b) Incidencia de pudriciones

La incidencia de pudriciones, según Defilippi et al. (2013) es uno de los principales problemas de los arándanos que son atacados frecuentemente por *Botrytis cinérea*, *Colletotrichum sp.* y *Rhizopus spp.*, siendo el principal problema la *Botrytis cinérea*, que está asociado a un mal manejo de control de temperatura y la falta de higiene en la cosecha y el embalaje. Además, se argumenta que la presencia del etileno durante el almacenamiento ayuda al crecimiento de bortritis y que el uso de atmósferas modificadas, atmósferas controladas y fungicidas pueden reducir su nivel de incidencia.



Figura 3. Defectos en arándanos: A) Deshidratación B) Exhudación de jugo C) Pudrición u hongos D) Daño mecánico (Chilean Blueberry Committee, 2015)

2.2 Recubrimientos comestibles

2.2.1 Generalidades

Los recubrimientos comestibles son definidos por Dahll (2016) como capas delgadas de material comestible aplicadas a la superficie de productos como protectores naturales y como

barrera a la humedad, oxígeno y movimiento de solutos. Además, Jung y Aristippos (2005) señalan que los recubrimientos se producen a partir de biopolímeros comestibles y aditivos alimentarios, estos biopolímeros pueden ser proteínas, polisacáridos o lípidos; posteriormente el recubrimiento es aplicado directamente a la superficie del alimento, por ello son considerados como parte del producto final. Asimismo, mencionan que los recubrimientos se forman mediante fuerzas intermoleculares como los enlaces covalentes, interacciones electrostáticas, hidrófobas o iónicas.

Los recubrimientos comestibles contribuyen a prolongar la vida útil de las frutas mínimamente procesadas reduciendo la humedad, la migración de soluto, el intercambio de gases, la respiración, las tasas de reacción oxidativa y los trastornos fisiológicos; también tienen un gran potencial para transportar ingredientes activos como colorantes, sabores, nutrientes, especias y compuestos antimicrobianos que pueden prolongar la vida útil del producto y reducir el riesgo de crecimiento de patógenos en las superficies de los alimentos (Figura 4) (Rojas, Soliva & Martín, 2009).

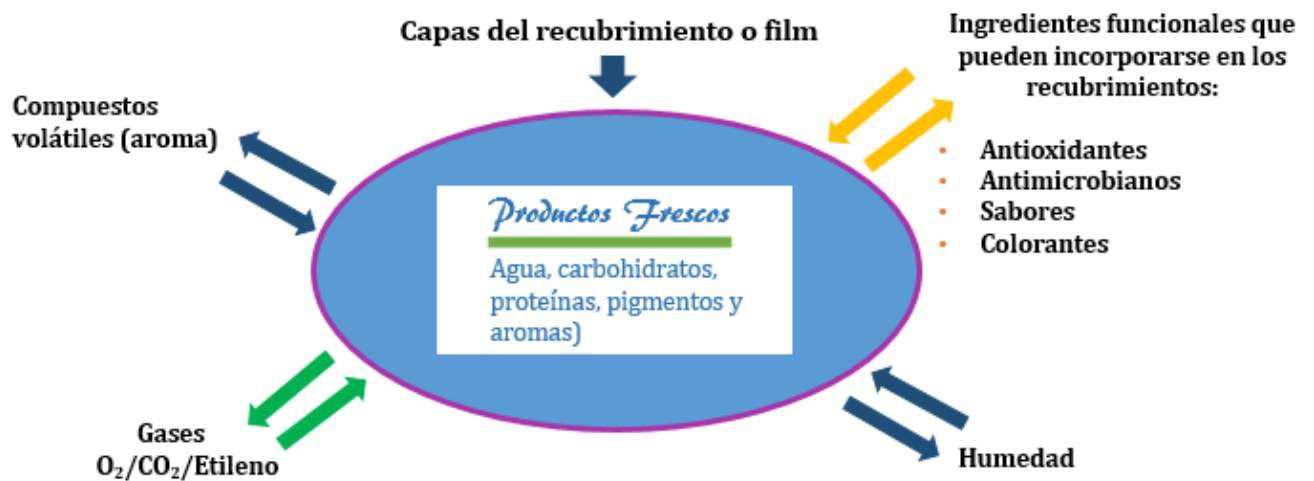


Figura 4. Barreras comestibles (Rojas et al., 2009)

2.2.2 Ventajas y desventajas

Dahll (2016) señala que las ventajas de los revestimientos comestibles son:

- Mejora la apariencia externa dando brillo adicional a la superficie.
- Reduce la pérdida de peso y mantiene la fruta firme, para que se mantenga su aspecto fresco.
- Reduce la tasa de respiración y la producción de etileno, lo que retrasa la senescencia.
- Evita las frutas y verduras contra las lesiones por frío y los trastornos de almacenamiento.
- Actúa como barrera para el intercambio de gases
- Encapsula los compuestos de aroma, antioxidantes, pigmentos y las sustancias nutricionales como las vitaminas.
- Reduce el uso de empaques sintéticos.

Sin embargo, Vásquez y Guerrero (2013) señalan que los recubrimientos presentan ciertas desventajas que pueden afectar las propiedades sensoriales de la fruta. De acuerdo a Dahll (2016) estas desventajas son:

- Implicaciones sensoriales cuando se forma acetaldehído y etanol que dan lugar a la fermentación y a un sabor desagradable.
- Sabor amargo o astringente.
- Cambio de color y pérdida de firmeza.
- Cambio de sabor y color en el uso de agentes antimicrobianos.
- Reacciones alérgicas por el uso de ingredientes alérgenos como la leche, soja, pescado, cacahuates, nueces y trigo.

2.2.3 Composición

2.2.3.1 Materiales formadores

Jung y Aristippos (2005) indican que los principales materiales formadores de películas son biopolímeros como proteínas, polisacáridos, lípidos y resinas; éstos pueden ser usados solos o en combinaciones. El tipo de biopolímero que se utiliza en un recubrimiento depende de las características físicas y químicas, ya que tienen una gran influencia en las propiedades de las películas y recubrimientos resultantes. Además, Dahll (2016) agrega que durante la fabricación los materiales deben dispersarse y disolverse en un solvente como agua, alcohol, mezcla de alcohol y agua, o mezcla de otros solventes; también se puede agregar plastificantes, agentes antimicrobianos, vitaminas, minerales, sabores o colores.

Las proteínas son materiales formadores que se usan comúnmente debido a que en comparación con otros materiales tiene características distintivas como la desnaturalización conformacional, las cargas electrostáticas y la naturaleza anfífilica; los materiales proteínicos se derivan de fuentes animales y vegetales e incluyen almidón, gomas, carbohidratos sin almidón y fibras (Jung y Aristippos, 2005).

Dahll (2016) añade que el alginato es un material que también se puede usar para preparar recubrimientos comestibles, estos alginatos son las sales del ácido algínico, que es un copolímero lineal de monómeros de ácido D-manurónico y L-gulurónico. La formación del revestimiento de alginato se basa en la capacidad de los alginatos para reaccionar con cationes divalentes y trivalentes, como calcio, hierro o magnesio, que se agregan como agentes gelificantes.

Por otro lado, Jung y Aristippos (2005) agregan que los lípidos y las resinas también se usan como materiales formadores, pero no son polímeros, sin embargo, son biomateriales comestibles, biodegradables y cohesivos; además debido a su naturaleza hidrofóbica, las películas o revestimientos hechos de materiales formadores de película de lípidos tienen una resistencia al agua muy alta y baja energía superficial. Los lípidos se pueden combinar con otros materiales

formadores de película, como proteínas o polisacáridos, como partículas de emulsión o revestimientos multicapa para aumentar la resistencia a la penetración del agua. Es decir, Jung y Aristippos (2005) recomiendan que diversos biopolímeros pueden mezclarse para formar una película con propiedades únicas que combinan los atributos más deseables de cada componente (Tabla 4).

Tabla 4. Materiales usados para recubrimientos y películas comestibles (Jung y Aristippos, 2005)

Composiciones funcionales	Materiales
Materiales formadores de películas	<p>Proteínas: colágeno, gelatina, caseína, proteína de suero, zeína de maíz, gluten de trigo, proteína de soja, proteína de clara de huevo, proteína miofibrilar de pescado, proteína de sorgo, proteína de guisante, salvado de arroz, proteína de semilla de algodón, proteína de maní, queratina.</p> <p>Polisacáridos: almidón, almidón modificado, celulosa modificada (CMC, MC, HPC, HPMC), alginato, carragenano, pectina, pululano, quitosano, goma gellan, goma de xantano.</p>
Plastificantes	<p>Lípidos: ceras (cera de abejas, parafina, cera de carnauba, cera de candelilla, cera de salvado de arroz), resinas (goma laca, terpeno), acetoglicéridos.</p>
Aditivos funcionales	<p>Glicerina, propilenglicol, sorbitol, sacarosa, polietilenglicol, jarabe de maíz, agua.</p>
Otros aditivos	<p>Antioxidantes, antimicrobianos, nutrientes, nutraceúticos, productos farmacéuticos, sabores, colores.</p> <p>Emulsionantes (lecitina, Tweens, Spans), emulsiones de lípidos (ceras comestibles, ácidos grasos)</p> <p>CMC, carboximetilcelulosa; MC, metilcelulosa; HPC, hidroxipropil celulosa; HPMC, hidroxipropil metilelulosa</p>

2.2.3.2 Plastificantes

Jung y Aristippos (2005) mencionan que los plastificantes se requieren para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles, especialmente para polisacáridos y proteínas. Los plastificantes son agentes de bajo peso molecular incorporados en los materiales poliméricos

formadores de película, que disminuyen la temperatura de transición vítrea de los polímeros, aumentan el volumen libre de estructuras poliméricas o la movilidad molecular de las moléculas de polímero. Además, agregan que el agua es un plastificante muy bueno, pero se puede perder fácilmente por deshidratación a una humedad relativa baja; por lo tanto, la adición de plastificantes químicos hidrófilos a las películas puede reducir la pérdida de agua a través de la deshidratación, aumentar la cantidad de agua ligada y mantener una alta actividad de agua. Existen dos tipos principales de plastificantes:

- Agentes capaces de formar muchos enlaces de hidrógeno, interactuando así con polímeros al interrumpir la unión polímero-polímero y manteniendo una mayor distancia entre las cadenas de polímero.
- Agentes capaces de interactuar con grandes cantidades de agua para retener más moléculas de agua, lo que resulta en un mayor contenido de humedad y radio hidrodinámico más grande.

2.2.3.3 Aditivos

Las películas y los revestimientos comestibles pueden contener agentes activos, como emulsionantes, antioxidantes, antimicrobianos, nutracéuticos, aromatizantes y colorantes que mejoran la calidad y seguridad de los alimentos, hasta el nivel en que los aditivos interfieren con las propiedades físicas y mecánicas de las películas. Por ejemplo: los emulsionantes son esenciales para la formación de películas de proteínas o polisacáridos que contienen partículas de emulsiones lipídicas, los antioxidantes y los agentes antimicrobianos se pueden incorporar a las soluciones de formación de película para lograr funciones activas de envasado o recubrimiento, y los sabores y colorantes incorporados pueden mejorar el sabor y la percepción visual de la calidad, respectivamente (Jung y Aristippos, 2005).

2.2.3.4 Actividad antimicrobiana de los recubrimientos comestibles

El uso de antimicrobianos en los recubrimientos comestibles se ha ido incrementando debido a que el crecimiento microbiano aumenta en la superficie de los alimentos, siendo ésta la causa principal del deterioro. Los compuestos utilizados como antimicrobianos son las enzimas, agentes quelantes, benzoatos, sorbatos, propionatos y aceites esenciales (Tabla 5).

Tabla 5. Aplicación de recubrimientos comestibles con ingredientes antimicrobianos (Rojas et al., 2009)

Ingredientes funcionales	Cantidad incorporada (%)	Materiales de recubrimiento	Frutas frescas cortadas	Efecto
Antimicrobianos				
Sorbato de potasio	2.2 (p/v)	Almidón	Fresas	Inhibió el crecimiento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras.
Ácido cítrico	No reportado	-	-	-
Limoncillo	1.0-1,5 (v/v)	Alginato, puré de manzanas	Manzanas	Reducción de aerobios psicrófilos nativos, mohos y levaduras.
Orégano	0.1-0.5 (v/v)			Limoncillo (1.0-1.55) y orégano (0.5%) redujo >4 log CFU/g de <i>Listeria innocua</i> inoculada.
Vanilina	0.3-0.6 (v/v)			
Canela	0.7 (v/v)	Alginato	Manzanas	Inhibió la microbiota nativa durante 30 días y redujo > 4 log UFC/g de <i>E. coli</i> O157: H7 en la primera semana de almacenamiento
Clavo	0.7 (v/v)			
Limoncillo	0.7 (v/v)			
Cinamaldehido	0.5 (v/v)	Alginato	Melón	Inhibición de crecimiento microbiano y reducido hasta 3.1 log UFC/g después de 30 días de almacenamiento.
Eugenol	0.5 (v/v)			
Citral	0.5 (v/v)			
Ácido málico	2.5 (v/v)			
Canela	0.7 (v/v)			Redujo el crecimiento de aerobios mesófilos, psicrótrofos, levaduras y mohos y mantuvo el crecimiento de <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella</i> sp. <10 UFC/g
Palamarosa	0.7 (v/v)	Metilcelulosa	Melón	
Limoncillo	0.7 (v/v)			
Quitosano	0.1 – 2.0 (w/v)			

Al elaborar recubrimientos con sustancias antimicrobianas se espera que éstas puedan migrar a la superficie de los alimentos o permanecer retenidas; las migraciones dependen de las interacciones electrostáticas, la ósmosis iónica, cambios estructurales por la presencia de un agente antimicrobiano y las condiciones ambientales. Por otro lado, los agentes antimicrobianos dependen de interacción del polímero y el plastificante para evitar que migre (Ávila y López, 2008).

2.3 Aceites esenciales

2.3.1 Generalidades

Baser & Buchbauer (2010) mencionan que los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles producidos por organismos vivos y aislados por medios físicos (prensado y destilación) de plantas con origen taxonómico conocido. Al mismo tiempo añaden que los compuestos principales de los aceites esenciales se derivan principalmente de tres vías biosintéticas, la vía del mevalonato conduce a sesquiterpenos, la ruta del metil-eritrilo que conduce a mono- y diterpenos, y la ruta del ácido shikímico en ruta hacia los fenilpropenos. Sin embargo, hay un número casi incontable de sustancias únicas y una gran variación en la composición de los aceites esenciales.

Asimismo, los aceites esenciales se han convertido en una parte importante de la vida cotidiana debido a que se utilizan en una gran variedad de formas: como aromatizantes y aditivos de alimentos, como agentes aromatizantes de la industria del cigarrillo, y en la composición de cosméticos y perfumes. Además, se usan en ambientadores y desodorantes, así como en todas las ramas de la medicina, como en farmacia, balneología, masajes y homeopatía (Baser & Buchbauer, 2010).

2.3.2 Actividad antimicrobiana de aceites esenciales

Chouhan, Sharma & Guleria (2017) señalan que, en los últimos tiempos, la comunidad científica ha desarrollado interés por el uso de hierbas medicinales con propiedades antimicrobianas ya que los extractos vegetales y aceites esenciales poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas y

antivirales y se han evaluado a escala mundial como fuentes potenciales de nuevos compuestos antimicrobianos. Además, se ha informado que los aceites esenciales poseen importantes actividades antisépticas, antibacterianas, antivirales, antioxidantes, antiparasitarias, antifúngicas e insecticidas, por lo tanto, los aceites esenciales pueden servir como una herramienta poderosa para reducir la resistencia bacteriana

Los constituyentes principales de los aceites esenciales pueden componer hasta un 85%, mientras que otros componentes están presentes en cantidades pequeñas. El α -felandreno (36%) y limoneno (31%) en aceite de hoja de *Anethum graveolens*, d-limoneno (más del 80%) en aceites de cáscara de cítricos, α -felandreno (36%) y limoneno (31%) en aceite de hoja de *Anethum graveolens*, carvacrol (30%) y timol (27%) en aceite *Origanum compactum*, α / β -tujona (57%) y alcanfor (24%) en aceite de *Artemisia herba-alba*, carvona (58%) y d-limoneno (37 %) en aceite de semilla de *Anethum graveolens*, y mentol (59%) y mentona (19%) en aceite de *Mentha piperita* y el aldehído cinámico y eugenol en aceite esencial de canela (Figura 5) (Chouhan et al., 2017).

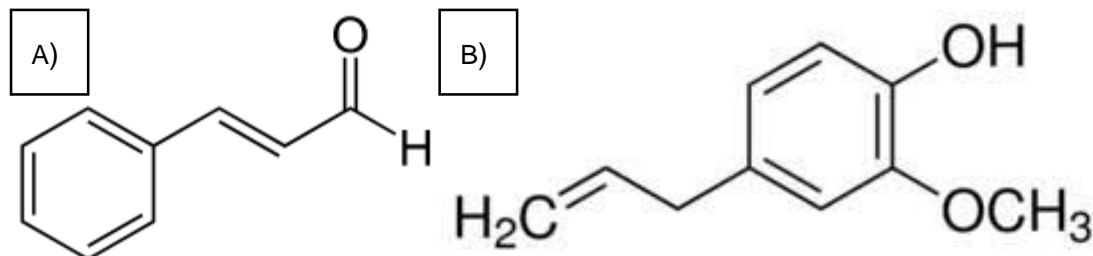


Figura 5. Estructura química del A) cinamaldehído y B) eugenol (Gómez y López, 2009)

Por lo tanto, Chouhan et al. (2017) reportaron diversos ensayos como el del aceite de *Litsea* al 0.0625 % (v/v) que logró prolongar el crecimiento de la fase de latencia de las células de *Escherichia Coli* a aproximadamente 12 h mientras que las células fueron completamente eliminadas al 0.125% (v/v) dentro de las 2 h donde la destrucción de la membrana externa e interna de *Escherichia Coli* podría deberse a la penetración del aceite de *Litsea*. De manera similar, se informó que el aceite esencial de la hoja de *Forsythia koreana* y el aceite esencial de canela actuaron sobre la membrana citoplásmica contra bacterias transmitidas por alimentos y otras

bacterias patógenas, lo que resultó en la pérdida de la integridad de la membrana y un aumento de la permeabilidad (Tabla 7).

El uso del aceite esencial de canela, aldehído cinámico y eugenol contra la *Escherichia Coli* ha sido reportado por Helander et al. (1998) donde hubo desintegración de la membrana celular externa, por otro lado, Moleyar y Narasimhan (1992) reportaron sinergismo entre el eugenol y el aldehído cinámico contra el *Staphylococcus aureus*. En la Tabla 6 se muestra los resultados de la aplicación del eugenol y aldehído cinámico contra estos patógenos usando el método de difusión en Agar.

Tabla 6. Aplicación del extracto de canela en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* O157:H7 (Pastrana, Durango y Acevedo, 2017)

Ingrediente funcional	Concentración	Microorganismo	Zona de inhibición (mm)
Extracto de canela	25 µg/mL	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	9
Extracto de canela	25 µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	0
Extracto de canela	50 µg/mL	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	9
Extracto de canela	50 µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	0
Extracto de canela	100 µg/mL	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	10
Extracto de canela	100 µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	13
Extracto de canela	150 µg/mL	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	15
Extracto de canela	150 µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	15

Tabla 7. Mecanismo de acción de ciertos aceites esenciales contra diferentes microorganismos (Chouhan et al., 2017)

Planta de la cual se deriva el aceite esencial	Microorganismo	Mecanismo de acción
<i>Allium sativum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Fuga inducida
<i>Litsea cubeba</i>	<i>Escherichia coli</i>	Destrucción de la membrana interna y externa
<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	Pérdida de la integridad de la membrana.
<i>Forsythia koreana</i>	Transmitido por alimentos y otras bacterias patógenas	Pérdida de la integridad de la membrana y aumento de la permeabilidad.
<i>Piper nigrum</i>	<i>Escherichia coli</i>	La célula se convierte en picada, se marchita y pierde de material intercelular
<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Cambios en el citoplasma
<i>Cinnamon</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Interrupción de la membrana celular
<i>Dipterocarpus gracilis</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Interrupción de la membrana celular
<i>Ocinum gratissimum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Membrana permeabilizada
<i>Coriaria nepalensis</i>	<i>Candida isolates</i>	Inhibición de la biosíntesis de ergosterol y alteración de la integridad de la membrana
<i>Curcuma longa</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Escherichia coli</i>	Inhibición de la biosíntesis de ergosterol
<i>Origanum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Membrana permeabilizada
<i>Mentha longifolia</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Daño a la pared celular

2.4 Nanoemulsión

2.4.1 Generalidades

Una nanoemulsión es una emulsión cuyo tamaño de gota se encuentra en el rango de 20 a 500 nm, es usado en la industria y ciencia de alimentos como sistemas acarreadores de compuestos bioactivos de naturaleza lipofílica, ya que tienen poco impacto en las propiedades sensoriales de los alimentos y alta biodisponibilidad (Cardoso y Jiménez, 2015).

Mihai (2016) añade que los tipos de emulsión son: aceite-en-agua (O/W) y agua-en-aceite (W/O), estos son determinados por las fases de agua o aceite que actúan como una fase continua o dispersada. Las nanoemulsiones son estables cinéticamente, pero inestables termodinámicamente, son de apariencia transparente o traslúcida dependiendo del tamaño de partícula.

Además, el uso de las nanoemulsiones ha ido aumentando en la industria alimentaria, debido a las diversas ventajas que presenta su uso, como la mayor estabilidad de las gotas ante la agregación y separación gravitacional y también la liberación del compuesto protegido en el sitio específico. En los últimos años se han reportado diversos estudios donde se integraron compuestos bioactivos lipídicos en los alimentos para aprovechar sus propiedades como colorantes, antioxidantes, saborizantes, antimicrobianos, etc. (Cardoso y Jiménez, 2015).

2.4.2 Formulación de nanoemulsiones

Mihai (2016) menciona que la formulación básica de una nanoemulsión consiste en tres partes:

- Fase oleosa: en esta fase que es insoluble en agua se usan sustancias como aceites esenciales, aceite de soya, aceite pescado, grasas alimenticias, entre otros.
- Fase acuosa: es la fase dispersante que se encuentra en mayor cantidad en la emulsión.
- Emulsificante o surfactante: es una sustancia que posee doble afinidad porque posee una parte apolar y una no-polar, en la parte polar se encuentran átomos como el S, P,

N y O que están dentro de grupos fosfatos, sulfatos, alcohol, cetona, éter, etc. Por otro lado, el grupo apolar está formado por cadenas hidrocarbonadas, siliconadas y de perfluorocarburo.

Los ingredientes comunes utilizados para la formulación se encuentran en la Tabla 8.

Tabla 8. Ingredientes comunes usados en nanoemulsiones alimenticias (Mihai, 2016)

Componentes	Ejemplos
Aceites	Aceite de soya, aceite de girasol, aceite de maíz, aceite de pescado, aceite de ricino, aceite de coco, aceite mineral, aceite de oliva, aceite de albahaca, aceites esenciales.
Emulsificantes	Dodecil sulfato de sodio, monooleato de sorbitan, fosfolípidos, polisorbatos, Tween 20-80, Span 20-80, proteína de suero de leche, proteína de soya, caseína.
Cotensioactivos	Etanol, glicerina, PEG400, polieno glicol, propilen glicol y sorbitol.
Cosolventes	Dimetilsulfóxido, etanol, glicerol, propilen glicol, N-metil pirrolidona
Ingredientes funcionales	Carotenoides, curcumina, fitosteroles, coenzima O, astaxantina, Omega-3 ácidos grasos, vitamina E.
Retardante de madurez	Triglicéridos de cadena larga, aceite mineral, goma de éster.

2.4.3 Métodos de fabricación de nanoemulsiones

Para la formación de nanoemulsiones es necesario el uso de la energía, esta ha sido clasificada en dos grupos: los métodos que emplean baja cantidad de energía y los que usan alta cantidad de energía (Cardoso y Jiménez, 2015).

2.4.3.1 Procesos de baja energía

Estos procesos se basan en alterar las condiciones del entorno para poder formar gotas dentro de sistemas de agua-aceite-emulgente, donde los procesos más utilizados son: emulsión espontánea (Figura 6), proceso de autoensamble, emulsiones por membrana y desplazamiento por solvente (Cardoso y Jiménez, 2015).

De acuerdo a Cardoso y Jiménez (2015) la formación espontánea de emulsiones es el proceso más eficiente y tiene un menor costo comparado a los procesos de alta energía, ya que en este proceso es aprovechada la energía que se encuentra almacenada en el sistema para formar las emulsiones. Este proceso tiene una variante llamada inversión catastrófica de fases donde se aplica la agitación constante para mantener estable la emulsión, en esta técnica es recomendable controlar la proporción aceite-emulgente y la velocidad a la que se agrega.

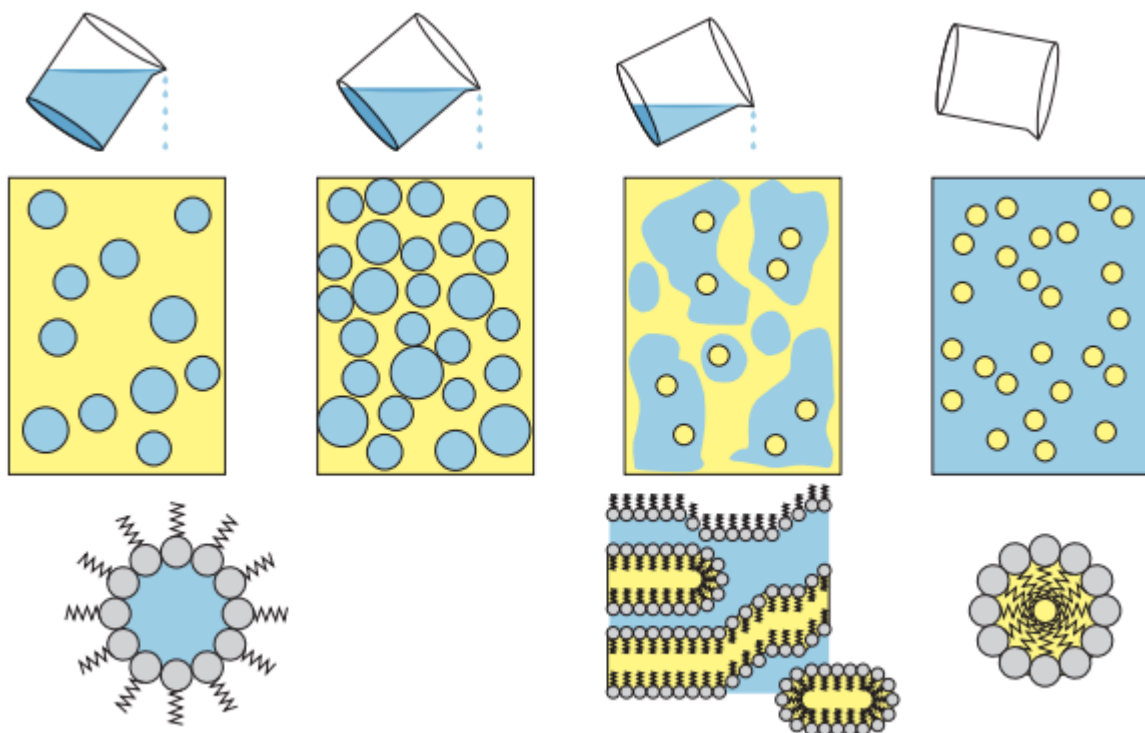


Figura 6. Proceso de emulsificación por formación espontánea (Cardoso y Jiménez, 2015)

2.4.3.2 Procesos de alta energía

Mihai (2016) menciona que los procesos de alta energía consisten en aplicar una alta cantidad de energía que permite al sistema mantener su estabilidad a pesar de que se modifique su composición, estos dependen de diferentes dispositivos mecánicos, como el homogeneizador de alta velocidad, los homogeneizadores de alta presión, los microfluidizadores, que podrían proporcionar una energía intensiva para interrumpir el aceite y el agua y producir gotas finas.

Por ejemplo, la homogeneización a alta presión hace que la mezcla de emulsión primero sufra altas presiones y luego pase una válvula controlada, esto impide que las gotas se rompan y forma gotitas finas esto depende de las composiciones de emulsión y los parámetros de homogeneización a alta presión, que incluyen presión, temperatura y ciclo, afectan directamente las propiedades de las nanoemulsiones formadas (Mihai, 2016).

Por otro lado, en el microfluidizador se usa una bomba de desplazamiento de alta presión en el dispositivo para forzar al producto a través de la cámara de interacción que compone muchos canales pequeños llamados microcanal. Se ha considerado que es un proceso simple y escalable para la formación de nanoemulsiones y también los investigadores han descubierto que los resultados son similares al del método de homogeneización a alta presión (Mihai, 2016).

En conclusión, Mihai (2016) señala que la formación y las propiedades de las nanoemulsiones dependen de numerosos factores que son: composiciones, condiciones ambientales y técnicas de emulsificación.

2.4.3.3 Nanoemulsión de aceites esenciales

Chouhan et al. (2017) indican que la encapsulación del aceite puede retrasar o incluso prevenir las reacciones de termo oxidación, lo que lleva a una ampliación del rango previsto de enriquecimiento para los productos alimenticios. Debido a que, los aceites esenciales son sustancias volátiles sensibles al oxígeno, la luz, la humedad y el calor la encapsulación es una alternativa ya que es uno de los métodos más eficaces para la formulación de aceites bioactivos y se han desarrollado diversos estudios en este aspecto.

Debido al creciente interés en el uso de aceites esenciales como antimicrobianos naturales y conservantes en la industria alimentaria se ha visto impulsado en los últimos años por la creciente demanda de los consumidores de productos naturales con una seguridad microbiana mejorada y propiedades organolépticas frescas. Por ello, las nanoemulsiones contribuyen al uso de los aceites esenciales en los alimentos al aumentar su dispersabilidad en las áreas de alimentos donde crecen

y proliferan los microorganismos, al reducir el impacto en los atributos de calidad del producto y al mejorar su actividad antimicrobiana (Chouhan et al., 2017).

Asimismo, Chouhan et al. (2017) reportaron un estudio del rendimiento del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* cuando se encapsuló mediante CSNP en condiciones in vitro e in vivo, donde el estudio in vivo mostró que a una concentración de 1.5 g/L los aceites encapsulados disminuyeron significativamente la severidad de la enfermedad, así como la incidencia de *Phytophthora* en pepinos inoculados durante 7 días de almacenamiento a 4°C seguido por 2-3 días más a 20 °C. Además, la vida útil de los pepinos con recubrimiento CEO-CSN se extendió hasta 21 días a 10 ± 1 °C, mientras que la fruta no recubierta no se pudo comercializar en menos de 15 días. Del mismo modo, se reportaron otros estudios donde la actividad antimicrobiana de las nanoemulsiones que contienen aceites esenciales de orégano, tomillo, hierba de limón o mandarina y pectina con alto contenido de metoxilo durante un período de almacenamiento a largo plazo (56 días) contra *E. coli* y *Listeria innocua*.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL) perteneciente a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión (UPeU-Lima).
- Centro de Investigación en Ciencias de Alimentos (CICAL) perteneciente a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión (UPeU-Lima).
- Laboratorio de Microscopía perteneciente a la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión (UPeU-Lima).
- Laboratorio de Microbiología y Parasitología perteneciente a la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión (UPeU-Lima).
- Laboratorio de Ciencias Químicas perteneciente a la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Peruana Unión (UPeU-Lima).

3.2 Materiales e insumos

3.2.1 Materia prima

En el presente estudio se utilizó arándanos frescos, que fueron adquiridos de la empresa local Arándanos del Huerto.

3.2.2 Insumos

- Aceite esencial de canela (Marca: PIPING ROCK)
- Goma arábica (Marca: FRUTAROM)
- Alginato de sodio (Marca: POLIFOOD)
- Almidón de papa (Marca: POLIFOOD)
- Glicerol (Marca: LEHMMAN)
- Caldo tripticasa de soja (Marca: BRITANIA)

- Agar Mueller Hinton (Marca: BECTON DICKINSON)
- Agar tripticasa de soja (Marca: BECTON DICKINSON)
- *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923 (Marca: MICROBIOLOGICS)
- *Escherichia coli* O157:H7 ATCC: 43888 (Marca: MICROBIOLOGICS)

3.2.3 Materiales

- Placas Petri de 10 cm
- Gradillas
- Soporte universal
- Papel filtro
- Asa de siembra
- Mechero bunsen
- Pinza metálica
- Parafilm
- Pipetas de 5mL y 1mL
- Vaso precipitado de 500 mL, 100mL y 50mL
- Tubos de ensayo
- Papel aluminio
- Pabilo
- Pipeteador
- Cucharillas
- Matraz de Erlenmeyer de 125 mL
- Tecnopor 20x20cm
- Bureta
- Mortero

- Papel toalla
- Papel kraft
- Hisopos estériles
- Bandejas clamshells de 250g

3.2.3 Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de bario (BaCl_2) 1.175% (Marca: MOVILAB)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1% (Marca: FERMONT)
- Fenolftaleína ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$)
- Hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N

3.2.5 Equipos

- Balanza analítica (Marca: PIONEER, Modelo: Item PA313, Capacidad: 310 g)
- Baño María (Marca: MEMMERT, Modelo: WNW 10)
- Espectrofotómetro (Marca: MOD-UV 721)
- Conductímetro (Marca: HANNA)
- Estufa (Marca: MEMMERT, Modelo: UN200)
- Agitador vortex punzante (Marca: SPEED KNOB)
- Pie de rey (Marca: TRUPER)
- Incubadora (Marca: INCUSELL)
- Ultrasonido (Marca: BRANSON, Modelo: 2800)
- Homogeneizador (Marca: SILVERSON)
- Refrigeradora (Marca: DAEWOO)
- Colorímetro (Marca: Shenzben 3nh – CQCS3, China) (Modelo: NR200, Serie: 2002260)
- Brixómetro (Marca: HANNA)

- Potenciómetro portátil (Marca: HANNA, Modelo: MI2020)
- Termómetro digital (-50°C a +300°C)
- Agitador de paleta (Marca: STAUFEN)
- Termoagitador magnético (Marca: THERMOLYNE "Nuova", SPI 8420-26)
- Microscopio (Marca: PRIMO STAR)
- Autoclave (Marca: JP SELECTA)
- Aqualab (Marca: DECAGON DEVICES, modelo 3TE, Canadá)
- Horno de esterilización en seco (Marca: HV OVENS)

3.3 Metodología Experimental

3.3.1 Obtención de la nanoemulsión de aceite esencial de canela

La nanoemulsión del aceite esencial de canela se realizó por el método propuesto por Tutku, Halil y Soyer (2017) donde se utilizaron procesos de alta energía, se prepararon 8 tratamientos de emulsiones variando la cantidad de aceite esencial de canela y goma arábiga, cuyas formulaciones se detallan en la Tabla 9. Se agitó el agua destilada (100 mL) con la goma arábiga (2.5 y 5g) en el homogeneizador por 5 minutos a 5000 rpm, luego se adicionó el aceite esencial de canela (0.3 y 0.5g) por 15 y 30 minutos a 8000 y 10000 rpm. Finalmente se llevó la emulsión al ultrasonido por 30 minutos a 40 y 60 Hz.

Tabla 9. Formulaciones utilizadas para la nanoemulsión

Emulsión	AEC (g)	Tiempo (min)	Velocidad (rpm)	Goma arábiga (g)	Ultrasonido (Hz)
1	0.3	15	8000	2.5	40
2	0.3	15	8000	5	60
3	0.3	30	10000	2.5	40
4	0.3	30	10000	5	60
5	0.5	15	8000	2.5	60
6	0.5	15	8000	5	40
7	0.5	30	10000	2.5	60
8	0.5	30	10000	5	40

3.3.2 Caracterización de la nanoemulsión de aceite esencial de canela

a) Diámetro de gota

Se realizó la medición del diámetro de gotas mediante un microscopio PRIMO STAR, para luego mediante el software ImageJ medir el diámetro de 50 gotas de cada nanoemulsión preparada.

b) Actividad de agua (Aw)

Se midió la actividad de agua con un medidor de actividad de agua Aqualab.

c) Sólidos solubles (°Brix)

Se midió los sólidos solubles con un brixómetro HANNA previamente calibrado (AOAC, 932.12).

d) Conductividad ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

La conductividad fue medida con un conductímetro HANNA donde el electrodo previamente calibrado se introdujo en la parte inferior, superior y centro para tomar las lecturas de la emulsión a temperatura ambiente (Reyes y Di Scipio, 2012).

3.3.3 Caracterización de la materia prima

3.3.2.1 Análisis proximal

Se realizaron los análisis proximales del contenido de humedad, proteína total, grasa, fibra cruda, ceniza y carbohidratos, según el método A.O.A.C. (2005).

3.3.2.2 Análisis fisicoquímico

a) Sólidos solubles (°Brix)

Se determinó mediante un brixómetro HANNA previamente calibrado (AOAC, 932.12).

b) Acidez titulable

Se determinó el índice de acidez (AOAC, 942.15), expresado como ácido cítrico por titulación con NaOH al 0.1 N.

c) pH

Se determinó el pH con un potenciómetro (AOAC, 981.12)

d) Actividad de agua (Aw)

Se midió con un medidor de actividad de agua Aqualab.

e) Colorimetría (CieL*a*b*)

Se realizó el análisis de color con el colorímetro 3nh, los resultados se expresaron en el sistema CIEL*a*b* (Márquez, Trillo, Cartagena y Cotes, 2009) que son los siguientes:

- L* (Luminosidad)
- a* (variación de rojo a verde)
- b* (variación de amarillo a azul)

3.3.3 Elaboración del recubrimiento comestible

La elaboración de los recubrimientos comestibles se realizó de acuerdo al método de Saborio (2014) donde se utilizó la emulsión de aceite esencial de canela (100 mL), alginato de sodio (0.25, 0.30 y 0.35 g), almidón de papa (2 g) y glicerol (1 g), cuyas formulaciones se detallan en la Tabla 10. Se calentó la emulsión a 70°C en el baño maría para añadir el almidón de papa y el alginato de sodio, luego se añadió el glicerol y se homogenizó por 20 minutos en el agitador de paleta. Finalmente se dejó enfriar hasta llegar a temperatura ambiente.

Tabla 10. Formulaciones utilizadas para el recubrimiento comestible

Recubrimiento	Alginato de sodio (g)	Temperatura de secado (°C)
1	0.25	25
2	0.25	30
3	0.25	35
4	0.30	25
5	0.30	30
6	0.30	35
7	0.35	25
8	0.35	30
9	0.35	35
10	0.30	30

3.3.4 Aplicación del recubrimiento comestible

El recubrimiento comestible se aplicó de acuerdo al método de Pérez et al. (2016) como se observa en la Figura 7 y a continuación se describe cada una de las etapas.

a) Recepción

Se recibieron los arándanos de la variedad *Vaccinium corymbosum* L. procedentes de la empresa local "Arándanos del Huerto".

b) Selección

Se seleccionaron los arándanos de manera visual de la siguiente manera: aspecto fresco, libres de golpes, libres de materiales extraños, libres de insectos, libres de olores extraños, uniformes de tamaño, forma esférica, consistencia firme y piel brillante.

c) Lavado y desinfección

Se lavaron los arándanos con agua de caño para quitar las impurezas presentes en la fruta, luego se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio (50 ppm) por 5 minutos y finalmente se realizó un enjuague para quitar el excedente de la solución.

d) Secado

Se realizó el secado a temperatura ambiente por 60 minutos para eliminar el agua excedente de la fruta.

e) Inmersión

Se sumergieron los arándanos enteros durante 30 segundos en el recubrimiento comestible y para los frutos control se sumergieron en agua destilada, donde se utilizaron mondadientes para facilitar la inmersión.

f) Escurrido y secado

Se escurrió el exceso de recubrimiento comestible por 15 minutos con ayuda de un mondadiente colocado en cada arándano, que luego fue colocado en una plancha de tecnopor de 20x20 cm forrada con aluminio y finalmente fue llevada a la estufa para ser secada a 25, 30 y 35°C.

g) Envasado y conservación

Se realizó el envasado en bandejas de polietileno tereftalato (PET) de 250g y se almacenaron a temperatura ambiente para luego ser evaluados los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15.

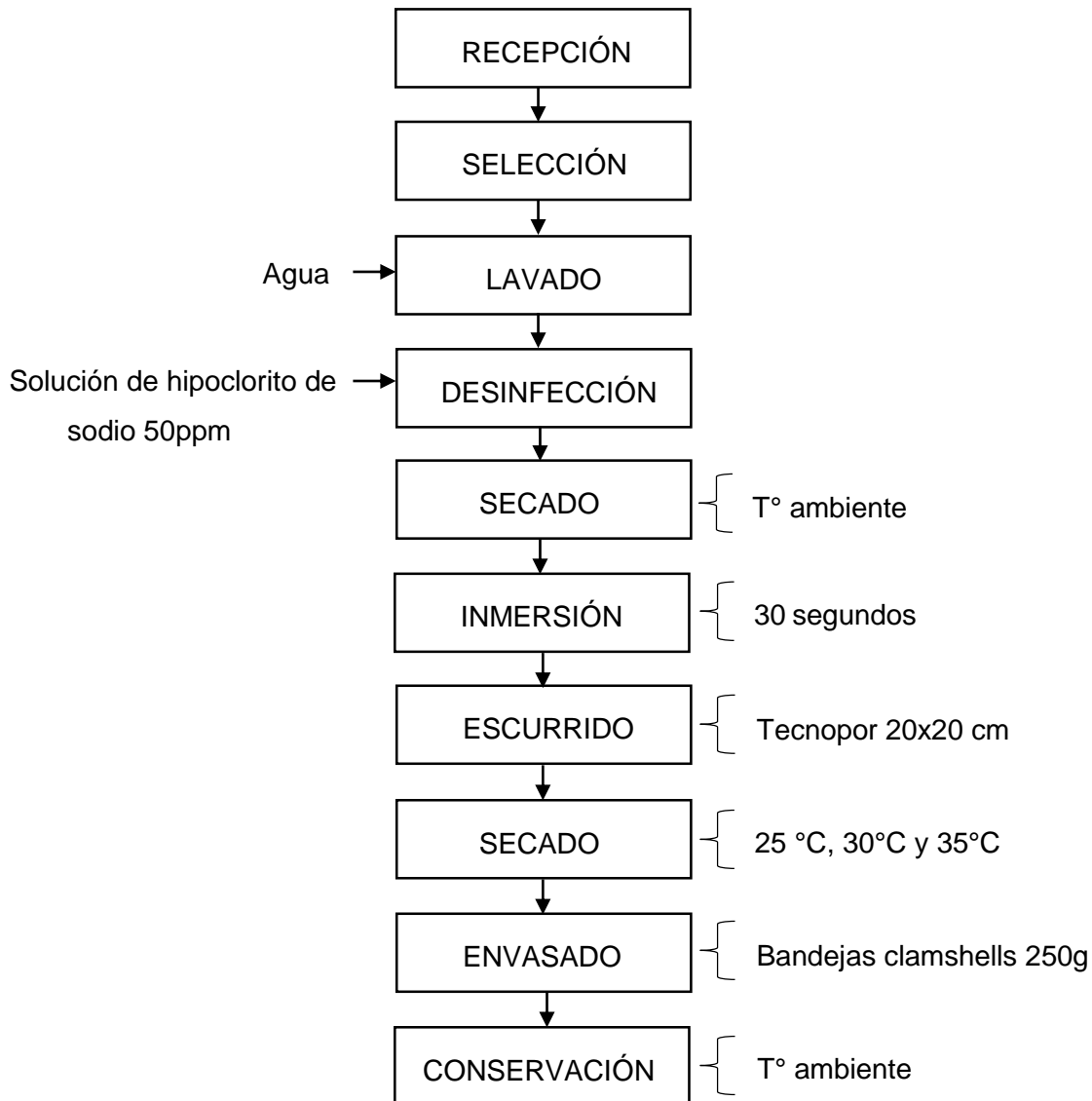


Figura 7. Aplicación del recubrimiento comestible

3.3.5 Actividad antimicrobiana del recubrimiento

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana se utilizaron cepas de *Escherichia Coli* O157:H7 (ATCC 43888) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) empleando el método de difusión en agar propuesto por Hernández, Gonzáles, Gutiérrez, Muñoz y Quintero (2011).

Para llevar a cabo este método primero se hidrataron las cepas bacterianas (Anexo 4) y se preparó el patrón de McFarland a una concentración de 1×10^8 UFC/mL (Anexo 5) para luego inocular las suspensiones bacterianas con un hisopo estéril a las placas Petri con agar Mueller Hinton previamente preparado por AREZ E.I.R.L. (Figura 8). Luego, con una pinza estéril se colocaron los arándanos recién recubiertos en el centro de la superficie del agar inoculado, asegurando el contacto con el agar. Finalmente, se incubaron a 37°C por 24 horas y se utilizaron arándanos control (sin recubrimiento).

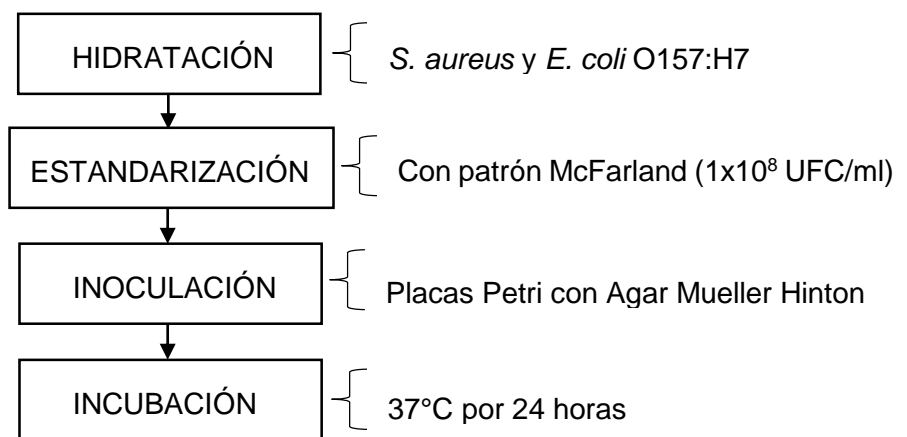


Figura 8. Evaluación de actividad antimicrobiana del recubrimiento

3.4 Diseño experimental

3.4.1 Diseño estadístico

a) Elaboración de la nanoemulsión del aceite esencial de canela

Para evaluar la influencia de los parámetros en la obtención de la nanoemulsión del aceite esencial de canela, se empleó un arreglo ortogonal Taguchi L8 (2^5) que consistió en 8 tratamientos (Tabla 11). Los efectos de las variables independientes fueron el diámetro de gotas, sólidos solubles ($^\circ\text{Brix}$), actividad de agua y conductividad ($\mu\text{S/cm}$) que son mostrados en la Tabla 12.

Tabla 11. Parámetros y niveles del diseño ortogonal Taguchi L8 (2⁵)

Variables	-1	+1
Goma arábica (g)	2.5	5
Agitación (rpm)	8000	10000
Aceite esencial de canela (g)	0.3	0.5
Tiempo (min)	15	30
Ultrasonido (KHz)	40	60

Tabla 12. Diseño ortogonal Taguchi L8 para variables independientes y dependientes

Ensayos	Variables independientes										Variables dependientes			
	Codificados					No codificados					°B	Aw	C	T
	X₁	X₂	X₃	X₄	X₅	AE (g)	T(min)	A(rpm)	GA(g)	U(KHz)				
1	-1	-1	-1	-1	-1	0.3	15	8000	2.5	40	-	-	-	-
2	-1	-1	-1	+1	+1	0.3	15	8000	5	60	-	-	-	-
3	-1	+1	+1	-1	-1	0.3	30	10000	2.5	40	-	-	-	-
4	-1	+1	+1	+1	+1	0.3	30	10000	5	60	-	-	-	-
5	+1	-1	-1	-1	+1	0.5	15	8000	2.5	60	-	-	-	-
6	+1	-1	-1	+1	-1	0.5	15	8000	5	40	-	-	-	-
7	+1	+1	+1	-1	+1	0.5	30	10000	2.5	60	-	-	-	-
8	+1	+1	+1	+1	-1	0.5	30	10000	5	40	-	-	-	-

b) Aplicación del recubrimiento comestible

Para la aplicación del recubrimiento comestible se empleó el Diseño Factorial 3^2 con punto central, que consistió en 10 tratamientos. Los efectos de las variables independientes fueron: °Brix, actividad de agua, pH, acidez titulable, parámetros de color ($CieLa^*b^*$) e inhibición de cepas. Los niveles de las variables dependientes codificada y no codificada son mostrados en la Tabla 14.

Tabla 13. Parámetros y niveles del diseño factorial 3^2

Variables	-1	0	+1
Alginato de sodio (g)	0.25	0.3	0.35
Temperatura de secado (°C)	25	30	35

Tabla 14. Diseño factorial 3^2 para variables dependientes e independientes

Ensayos	Variables independientes				Variables dependientes								
	Codificados		No codificados		°Brix	Aw	pH	Acidez	L*	a*	b*	SA	EC
	X ₁	X ₂	Alginato (g)	T(°C)									
1	-1	-1	0.25	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-1	0	0.25	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-1	+1	0.25	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0	-1	0.30	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0	0	0.30	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0	+1	0.30	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+1	-1	0.35	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+1	0	0.35	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+1	+1	0.35	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0	0	0.30	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Los experimentos fueron realizados en orden aleatorio y el tratamiento de los datos se realizó por análisis de varianza (ANOVA) para comparar el efecto de los tratamientos en la aplicación del recubrimiento comestible con relación a las variables dependientes.

3.4.2 Análisis estadístico

a) Elaboración de la emulsión de aceite esencial de canela

Para el diseño ortogonal Taguchi L4 (2^5) se analizaron los resultados en el software MINITAB versión 17, donde se determinó el análisis de varianza ($p \leq 0.05$) a un intervalo de confianza de 95% y gráfica de efecto principal empleando la función “mínimo es mejor” para el tamaño de gota y la actividad de agua, y la función “máximo es mejor” para los °Brix y la conductividad.

b) Aplicación del recubrimiento comestible

Para el diseño factorial 3^2 completo, se analizaron los resultados en el software STATISTICA versión 7.1, donde se generó el análisis de varianza para establecer los factores significativos sobre cada variable dependiente (°Brix, actividad de agua, pH, acidez titulable, parámetros de color ($CieLa^*b^*$) e inhibición de cepas) obteniendo los valores de los grados de libertad, suma de cuadrados, media de cuadrado, y el p-valor a un intervalo de confianza de 95% ($p \leq 0.05$), además se generaron gráficos de superficie de respuesta, de contorno, diagrama de Pareto y estimación de efectos, que muestran la relación entre la respuesta y los niveles de cada variable independiente.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización de la nanoemulsión del aceite esencial de canela

Se analizaron los resultados obtenidos de la aplicación del diseño ortogonal Taguchi L8 en la elaboración de la nanoemulsión de aceite esencial de canela, teniendo como variables independientes a la goma arábica, el tiempo, la velocidad, el aceite esencial de canela y el ultrasonido. Al realizar el análisis de varianza se observó que la cantidad añadida de goma arábica influyó en la conductividad y los °Brix, sin embargo, el tiempo, la velocidad, el aceite esencial de canela y el ultrasonido no influyó como se muestra en la Tabla 15. Por otro lado, el tiempo de homogenización influyó en el diámetro de gota de la emulsión y para la actividad de agua ningún factor influyó en los resultados.

En la Figura 9 se observa que la conductividad a 5 % de goma arábica es mayor que a 2.5 % de goma arábica, además se observa que una mayor actividad de agua se presenta a 0.5% de aceite esencial de canela (Figura 10), se presentan valores más altos de °Brix a 5 % de goma arábica (Figura 11) y el diámetro de gota es menor a un tiempo de 30 minutos de homogeneización (Figura 12), similar al análisis de varianza.

Tabla 15. Análisis de varianza de la nanoemulsión del aceite esencial

Efecto	Conductividad	Actividad de	°Brix	Diámetro de
	($\mu\text{S/cm}$)	agua		gota (nm)
	P-valor	P-valor	P-valor	P-valor
(1) Aceite esencial de canela	0.891	0.062	0.719	0.940
(2) Tiempo	0.676	0.793	0.781	0.029
(3) Velocidad	0.949	0.735	0.974	0.718
(4) Goma arábica	0.000	0.970	0.000	0.611
(5) Ultrasonido	0.953	0.289	0.896	0.363

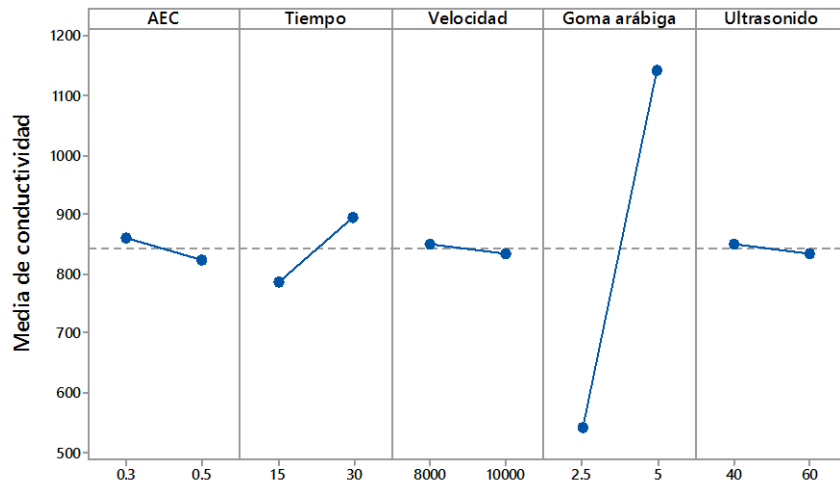


Figura 9. Gráfica de efecto principal para la conductividad

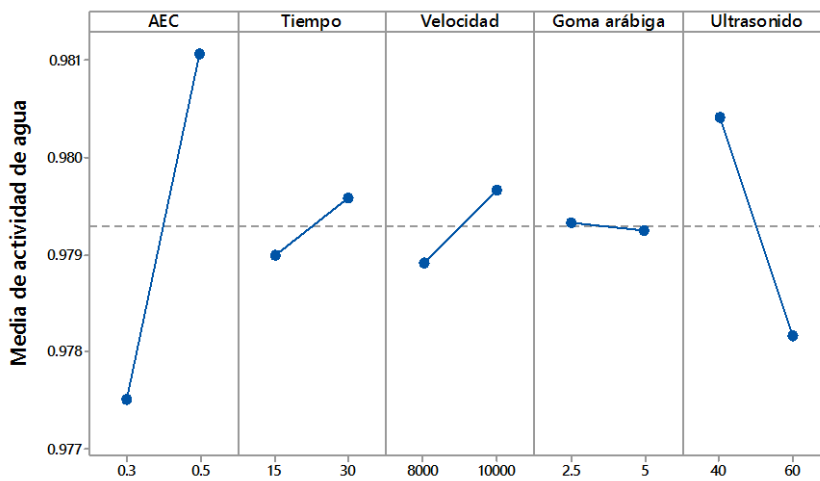


Figura 10. Gráfica de efecto principal para la actividad de agua

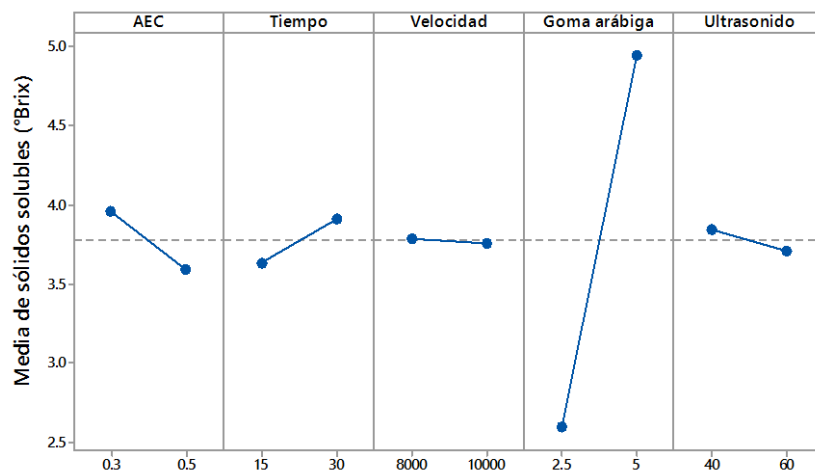


Figura 11. Gráfica de efecto principal para sólidos solubles (°Brix)

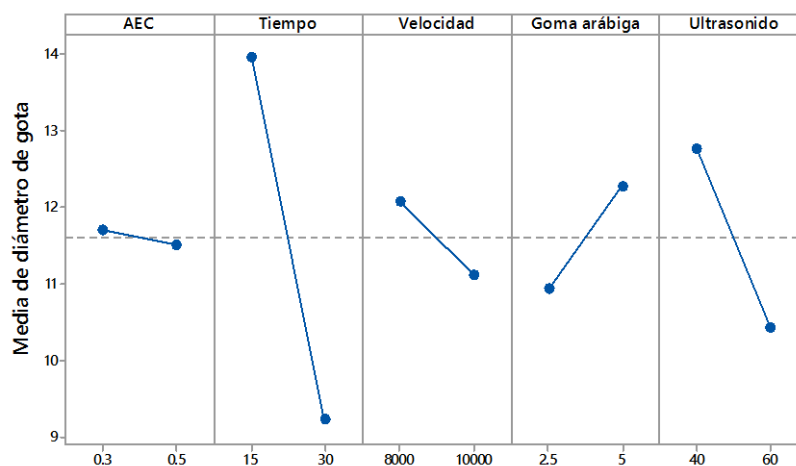


Figura 12. Gráfica de efecto principal para diámetro de gota

4.1.1 Conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$)

Los valores de la conductividad de las emulsiones preparadas se muestran en la Tabla 16, donde el tratamiento 4 el que presentó mayor conductividad. El rango de la conductividad obtenida en las emulsiones se encuentra entre 525.33 y 1204.66 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Reyes y Di Scipio (2012) mencionan que estos resultados dependen de la conductividad de la fase continua, que en este caso fue el agua; además las emulsiones aceite en agua (o/w) son mejores conductoras que las emulsiones agua en aceite (w/o), debido a que la fase continua contiene iones, mientras que la fase lipídica dispersante resulta ser muy mal conductora (Bello, 2000).

En la Figura 13, se observa que la conductividad de las emulsiones presenta un valor alto cuando se incrementa la concentración de la goma arábica, siendo el caso del tratamiento 2, 4, 6 y 8 donde se añadió 5 g de goma arábica a cada uno. Barba, Rodríguez, Guatemala, Arriola y Espinosa (2013) señalan que la goma arábica, obtenida de los árboles de acacia, es una arabinogalactosa que contiene diferentes tipos de proteína, es un polielectrolito con carga negativa, su flexibilidad molecular permite una mejor interacción superficial y posee un valor de HLB entre 8 y 12; además la conductividad se vio influenciada por la cantidad añadida de goma arábica, donde se incrementa la movilidad de las moléculas en la fase acuosa de la emulsión teniendo un valor más alto de conductividad.

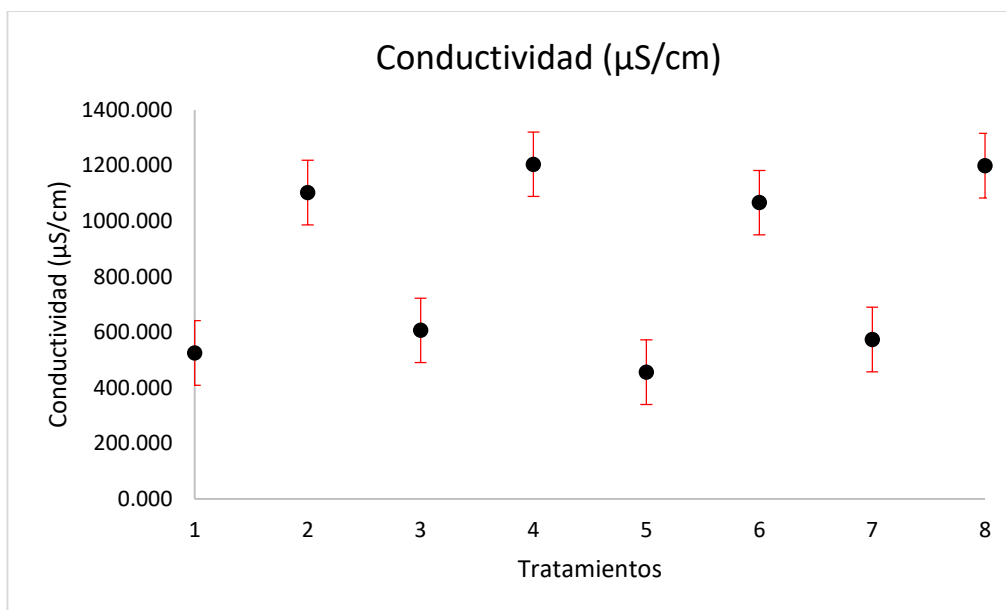


Figura 13. Conductividad de las emulsiones

Ramírez, Baena y Osorio (2019) reportaron resultados de la conductividad que se encuentran entre 74.2 y 202.7 uS/cm, obtenidos de una emulsión aceite en agua (o/w) donde utilizaron goma xantana, propilenglicol, extracto de uchuva, aceite de girasol y Tween 20. Además, mencionan que a mayor proporción de agua ésta permite una mayor movilidad de los iones generando una mayor conductividad y al incrementarse la cantidad de goma xantana en las emulsiones aumenta la conductividad, debido a la movilidad de las moléculas y que también dependen de la cantidad de iones por unidad de volumen. En el caso de la goma xantana, los residuos por los cuales presenta mayor conductividad son: ácidos glucorónico, pirúvico y los contraiones como el Na⁺, Ca²⁺ y Mg²⁺; y en la goma arábiga son el ácido D-glucourónico, ácido 4-o-metilglucourónico, D-galactopiranososa, D-ramnosa, L-arabinofuranosa y los iones como el calcio, magnesio y potasio (Pasquel, 2011).

Flores (2016) formuló una nanoemulsión sometida a agitación mecánica, a base de β-caroteno, aceite de girasol y Tween 20, donde obtuvieron valores entre 32.3 a 36.0 uS/cm, atribuyendo estos resultados a la relación fase oleosa:fase acuosa y a la cantidad incorporada de surfactante (2% Tween 20).

Pérez (2009) señala que la conductividad es un factor importante, ya que proporciona información para identificar si es una emulsión agua en aceite (w/o) o aceite en agua (o/w), además, Gómez (2014) añade que la fracción acuosa contiene electrolitos teniendo una mayor conductividad y la fracción oleosa no conduce electricidad. Por otro lado, Aranberri, Binks, Clint y Fletcher (2006) agregan que una alta conductividad demuestra que la nanoemulsión no presenta una inversión de fases.

Tabla 16. Conductividad ($\mu\text{S/cm}$) de las emulsiones

Tratamiento	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)
1	525.33 \pm 2.08
2	1102.67 \pm 3.51
3	606.66 \pm 4.16
4	1204.66 \pm 5.50
5	456.00 \pm 3.60
6	1066.66 \pm 8.50
7	573.66 \pm 1.52
8	1199.66 \pm 9.45

4.1.2 Sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$)

Los valores de los sólidos solubles de las emulsiones se muestran en la Tabla 17, donde se observa que el tratamiento 4 presenta el mayor contenido de sólidos solubles. Los valores obtenidos se encuentran en un rango entre 2.267 y 5.3 $^{\circ}\text{Brix}$, teniendo a los tratamientos 2, 4, 6 y 8 con los valores más altos de $^{\circ}\text{Brix}$ (Figura 14) donde se agregó 5 g de goma arábica.

Los sólidos solubles en los alimentos son los componentes que son solubles en el agua (Pino, 2007), éste componente sólido en la nanoemulsión es la goma arábica que es agregada como emulsionante.

No se han reportado resultados acerca de sólidos solubles en emulsiones, sin embargo, Muñoz, Alfaro y Zapata (2007) mencionan que los sólidos disponibles en la emulsión se encuentran en la fase externa, que es la fase acuosa donde el agua es el componente mayoritario y donde se incorporan muchas sustancias, dentro de ellas las sustancias hidrosolubles como los emulsionantes, como la goma arábica que debe recibir una correcta hidratación durante el

proceso. De acuerdo a Velásquez y Pereira (2014) una de las formas de medir la concentración de una emulsión es mediante un refractómetro, donde se coloca la emulsión para poder leerla posteriormente, además mencionan que este análisis es utilizado en la formación de emulsiones de agua en crudo y en el mezclado de metales.

Tabla 17. Sólidos solubles (°Brix) de las emulsiones

Tratamiento	Sólidos solubles (°Brix)
1	2.833 ± 0.058
2	4.833 ± 0.058
3	2.867 ± 0.058
4	5.300 ± 0.000
5	2.267 ± 0.058
6	4.600 ± 0.100
7	2.433 ± 0.058
8	5.067 ± 0.058

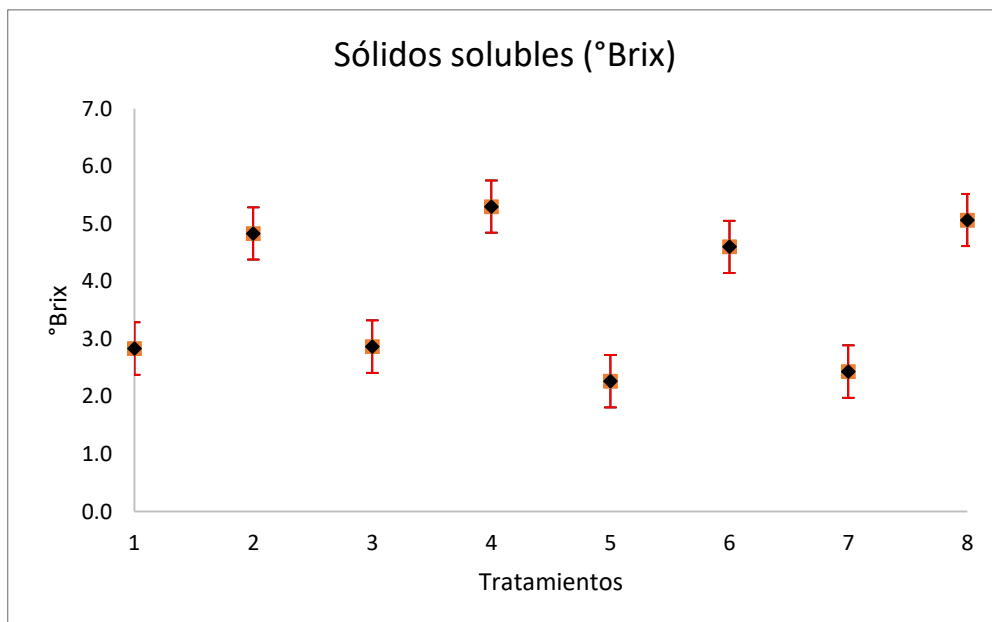


Figura 14. Sólidos solubles (°Brix) de las emulsiones

4.1.3 Actividad de agua (Aw)

Los valores obtenidos de la actividad de agua de las emulsiones son presentados en la Tabla 18, donde se observa que los tratamientos tienen valores cercanos que se encuentran dentro del

rango de 0.975 y 0.983, además ninguna variable independiente influye en los resultados. En la Figura 15 se observa que el valor más alto lo tiene el tratamiento 8, donde se agregó 5 g de goma arábica, seguido por los tratamientos 3,5 y 7.

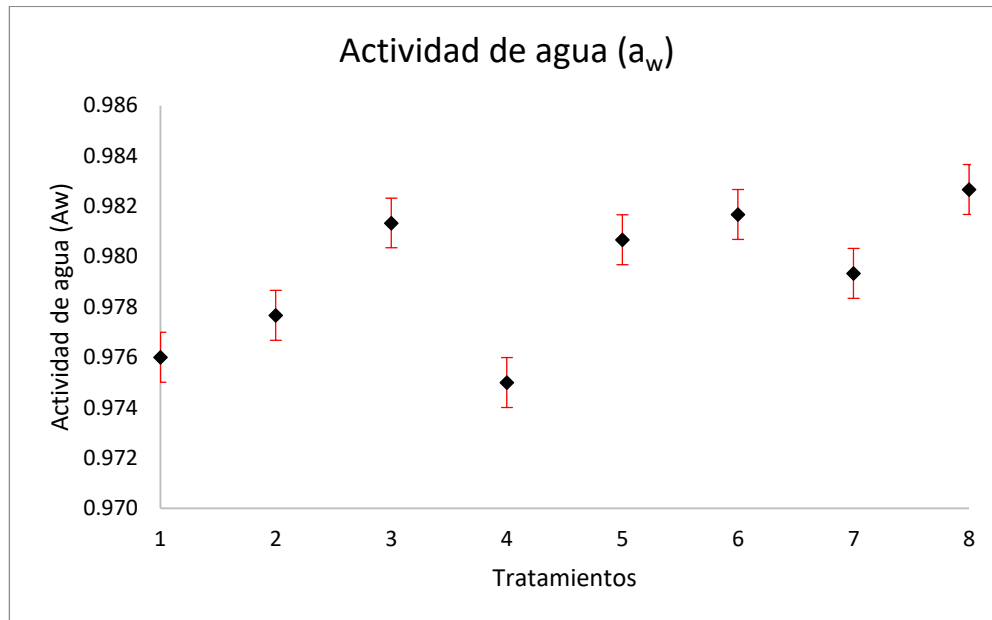


Figura 15. Actividad de agua de las emulsiones

La actividad de agua es la cantidad de agua libre presente en un alimento (Carrillo y Reyes, 2013), en el caso de las emulsiones el agua utilizada para su formulación fue agua destilada, que tiene un valor de 1.00 y que se fue reduciendo de acuerdo a la adición de aceite esencial de canela.

No se han reportado resultados sobre actividad de agua en emulsiones, sin embargo, Galán (2008) agrega que la actividad de agua está relacionada a la estabilidad eléctrica de las emulsiones, debido a que un alto contenido de agua reduce la estabilidad eléctrica porque la distancia entre gotas disminuye facilitando la terminación del circuito eléctrico por la coalescencia de las gotas.

Tabla 18. Actividad de agua (A_w) de las emulsiones

Tratamiento	Actividad de agua (a_w)
1	0.976 ± 0.001
2	0.978 ± 0.001
3	0.981 ± 0.001
4	0.975 ± 0.001
5	0.981 ± 0.001
6	0.982 ± 0.001
7	0.979 ± 0.001
8	0.983 ± 0.001

4.1.4 Diámetro de gota

Se obtuvo el diámetro de gota de las emulsiones preparadas, que fueron observadas en un microscopio Primo Star con 400 aumentos. Las fotografías se muestran en la Figura 16, de donde se midieron las gotas con el software ImageJ y se reportan en la Tabla 19. Los tratamientos 4 y 8 presentaron un rango de tamaño de gota entre 81.02 y 94.47 nm. El menor tamaño de gota se obtuvo en el tratamiento 4 donde se utilizó menor cantidad de aceite esencial de canela (3 g), mayor cantidad de goma arábica (5 g), mayor velocidad de homogeneizado (10000 rpm), mayor tiempo de homogeneizado (30 minutos) y mayor intensidad en el ultrasonido (60 Hz), lo cual está de acuerdo con la literatura ya que, a una alta cantidad de emulsionante, alta velocidad de formación y tiempo se producen gotas más pequeñas (Ramírez, Baena y Osorio, 2019).

En el tratamiento 1 se obtuvo gotas de diámetro promedio de 145.35 nm con desviación estándar (SD) de 55.77 y se observa en el histograma (Figura 17) la distribución normal de los datos obtenidos, donde las columnas son muy variables y se obtuvieron 3 tamaños más altos, siendo la mayor la que presenta un rango entre 130 a 150 nm.

En el histograma se muestra que en el tratamiento 2 la columna más alta presenta un rango de diámetro de gotas entre 110 a 130 nm, siendo el promedio 128.70 nm y su desviación estándar (SD) de 64.34. Mientras que en el tratamiento 3 el tamaño de las gotas promedio es de 91.85 nm y su desviación estándar (SD) de 44.31, las columnas son muy variables y dentro de éstas la de mayor tamaño presenta un rango entre 70 a 90 nm.

En el tratamiento 4 que fue donde se obtuvo el menor tamaño de gotas, en el histograma se muestra que las columnas son menos variables que los tratamientos anteriores presentando un promedio de 81.02 nm y una desviación estándar (SD) de 15.23 y se observan tres columnas del mismo tamaño que presentan un rango entre 65 y 95 nm.

El histograma que se presenta para el tratamiento 5 muestra una distribución normal donde el diámetro de las gotas tiene un promedio de 95.09 nm y una desviación estándar (SD) de 4.13 y la columna de mayor tamaño está en un rango entre 93 a 95 nm. Por otro lado, en el tratamiento 6 la columna mayor está entre 175 a 185 nm siendo el promedio 173.21 y la desviación estándar (SD) 19.69.

En el tratamiento 7 el tamaño de las gotas tiene como promedio 97.07 nm y la desviación estándar (SD) es de 15.12, la columna con mayor tamaño en la distribución normal se encuentra en un rango entre 95 a 105 nm. Finalmente, en el tratamiento 8 se muestra que las columnas son variables, teniendo a la de mayor tamaño con valores entre 94.5 a 95.5 nm, un promedio de 94.47 nm y desviación estándar (SD) de 1.83.

Gómez (2014) añade que el tamaño de gota de una emulsión se encuentra entre 0.5 a 10 micras, se consideran macroemulsiones las que presentan un tamaño mayor de 500 nm (0.5 micras) y nanoemulsiones a las que presentan un tamaño menor a 500 nm.

Noboa, Márquez y López (2017) reportan que la composición química del emulsionante y el modo de preparación (tiempo de agitación, velocidad de agitación, secuencias de adición, formas de entregar la energía), son factores que definen el comportamiento de las emulsiones, como la sedimentación, colaescencia, tamaño de gota y separación de fases.

La alta energía usada que fue la agitación por 30 minutos a 10000 rpm producida por el homogeneizador y el ultrasonido, ayuda a formar las emulsiones reduciendo el tamaño de gota por la fuerza que ejercen los mezcladores, por ejemplo: la agitación produce tamaños de gota de 10 micras, el molino de coloides 5 micras y el microfluidizador de 0.1 a 0.2 micras (Gómez, 2014).

Tabla 19. Diámetro de gota de las emulsiones

Tratamiento	Diámetro de gota (nm)
1	145.35 ± 55.77
2	128.70 ± 64.34
3	91.85 ± 44.31
4	81.02 ± 15.23
5	95.09 ± 4.13
6	173.21 ± 19.69
7	97.07 ± 15.12
8	94.47 ± 1.83

Además de la energía que se usa para producir la emulsión, la composición también es importante, es decir el emulsionante usado. En esta formulación la goma arábiga fue usada como emulsionante, Kosegarten y Jiménez (2012) mencionan que está clasificada como un biopolímero emulsionante natural iónico y que posee una glicoproteína que provee una estabilidad coloidal contra la floculación, además Muñoz et al. (2007) añaden que es un emulsionante de alto peso molecular, que también es usado como estabilizante en la preparación de emulsiones.

Ramírez et al. (2019) elaboraron una emulsión a base de extracto de uchuva, Tween 20, propilenglicol y goma xantana mediante una emulsión espontánea, donde obtuvieron tamaños de gota entre 2.60 y 31.10 μm , el tamaño de gota más bajo se obtuvo a una concentración menor de fase oleosa y a una concentración más alta de emulsionante (Tween 20), presentado también en la presente investigación y está de acuerdo a la literatura ya que, a una alta adición de emulsionante disminuye la tensión interfacial conduciendo a un aumento de área superficial y disminuyendo las gotas.

Wan, Torres, Báez, Amaya, Núñez y Alanis (2016) obtuvieron resultados de tamaño de gota entre 1.5 y 1.7 μm donde utilizaron aceite esencial de naranja, goma xantan y concentrado de proteína de suero usando un agitador magnético; Reyes y Di Scipio (2012) elaboró una emulsión de aceite de maíz en agua con Sorbitan polietoxilado utilizando un sistema de agitación constante, donde el tamaño de gota obtenido fue de 2 μm a una concentración menor de fase oleosa, mayor emulsionante y mayor tiempo de homogeneización.

Flores (2016) elaboró una nanoemulsión a base de β -caroteno, 30% aceite de girasol y 2% Tween 20, donde obtuvo diámetros de gota que oscilan entre 180.10 y 343.40 nm, usando un homogeneizador, el tamaño de gota más pequeño se obtuvo a más tiempo de homogeneización, como se presentó en esta investigación; lo que proporcionó suficiente energía mecánica para formar y dispersar las gotas en la nanoemulsión.

Una emulsión a base de 2% de aceite esencial de limón, 1% de goma arábica, 97% de agua y con 15 vueltas en el homogeneizador, tuvo gotas de 1 μ m que con el paso del tiempo aumentaron a 4 μ m, indicando que éstas no son estables a pesar de que el tamaño de gotas se reduce a medida que se aumentan las vueltas en el homogeneizador, por lo que se recomienda usar un proceso adicional para obtener gotas de escala nanométrica (Moreno, 2013).

Wan, Zhong, Schwarz, Chen y Rao (2019) reportaron resultados de una nanoemulsión a base de aceite esencial de canela, Tween 80 y solución tampón de fosfato usando un mezclador de alta velocidad que luego pasó por un microfluidizador (15000 psi), las gotas que se obtuvieron se encontraron dentro del de 88.57 a 108.66 nm, además mencionan que una mayor presión en el microfluidizador conduce a un “sobreprocesamiento” que lleva al aumento del tamaño de gota.

La estabilidad de las emulsiones está relacionada al tamaño de gota, por lo que produce cambios en el área interfacial modificando el equilibrio de adsorción del emulsionante y produce fenómenos de separación, entre otros. Posteriormente, por esta razón se seleccionó a la emulsión que obtuvo el menor tamaño de gota.

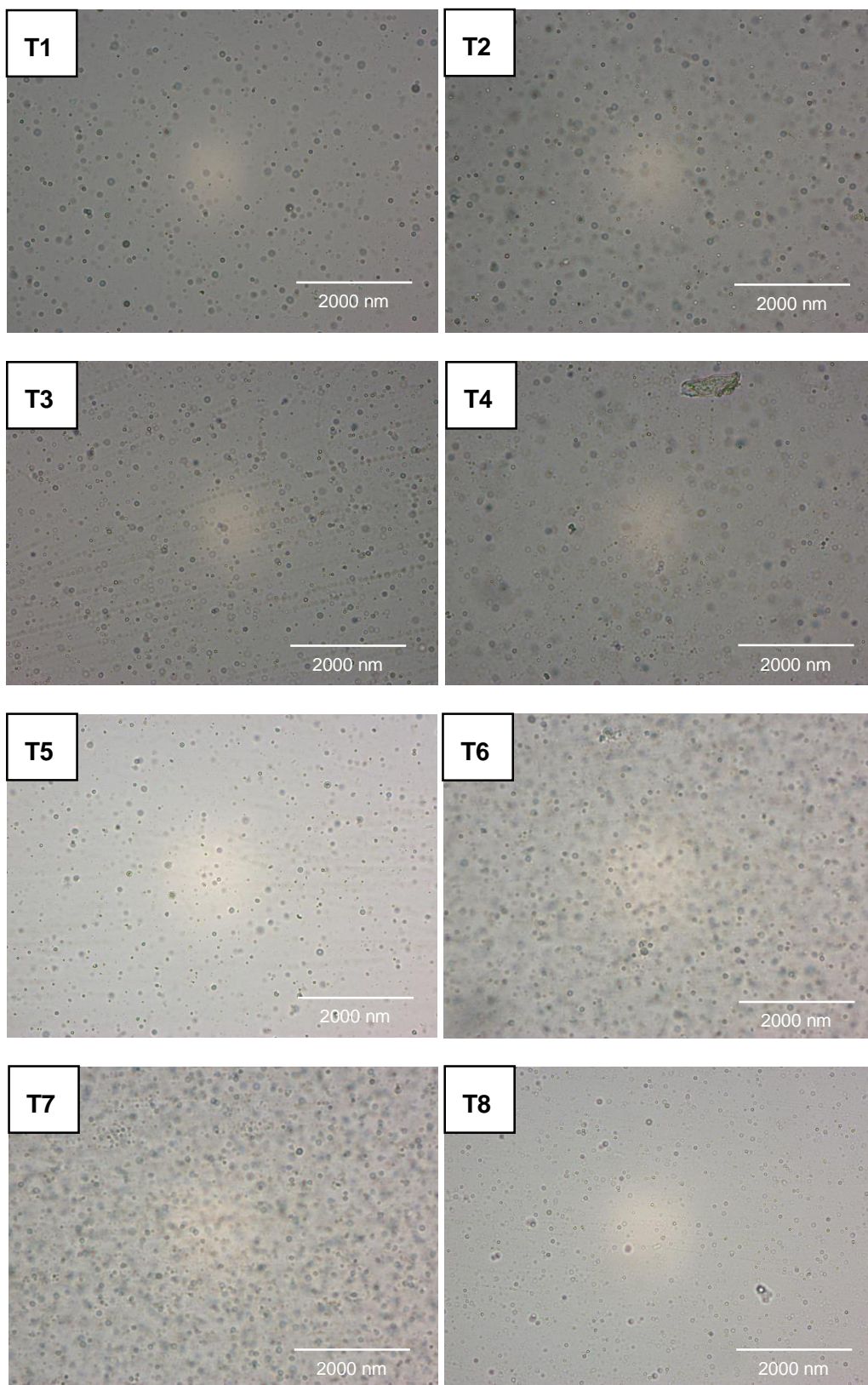


Figura 16. Microscopía de las nanoemulsiones preparadas

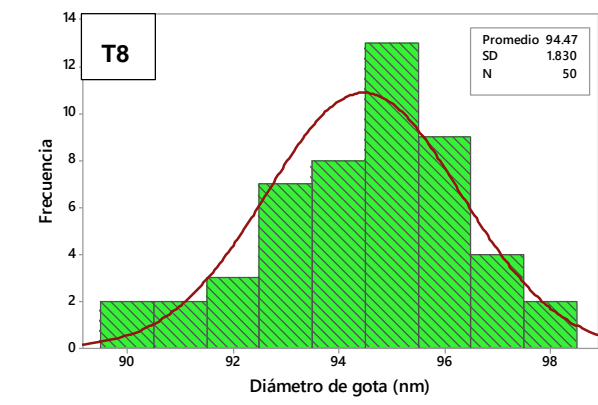
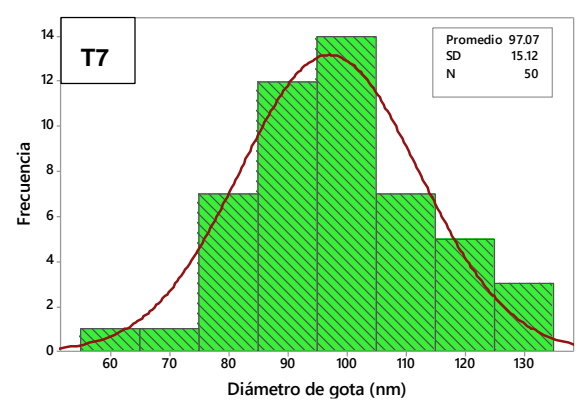
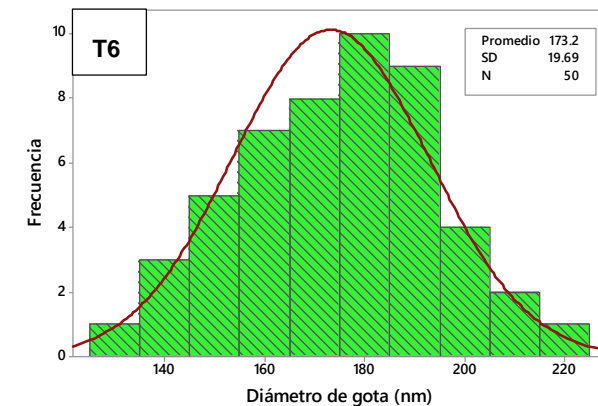
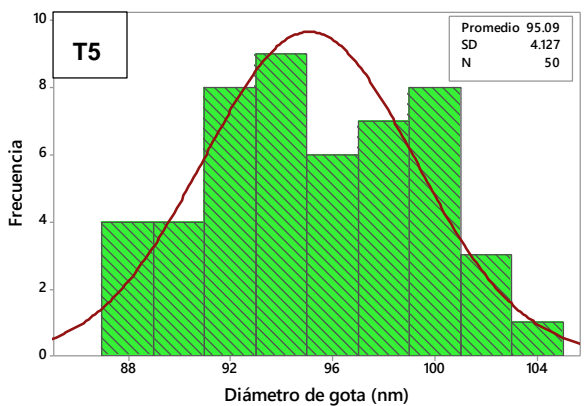
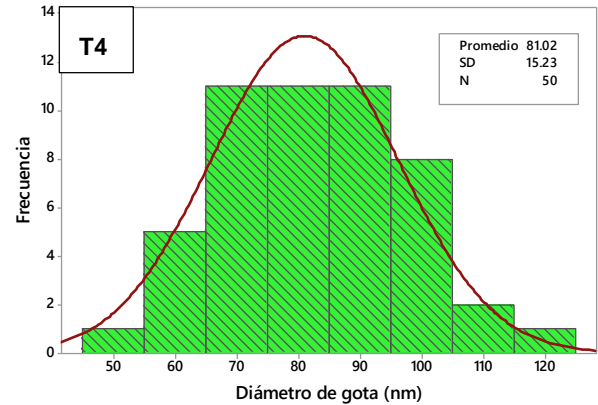
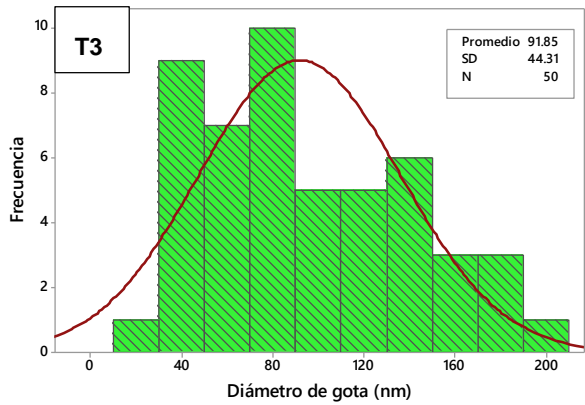
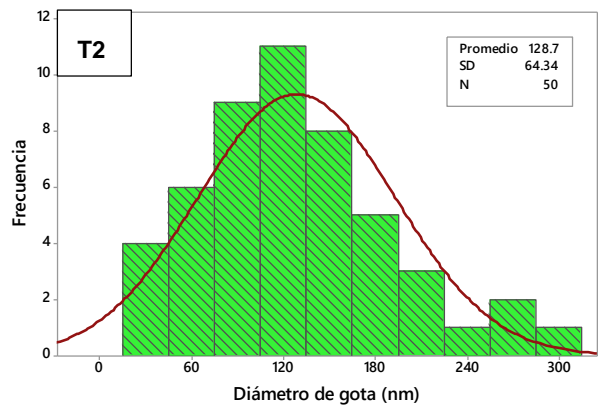
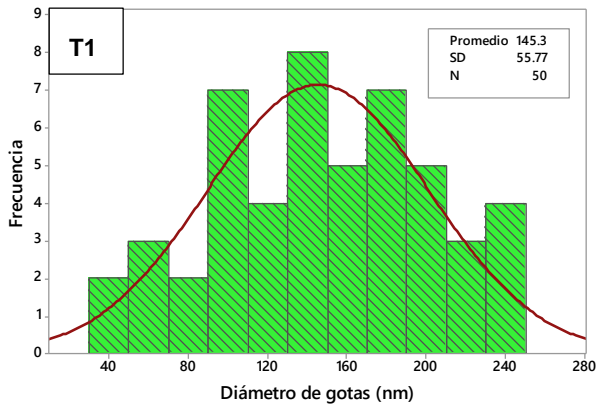


Figura 17. Distribución de tamaño de gotas de las emulsiones

4.2 Caracterización de la materia prima

4.2.1 Composición proximal

La composición proximal del arándano fresco se muestra en la Tabla 20, donde la humedad fue 83.42 % en 100g de muestra. La humedad que se obtuvo se encuentra dentro del rango de 80 a 95 % de la mayoría de frutas y hortalizas según Arteaga, Espinoza, Aguilar, Gómez, Cabanillas y Santa Cruz (2015), en tanto Soto y Guablocho (2016) registraron un valor de 83.1 % siendo el valor más cercano al obtenido. Aldaba, Concha, Enciso y Carranza (2016) indicaron un valor de 81.5 %, Atencia (2015) reportó un valor de 86 % y Arteaga et al. (2015) obtuvieron un valor de 84.1 %. Estas diferencias se dan debido al tiempo que están dependiendo de sus propias reservas, es decir el tiempo se cosecha, donde la fruta sufre un desgaste al consumir sus azúcares y libera dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O) (Horacio, 2000).

El contenido de ceniza obtenido en el arándano fue 0.67 %, este valor se encuentra dentro del rango de 0.3 a 1 % para frutas y vegetales mencionado por Márquez (2014). Sin embargo, United States Department of Agriculture (USDA) (2002) menciona que el contenido de ceniza del arándano fresco es de 0.24 %, un valor menor al obtenido. Se encontraron valores cercanos al recomendado en la literatura, como el de Arteaga et al. (2015) reportaron un valor de 0.246 %, Soto y Guablocho (2016) obtuvieron un valor de 0.21 %, Santa Cruz (2018) reportó un valor de 0.1 % y Stückrath y Petzold (2007) indicaron un valor más alto de 1.20 %. Los distintos factores ambientales al que está expuesto el arándano y los factores genéticos son los responsables de la diferencia en el contenido de cenizas (Corona y Garduño, 2016).

Con respecto al contenido de fibra cruda, ésta resultó en 0.24 %, un valor menor al reportado por USDA (2002) donde menciona que el contenido de fibra del arándano fresco es de 2.4 %. Pinedo (2018) que analizó la fibra cruda en 5 variedades de arándanos reportó un valor cercano de 1 % para la especie Emerald, sin embargo, para las demás especies estudiadas reportó valores altos que se encontraron entre 5 y 10 % de fibra cruda.

Tabla 20. Análisis proximal del arándano

Componentes	Resultados (g/100g)
Humedad, %	83.42 ± 0.04
Ceniza, %	0.67 ± 0.01
Fibra cruda, %	0.24 ± 0.00
Proteína total, %	0.95 ± 0.01
Grasa, %	0.26 ± 0.01
Carbohidratos, %	14.47 ± 0.01

En tanto, el contenido de proteína total resultó 0.95 %, un valor cercano al mencionado por USDA (2002) que es de 0.74%. Cámara, Sánchez & Torija (2008) mencionan que la cantidad de proteínas en las frutas son bajas, consideradas como pobres (1-4%) siendo las hortalizas y legumbres las que contienen un valor más alto. Además, menciona que las frutas que contienen más proteínas son la chirimoya, frambuesa, mora, kiwi y cereza, teniendo un valor cercano a 1 %. Por otro lado, los resultados de Stückrath y Petzold (2007) reportaron un contenido bajo de 0.42 % y Santa Cruz (2018) reportó un valor más alto de 0.7 %.

Con respecto al contenido de grasa fue de 0.26 %, un valor menor a 0.5 % que menciona Cámara, Sánchez y Torija (2008) y un valor cercano a 0.33 % que reporta USDA (2002). Normalmente el contenido de lípidos en las frutas no suele superar el 1 % como lo señala Santa Cruz (2018) dando un contenido de 0.3 % y FUNIBER (2017) que reportó un valor de 0.2 %.

Por último, el contenido de carbohidratos fue de 14.47 %, este valor es muy cercano al valor de 14.49 % reportado por USDA (2002). Además, Stückrath y Petzold (2007) reportaron un contenido de 12.33 % y Santa Cruz (2018) reportó un valor similar de 14 %. Los carbohidratos se encuentran en las frutas como fructosa, glucosa y sacarosa, éstas están presentes desde 8 a más de 10 % ya que depende del estado de madurez que se encuentra la fruta (Cámara, Sánchez y Torrija, 2008).

La composición proximal obtenida del arándano en esta investigación presenta una ligera variación, debido a distintos factores como la variedad, las condiciones ambientales, las prácticas agronómicas, la época de cosecha, el estado de madurez, entre otros (Atencia, 2015).

4.2.2 Análisis fisicoquímico

En la tabla 21 se muestran los resultados del análisis fisicoquímico inicial del arándano realizado el día 0.

Tabla 21. Análisis fisicoquímico del arándano

Parámetro	Resultado
Sólidos solubles (°Brix)	9.7 ± 0.03
Acidez (g/100mL)	0.73 ± 0.04
pH	3.4 ± 0.04
Actividad de agua (a_w)	0.961 ± 0.04

El contenido de sólidos solubles del arándano, definido como el porcentaje de azúcar contenido en la fruta, es de 9.7 °Brix y se encuentra cerca del rango de 10 a 15 °Brix mencionado por Atencia (2015), además Castañeda (2015) obtuvo un contenido de 9 °Brix en el día 0 de evaluación, Ginez y Godoy (2018) obtuvieron un valor de 10 °Brix y Soto y Guablocho (2016) un valor de 10.7 °Brix.

La acidez expresada en ácido cítrico tomó un valor de 0.73 %, este valor se encuentra dentro del rango de 0.5 a 1.4% señalado por Zapata et al. (2013), Castañeda (2015) reporta un valor cercano de 0.93%, Mego (2018) un valor de 0.8% y Plascencia (2010) reportó un valor de 0.5%.

El pH obtenido de 3.4 se encuentra cerca al resultado obtenido de 3.2 por Atencia (2015), además Mego (2018) reporta un valor de 3.25 y Castañeda (2015) un valor de 3.5, estos resultados se encuentran en un rango de 3.2 a 3.5 que son descritos por Galleta, Ballinger, Monroe y Kushman (1990).

La actividad de agua obtenida del arándano fresco es de 0.961, definido por Haro (2004) como un alimento altamente perecedero por encontrarse dentro del rango de 0.95 a 1.00 de actividad de agua, además Stuckrath y Petzold (2007) reportaron un valor de 0.991.

Estos parámetros estudiados dependen de la variedad del fruto y del día que se realizó la cosecha (Zapata et al., 2013)

4.3 Evaluación fisicoquímica del arándano

Para los arándanos control y los arándanos recubiertos con nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato de sodio fueron conservados a temperatura ambiente donde se evaluaron las

siguientes variables fisicoquímicas: sólidos solubles (°Brix), acidez titulable, pH, actividad de agua (Aw) y colorimetría, durante los días: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 y 15 donde se obtuvieron los siguientes resultados.

4.3.1 Sólidos solubles (°Brix)

En la Figura 19 se muestra la evolución del contenido de sólidos solubles de los arándanos recubiertos y los arándanos control durante los 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente (20°C). Desde el día 1 al 15 se observa que los arándanos recubiertos presentan un aumento lento de °Brix, donde el tratamiento 7 es el que sobresale presentando un valor menor de 14°Brix en el último día de almacenamiento, seguidos del tratamiento 8 y 2. Por otro lado, el tratamiento control presentó un aumento acelerado durante el almacenamiento, teniendo en el día 15 un valor de 15.9°Brix, los tratamientos 4, 1 y 10 tienen valores cercanos al tratamiento control que son 15.3°Brix, 15.2°Brix y 15°Brix respectivamente.

Los resultados obtenidos muestran la diferencia del contenido de °Brix de los arándanos recubiertos (14.0 a 15.3°Brix) con el tratamiento control, donde el aumento de °Brix es más acelerado (15.9°Brix), este incremento es generado debido a la degradación del almidón que origina la acumulación de sacarosa, glucosa y fructosa en el arándano (Hubbard, Pharr y Huber, 1990), asimismo también depende del contenido de agua, ya que existe una relación entre la pérdida de agua con la ganancia de sólidos solubles (Díaz, 2003) que se puede observar en la Figura 13.

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 22, donde se observó que ninguno de los factores es significativo, al nivel de confianza del 95 % ($p \leq 0.05$) y se muestra en la gráfica de Pareto y en la tabla de estimación de efectos. (Anexo 1). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 57 % de la variabilidad de los resultados.

Tabla 22. Análisis de varianza de sólidos solubles (°Brix)

FACTOR	R:0,57021			R-Adj: 0.52	
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	0.375	1	0.375	0.368	0.605
Alginato de sodio (%) (Q)	0.600	1	0.600	0.589	0.522
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.006	1	0.006	0.006	0.942
Temperatura de secado (C°) (Q)	0.048	1	0.048	0.048	0.846
1L por 2L	0.340	1	0.340	0.334	0.621
1L por 2Q	0.040	1	0.040	0.040	0.859
1Q por 2L	0.367	1	0.367	0.361	0.608
1Q por 2Q	0.502	1	0.502	0.493	0.555
Error puro	2.035	2	1.017		
Total SS	4.736	10			

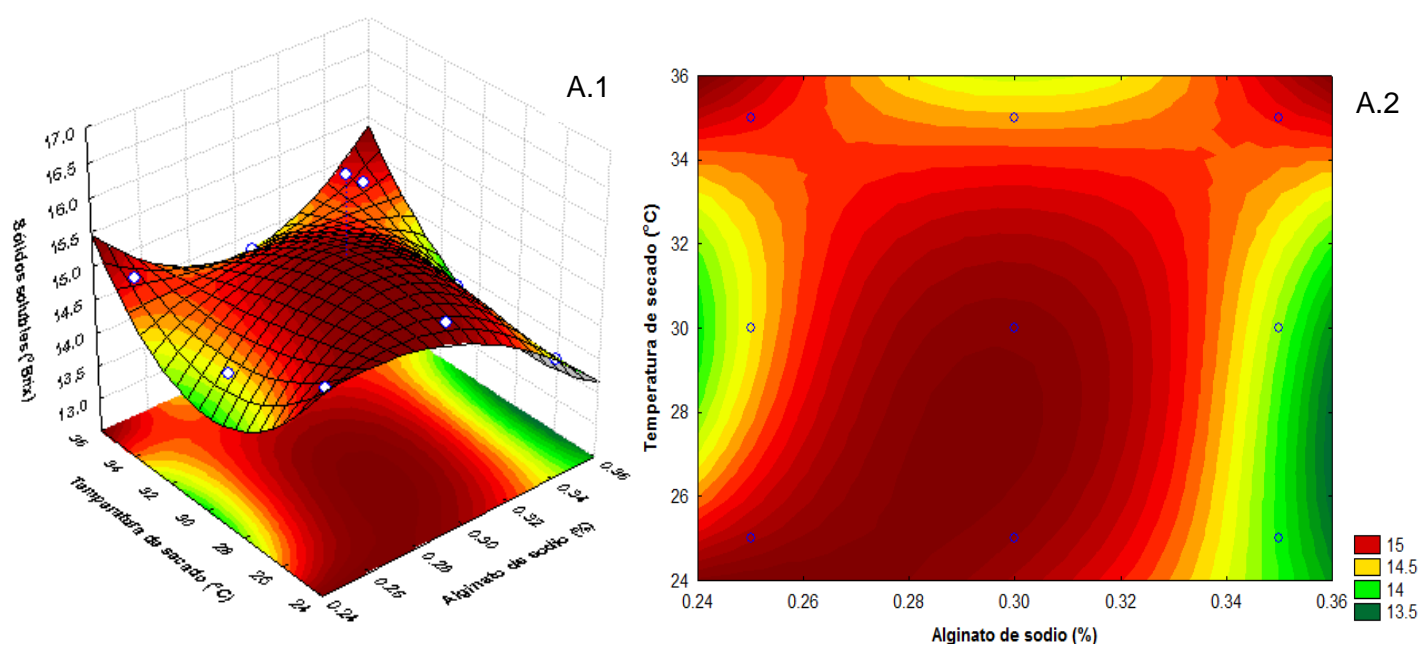


Figura 18. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de sólidos solubles (°Brix)

En la Figura 18 la gráfica de superficie de respuesta y de contorno muestra que la cantidad mayor de sólidos solubles (°Brix) se obtiene a una concentración media de alginato de sodio (0.3 %) y una temperatura media de secado (30°C).

Estos resultados son similares a los reportados por Cruañes y Locaso (2011) cuyos valores oscilan entre un rango de 15.6 a 16 °Brix con un recubrimiento formulado a base de quitosano al 1% aplicado en arándanos, donde mejoraron su calidad y aumentaron su vida útil. En tanto, Castañeda (2015) obtuvo resultados entre 10.33 y 14.67°Brix donde utilizó un recubrimiento comestible a base de propóleo y alginato de sodio sobre el arándano. Asimismo, Duan, Wu, Strik y Shao (2010) reportaron en su investigación valores entre 12.5 y 14.5 °Brix, donde formularon un recubrimiento con alginato de sodio, caseinato de calcio y quitosano soluble en agua y ácido.

Belitz et al. (2009) afirman que el arándano presenta un contenido de sólidos solubles en un rango de 10 y 15°Brix, los valores de los arándanos recubiertos van desde 14 a 15.3°Brix, encontrándose dentro del rango contenido del autor, a excepción de los tratamientos 1 y 4 que superan el máximo valor, esto indica que el recubrimiento a base de aceite esencial de canela y alginato de sodio puede retrasar el proceso de senescencia del arándano, ya que retrasa el metabolismo de los sólidos solubles disminuyendo la pérdida de agua y el control de transporte de gases (Atencia, 2015).

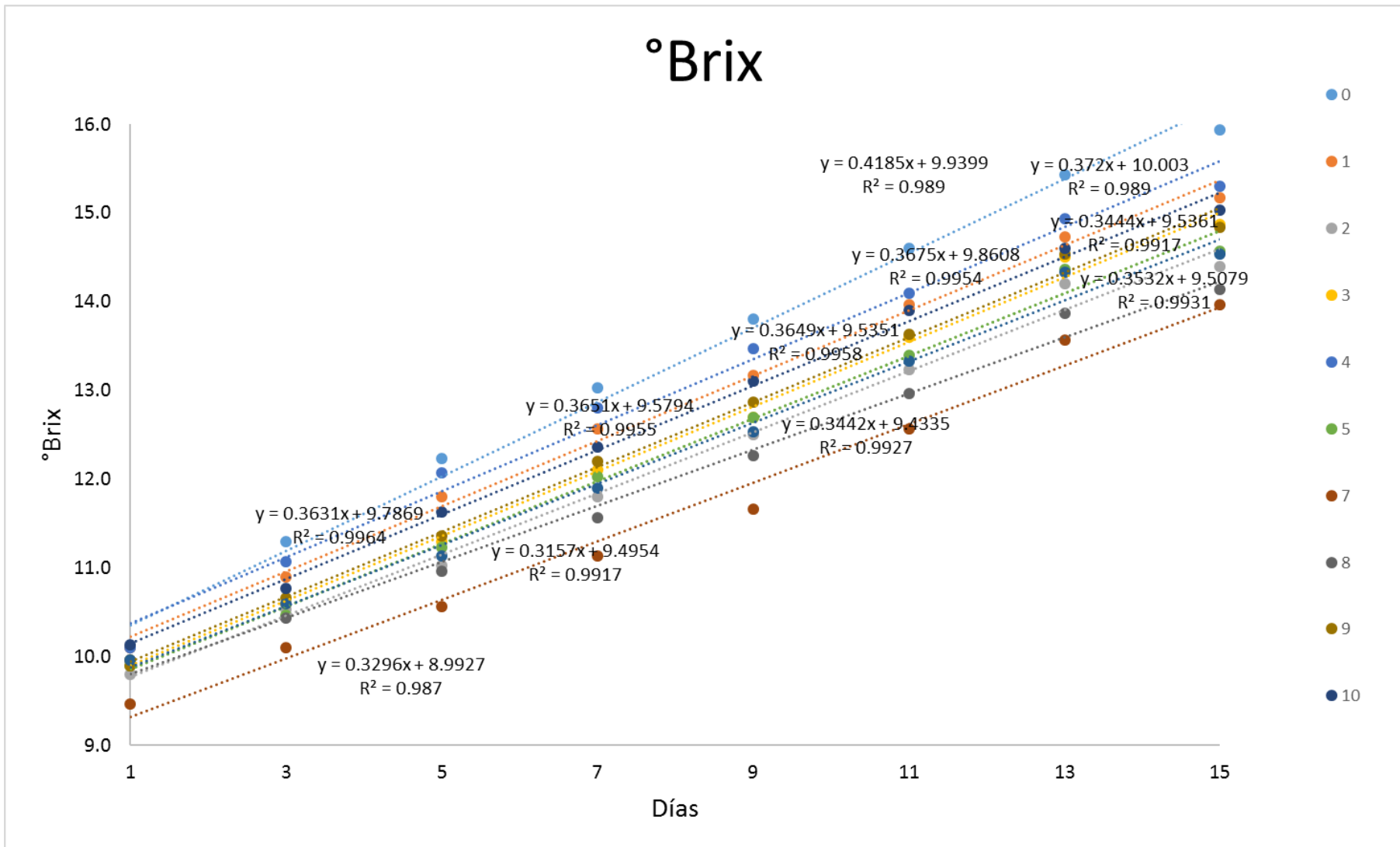


Figura 19. Sólidos solubles (°Brix) de arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente

4.3.2 Acidez titulable

Conforme se observa en la Figura 21 el comportamiento de disminución de la acidez titulable expresada en ácido cítrico de los arándanos recubiertos y los arándanos control durante los 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente (20°C). Hasta el día 15 se observa que la adición del recubrimiento comestible genera que los arándanos recubiertos no disminuyan considerablemente su acidez, donde el tratamiento 2, 5, 6, 7 y 8 son los que sobresalen presentando un valor de 0.6 % cada uno. Por otro lado, el tratamiento control presentó una mayor disminución durante el almacenamiento, teniendo en el día 15 un valor de 0.5 % al igual que los tratamientos 1, 3, 4, 9 y 10.

Los resultados muestran la diferencia del contenido de acidez titulable de los arándanos recubiertos (0.6%), mientras que el tratamiento control muestra un menor valor (0.5%), esto demuestra que los arándanos no recubiertos maduraron un poco más rápido y desarrollaron su proceso de senescencia, por lo que Plasencia (2010) indica que se ha alcanzado la madurez avanzada y que también se afecta el sabor del arándano. Gonzales (2011) informa que ésta disminución de la acidez se da debido a que los ácidos orgánicos son respirados o convertidos en azúcares haciendo que se disminuya su contenido durante el almacenamiento. Por otro lado, los arándanos recubiertos demuestran que el recubrimiento disminuye el proceso de maduración, retrasando la oxidación de los ácidos orgánicos, las reacciones enzimáticas de la respiración alargando la vida útil (Yaman y Bayoindirli, 2002).

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 23, donde se observó que ninguno de los factores es significativo, al nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$) y se muestra en la gráfica de Pareto y en la tabla de estimación de efectos (Anexo 2). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 71% de la variabilidad de los resultados.

En la Figura 20, se observó que el valor mayor de acidez titulable se obtiene a temperatura de secado entre 26 a 30°C y mayor a 0.35% de alginato de sodio.

Tabla 23. Análisis de varianza de acidez titulable (g/100mL)

FACTOR	R:0,71564			R-Adj:0,68	
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%)(L)	0.003	1	0.003	0.671	0.498
Alginato de sodio (%)(Q)	0.004	1	0.004	0.886	0.445
(2) Temperatura de secado (C°)(L)	0.000	1	0.000	0.000	1.000
Temperatura de secado (C°)(Q)	0.001	1	0.001	0.355	0.611
1L por 2L	0.001	1	0.001	0.328	0.624
1L por 2Q	0.000	1	0.000	0.109	0.772
1Q por 2L	0.005	1	0.005	0.986	0.425
1Q por 2Q	0.006	1	0.006	1.261	0.378
Error puro	0.011	2	0.005		
Total SS	0.038	10			

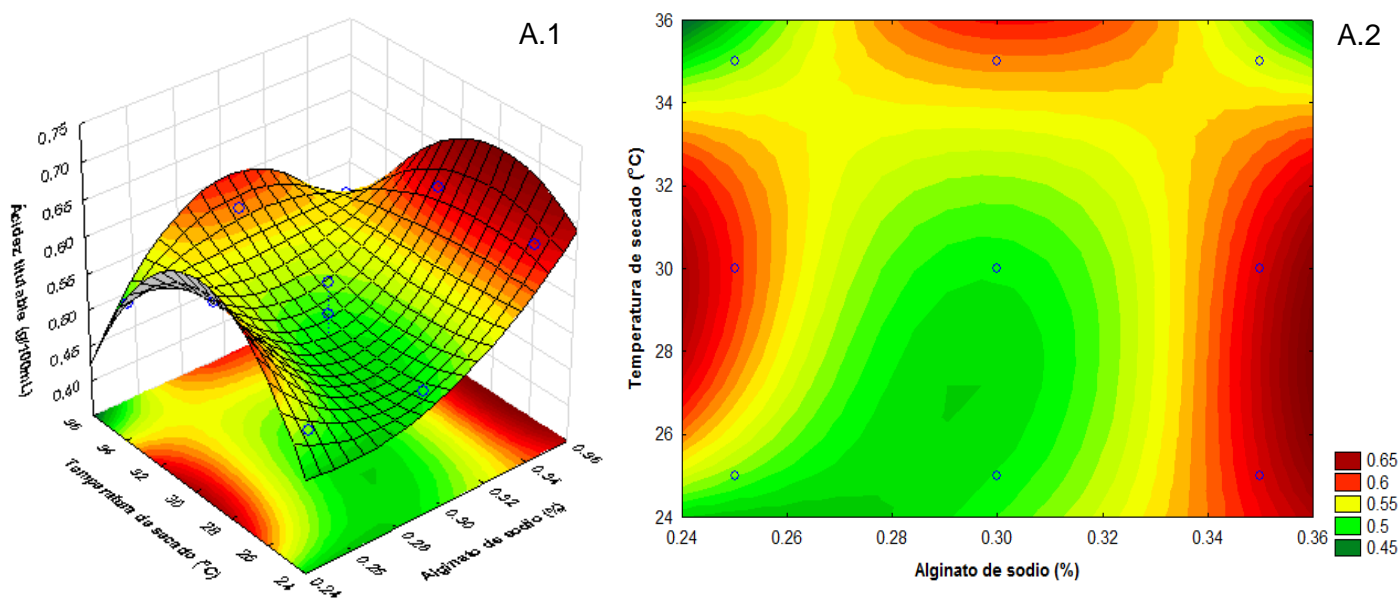


Figura 20. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de acidez titulable (g/100mL)

Los resultados obtenidos en esta investigación son cercanos a lo reportado por Duan et al. (2011) que obtuvieron valores entre 0.8 a 0.9% presentando solo 0.1% de reducción de acidez, aplicando un recubrimiento a base de alginato de sodio, caseinato de calcio y quitosano soluble en agua y ácido. Asimismo, Castañeda (2015) informa que los recubrimientos a base de alginato

de sodio y propóleo obtuvieron valores en un rango entre 0.78 a 1.21% presentando una disminución de acidez de 0.43%. En cambio, Abanto (2018) al aplicar un recubrimiento a base de cera de abeja reportó un resultado de 0.29% y a base de quitosano fue de 0.35%.

Zapata et al. (2013) afirman que el arándano presenta un contenido de acidez titulable en un rango de 0.5 a 1.4%, los valores de los arándanos recubiertos varían desde 0.8 a 0.6%, encontrándose dentro del rango contenido del autor, incluyéndose los arándanos control con un valor de 0.5%. Por lo tanto, el recubrimiento a base de aceite esencial de canela y alginato de sodio puede reducir la tasa metabólica, donde los ácidos orgánicos presentes en el arándano son usados para la respiración y son esenciales en el ciclo de respiración de los ácidos tricarbónicos (Pinzón, Fischer y Corredor, 2007).

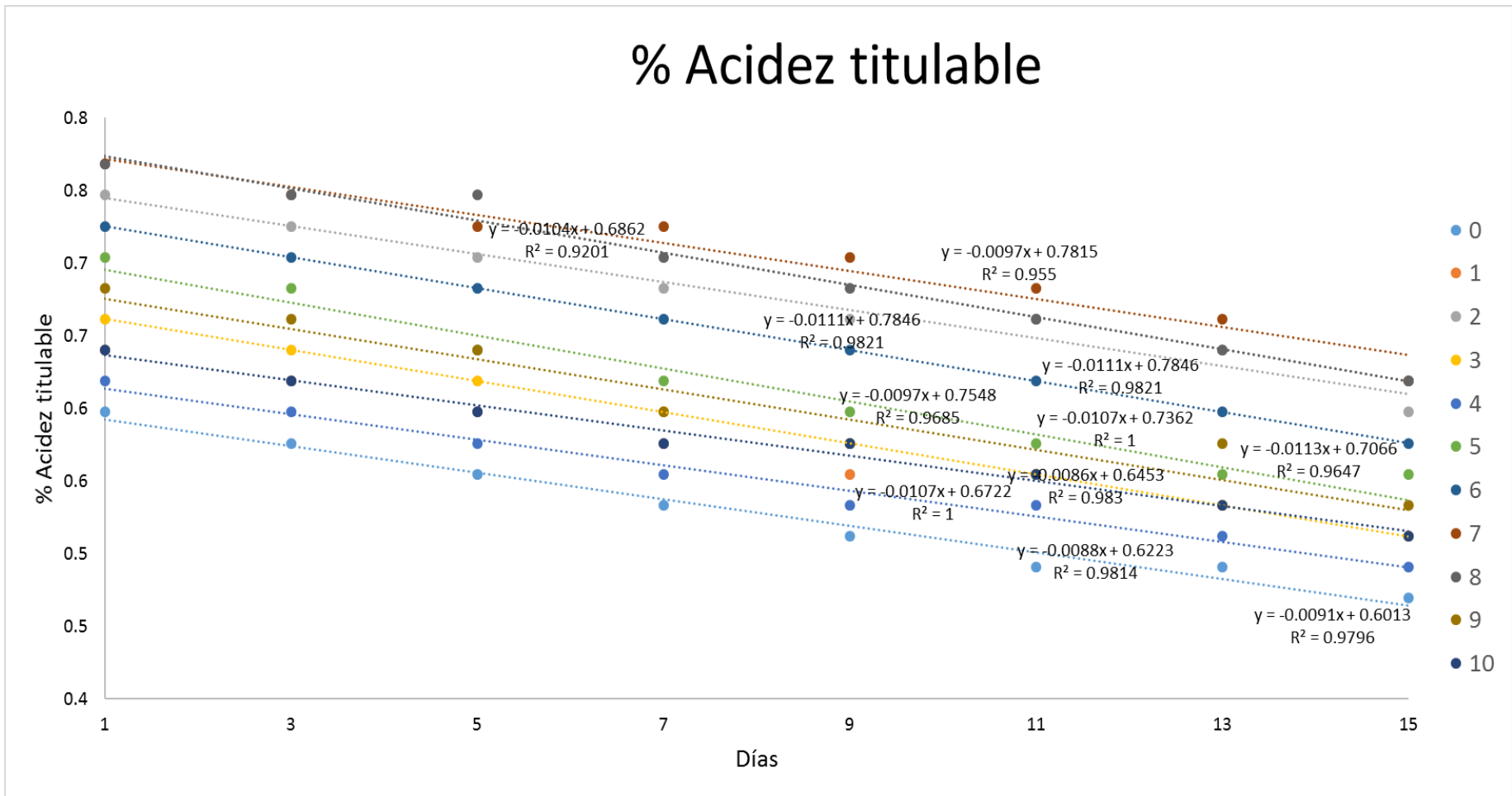


Figura 21. Acidez titulable de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente

4.3.3 Actividad de agua (a_w)

Los resultados obtenidos se observan en la Figura 23, donde se reporta una disminución de actividad de agua en los arándanos recubiertos y los arándanos control durante los 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente (20°C). Hasta el último día de almacenamiento se observa que la adición del recubrimiento comestible retrasa la disminución de la actividad de agua, donde los tratamientos 7, 8 y 2 son los que sobresalen presentando un valor de 0.952, 0.949 y 0.947, respectivamente. Por otro lado, el tratamiento control presentó una mayor disminución de actividad de agua, teniendo en el día 15 un valor de 0.921.

Los resultados obtenidos muestran que los arándanos recubiertos presentan menor disminución de actividad de agua, por lo que se demuestra una de las ventajas del uso del recubrimiento comestible, que es modificar la atmósfera interna de la fruta creando una barrera física que evita la transferencia de humedad y mejora la calidad e integridad del arándano (Fernández, Bautista, Ocampo, García y Falcón, 2015). Adicionalmente, Méndez, Quintero, Váquilo y Solanilla (2015) agregan que los recubrimientos comestibles a base de alginato de sodio tienen mejores propiedades de barrera contra el agua, ya que produce una alta humedad relativa en la superficie del fruto generando la reducción del gradiente de humedad con el exterior. Por otro lado, los arándanos no recubiertos presentaron valores menores perdiendo sus propiedades reológicas, coligativas y de textura, que hacen que el fruto pierda atractivo para el consumidor (Becerra, 2016).

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 24, donde se observó que ninguno de los factores es significativo, al nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$) y se muestra en la gráfica de Pareto y en la tabla de estimación de efectos (Anexo 3). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 90% de la variabilidad de los resultados.

En la Figura 22, se observó que el valor mayor actividad de agua se obtiene a temperaturas medias de secado y concentraciones mayores de alginato de sodio.

Tabla 24. Análisis de varianza de actividad de agua (a_w)

FACTOR	R:0,90039			R-Adj:0.50193	
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	0.000	1	0.000	3.900	0.186
Alginato de sodio (%) (Q)	0.000	1	0.000	2.971	0.226
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.000	1	0.000	0.118	0.763
Temperatura de secado (C°) (Q)	0.000	1	0.000	4.103	0.180
1L por 2L	0.000	1	0.000	3.766	0.191
1L por 2Q	0.000	1	0.000	1.114	0.401
1Q por 2L	0.000	1	0.000	2.584	0.249
1Q por 2Q	0.000	1	0.000	0.594	0.521
Error puro	0.000	2	0.000		
Total SS	0.000	10			

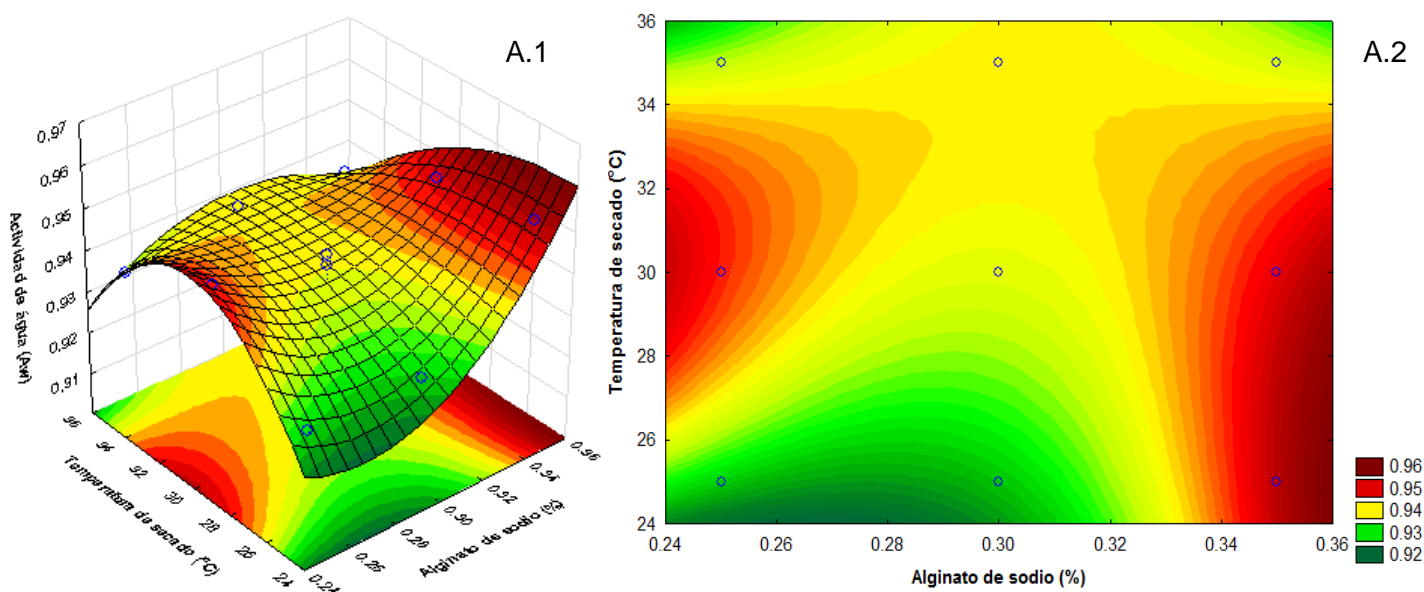


Figura 22. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de actividad de agua (a_w)

Gamboa y Silva (2018) reportaron en su investigación un resultado cercano al obtenido de 0.991 al iniciar la evaluación, lo cual está entre los valores de 0.95 a 1.00 indicados por Fennema (1993). Asimismo, De Ancos, Gonzáles, Colina y Sánchez (2015) informan que los recubrimientos

a base de alginato que han sido utilizados en manzana cortada, papaya, melón, pera, piña y mango obtuvieron buenas propiedades de barrera frente al agua y al añadir aceites esenciales esta propiedad mejora. Además, Fernández, Echevarría, Mosquera y Paz (2017) agregan que el uso un recubrimiento a base de almidón de yuca almacenado a temperatura ambiente hubo una pérdida de agua del 10.1%, por otro lado, la aplicación de recubrimientos a base de aceite esencial de tomillo con almidón de yuca y aceite esencial de naranja, mostraron menor pérdida de agua en el tomate y pimentón, respectivamente.

Actividad de agua (aw)

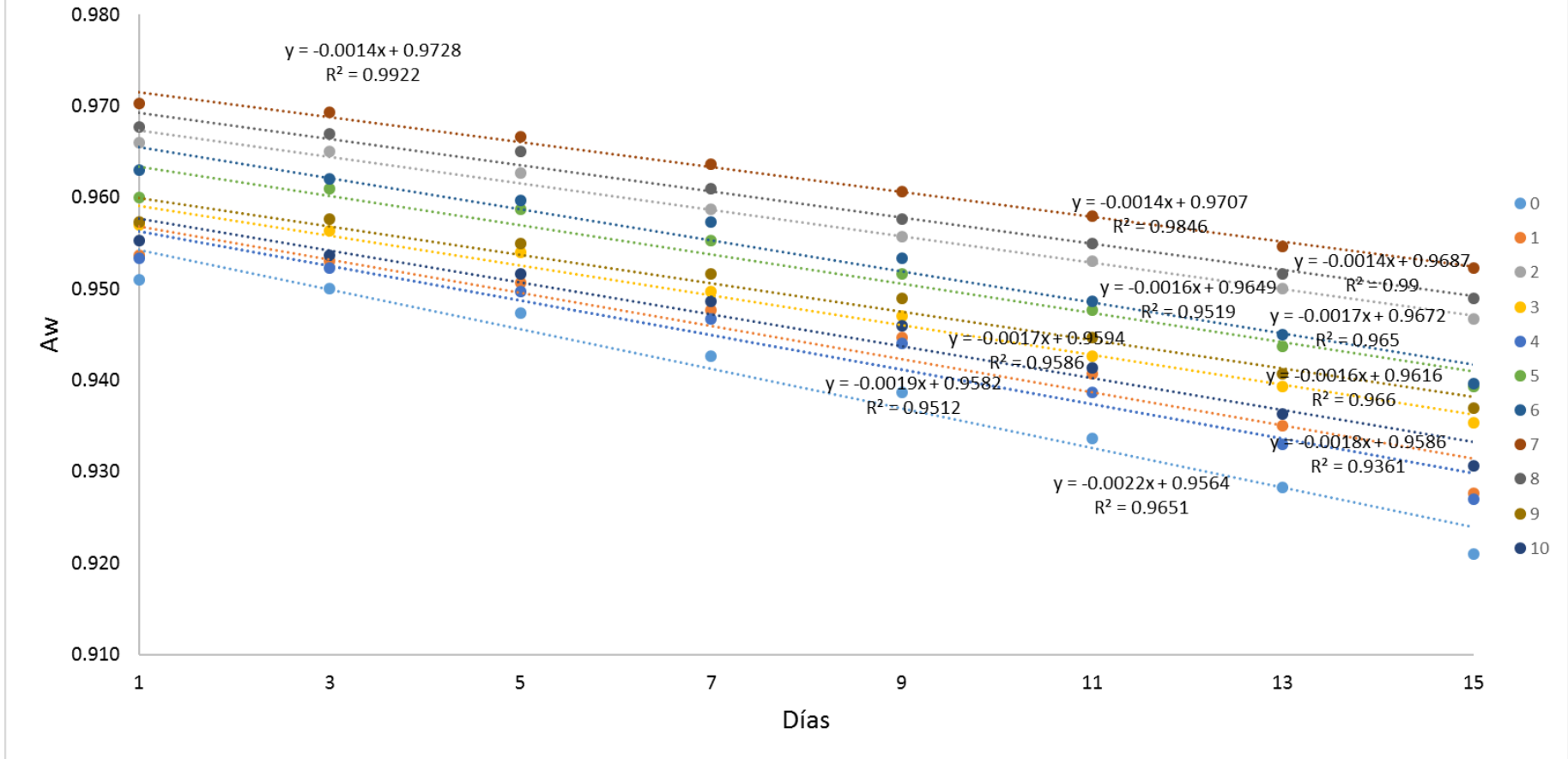


Figura 23. Actividad de agua de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente

4.3.4 pH

En la Figura 25 se muestran los resultados de la variación de pH de los arándanos recubiertos y los arándanos control durante los 15 días de almacenamiento a temperatura ambiente (20°C). A lo largo del almacenamiento, el aumento de pH de los arándanos control fue de 4.4 a 6.1 y los arándanos recubiertos presentaron una menor tendencia a subir el pH, donde los tratamientos 2, 7 y 8 son los que sobresalen presentando un valor de 4.8, 4.5 y 4.6, respectivamente.

Los resultados obtenidos demuestran que los arándanos no recubiertos maduraron más rápido desarrollando su proceso de senescencia, reportado también por Gonzales (2011) quien analizó el recubrimiento a base de aceite esencial de canela aplicado a frutilla, uvilla y mora donde se obtuvo un mayor deterioro en los frutos control. Figueroa, Salcedo y Narváez (2013) explican que el aumento del pH tiene una relación inversa con la acidez titulable, este incremento está relacionado con el proceso de maduración donde el arándano empieza a consumir sus ácidos orgánicos para desarrollar sus procesos metabólicos.

En esta investigación los resultados son similares a lo reportado por Castañeda (2015) que obtuvo un valor de 3.04 al utilizar un recubrimiento a base de alginato de sodio y propóleo en el arándano, donde explica que a una concentración de 1% de alginato obtuvo un menor incremento de pH. Asimismo, Abanto (2018) informa que el recubrimiento a base de quitosano presentó un valor de 3.09 y otro a base de cera de abeja presentó 3.06, estos valores reportados son menores a los obtenidos en la presente investigación.

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 25, donde se observó que ninguno de los factores es significativo al nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$) y se muestra en la gráfica de Pareto y en la tabla de estimación de efectos (Anexo 4). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 96% de la variabilidad de los resultados.

En la Figura 24, se observó que el valor mayor de pH se obtiene a temperatura de secado entre 24 a 28°C y 0.24 a 0.32% de alginato de sodio.

Tabla 25. Análisis de varianza de pH

FACTOR	R:0,96271			R-Adj:0.81356	
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	0.782	1	0.782	14.670	0.061
Alginato de sodio (%) (Q)	0.681	1	0.681	12.783	0.070
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.060	1	0.060	1.125	0.400
Temperatura de secado (C°) (Q)	0.535	1	0.535	10.048	0.086
1L por 2L	0.111	1	0.111	2.083	0.285
1L por 2Q	0.231	1	0.231	4.340	0.172
1Q por 2L	0.480	1	0.480	9.000	0.095
1Q por 2Q	0.029	1	0.029	0.555	0.533
Error puro	0.106	2	0.053		
Total SS	2.860	10			

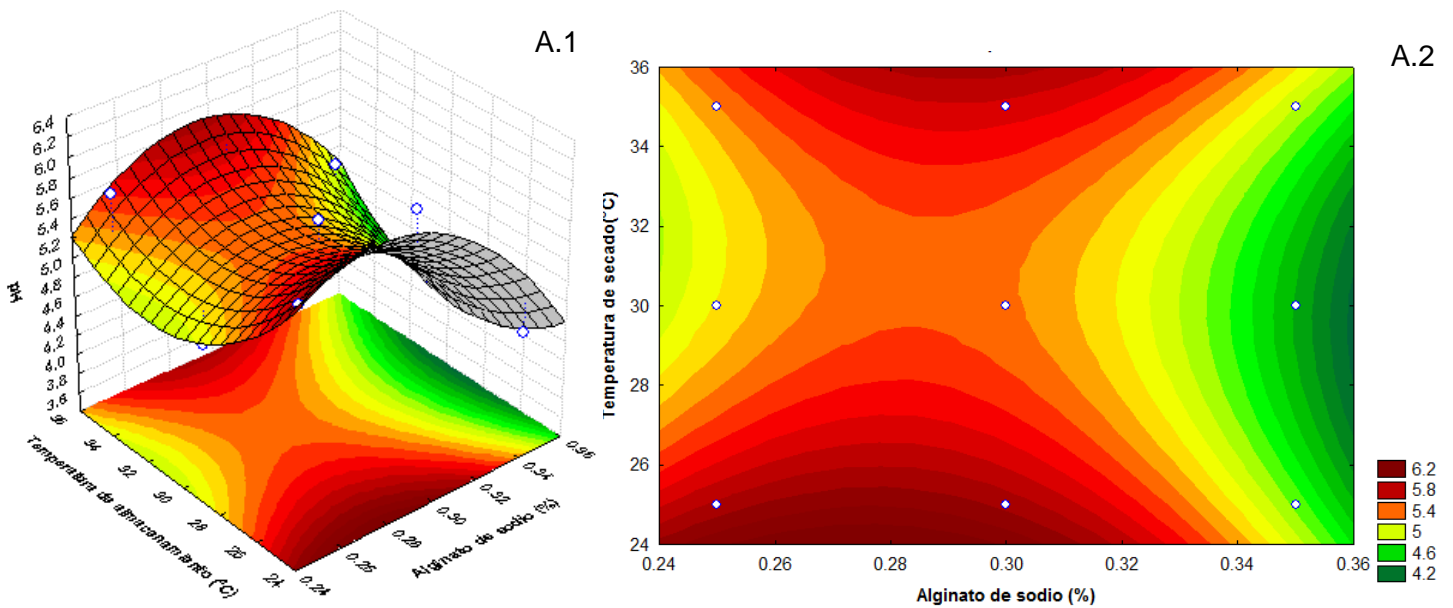


Figura 24. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de pH

Galleta et al. (1990) mencionan que el rango de pH es de 3.2 a 3.5, donde los valores de los arándanos recubiertos no se encuentran dentro del rango del autor, asimismo los valores del arándano control tampoco lo están, por lo cual Abanto (2018) explica que los frutos utilizados en esta investigación no son tan tardíos en su madurez y posiblemente fueron cosechados tempranamente.

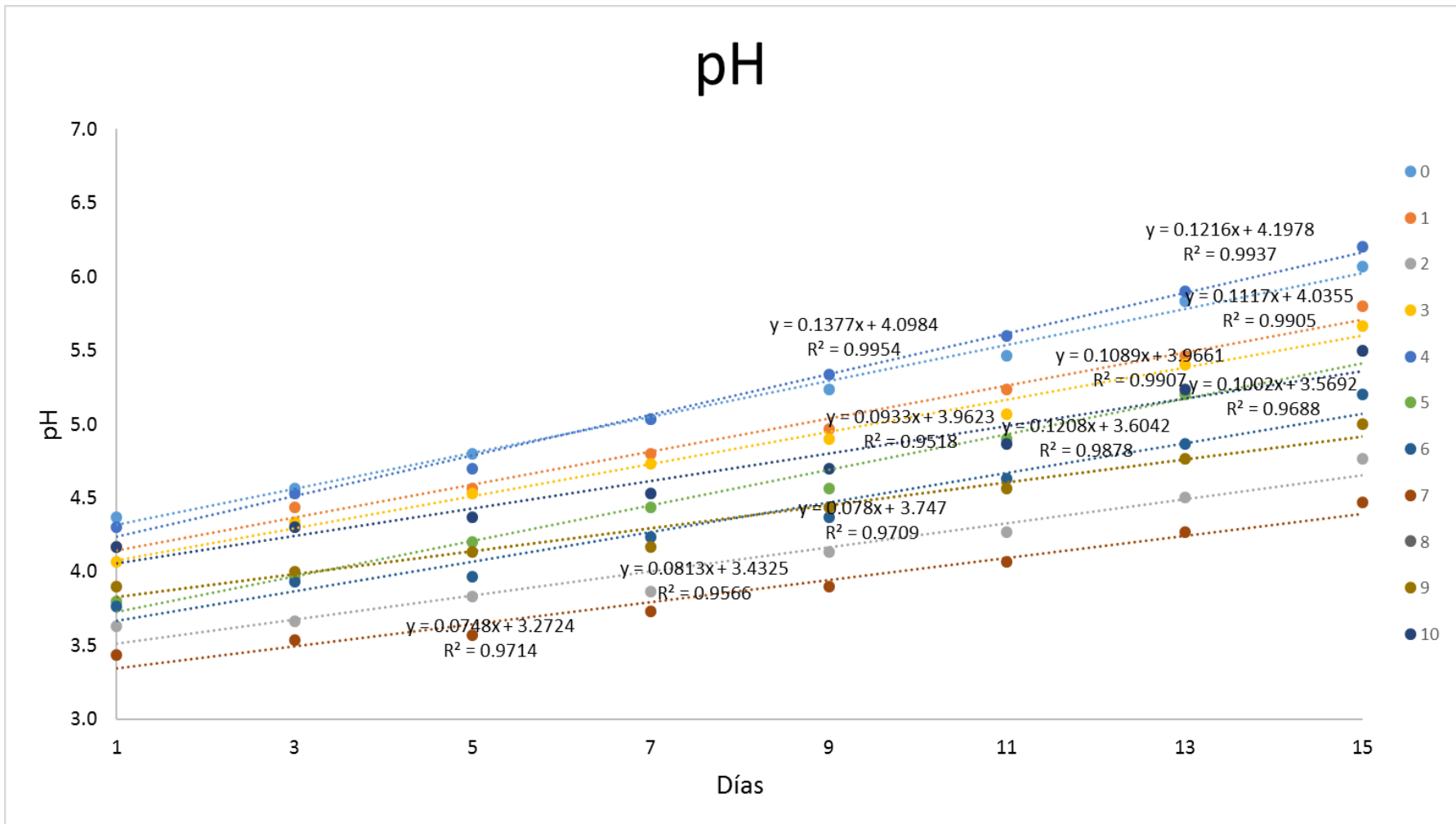


Figura 25. pH de los arándanos recubiertos y control durante almacenamiento a temperatura ambiente

4.3.5 Análisis de parámetro de color

En la Tabla 26 se presentan los valores obtenidos de los parámetros de color de los arándanos recubiertos y los arándanos control en el último día de almacenamiento, donde se observa que la luminosidad ($L^*=0$ -oscuro a 100 -blanco) más cercana al día 0 de almacenamiento ($L^*=13.90$) de los arándanos recubiertos son los tratamientos 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, con valores desde 17.02 a 17.98, siendo el tratamiento 8 con 0.35 % de alginato de sodio y 30°C de temperatura de secado, el que presentó mayor luminosidad. Para el parámetro a^* , el tratamiento 4 con 0.30 % de alginato de sodio y 25°C de temperatura de secado fue el más cercano al valor inicial ($a^*=8.84$). Por último, para el parámetro b^* , el tratamiento 3 con 0.25 % de alginato de sodio y 35°C de temperatura de secado fue el más cercano al valor inicial ($b^*=0.51$).

Tabla 26. Valores de los parámetros de color de los arándanos recubiertos y control

Tratamientos	L^*	a^*	b^*
T0	8.58 ± 1.21	-15.70 ± 3.18	-2.28 ± 0.35
T1	9.21 ± 2.12	-11.18 ± 6.65	-2.48 ± 1.37
T2	10.33 ± 0.15	-12.95 ± 2.91	-1.99 ± 0.73
T3	8.50 ± 0.92	-16.95 ± 1.57	-1.83 ± 0.46
T4	17.47 ± 2.71	4.99 ± 3.27	4.99 ± 0.42
T5	17.29 ± 1.01	21.51 ± 2.54	4.24 ± 1.87
T6	17.02 ± 4.64	20.25 ± 0.32	4.56 ± 2.03
T7	17.51 ± 4.46	23.03 ± 4.48	5.08 ± 1.65
T8	17.98 ± 2.50	20.86 ± 3.59	5.08 ± 0.60
T9	17.67 ± 3.11	20.17 ± 2.80	4.09 ± 2.36
T10	17.11 ± 2.81	19.38 ± 1.76	4.11 ± 1.32

4.4.1 Luminosidad (L^*)

La luminosidad es definida como el contenido total de energía, dando lugar a los colores claros y oscuros, siendo el grado entre la oscuridad y el brillo máximo que puede tomar valores entre 0 y 100 (Rettig y Hen, 2014). En esta investigación se reportaron los resultados de la luminosidad durante el almacenamiento (Tabla 26), donde se observa que el arándano control presenta un valor menor de luminosidad ($L^*=8.58 \pm 1.21$) que los arándanos recubiertos y que el arándano inicial ($L^*=13.90$). Por

otro lado, los arándanos recubiertos presentaron valores mayores, siendo los tratamientos 4, 5, 6, 7 y 8, 9 y 10 los que obtienen una luminosidad entre 17.02 y 17.98 y los tratamientos 1, 2 y 3 presentaron valores menores que el inicial (8.50 a 10.33).

La adición de 0.25 % de alginato de sodio en los recubrimientos tuvo un efecto significativo, debido a que en los tratamientos 1, 2 y 3 se presentan los valores más bajos de luminosidad, teniendo un efecto negativo para la calidad del arándano. Pastor (2010) encontró que en las fresas recubiertas con mayor proporción de hidrocoloide se presentó mayor luminosidad, esto debido a que existe menor pérdida de humedad superficial evitando las oxidaciones que causan el color oscuro en la fruta. Por otro lado, Solano, Alamilla y Jiménez (2018) mencionan que el uso de lípidos en los recubrimientos tiene un efecto de opacidad al fruto, actuando como barrera para la luz y evitando la degradación del ácido ascórbico, este efecto no se presentó en esta investigación debido a la baja concentración de aceite esencial de canela.

Solano et al. (2018) afirman que el brillo es una característica deseable en las frutas, por lo que se busca tener un equilibrio entre la calidad sensorial y la nutritiva. En la presente investigación una mayor luminosidad presentada por los arándanos recubiertos, se da debido a una menor concentración de plastificante en el recubrimiento, usándose en este estudio 1 % de glicerol; asimismo, los arándanos que no fueron recubiertos disminuyeron su luminosidad debido al oscurecimiento que sufre por la maduración (Plasencia, 2010).

El uso de recubrimientos comestibles, protege el color y la luminosidad de los frutos, que ha sido evidenciado por diversos autores como Plasencia (2010) que reportó un valor de $L^*=15$ para los arándanos recubiertos, pero obtuvo un valor más alto para los arándanos $L^*=23.9$ debido a la presencia de aceite de girasol alto en la formulación. Del mismo modo, Hernández, Almenar, Del Valle, Velez y Gavara (2008) observaron que la luminosidad de los frutos recubiertos con quitosano presentaron 27 % más que los valores de los frutos sin recubrimiento.

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 27, donde se observó que el alginato de sodio lineal y el alginato de sodio cuadrático son significativos al nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$) y que se

muestran en la gráfica de Pareto y la tabla de estimación de efectos (Anexo 5). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 99 % de la variabilidad de los resultados. El factor con mayor influencia fue el alginato de sodio (L), por presentar el valor mayor de F (378.871), seguido por el alginato de sodio (Q) con un valor de F (121.845).

En la Figura 26, se observó que el valor mayor de luminosidad se obtiene a temperatura de secado entre 24 a 36°C y 0.28 a 0.36 % de alginato de sodio.

Se generó un modelo sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 5), el comportamiento de los variables sobre la luminosidad (L^*) fue:

$$\text{Luminosidad } (L^*) = -1129.8 - 7155.3 (X_1) - 11191.3 (X_1)^2 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

X_1 : alginato de sodio

X_2 : temperatura de secado

Tabla 27. Análisis de varianza de luminosidad (L^*)

FACTOR	SC	R:0,99626		R-Adj:0.9813	
		GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	105.141	1	105.141	378.871	0.002
Alginato de sodio (%) (Q)	33.813	1	33.813	121.845	0.008
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.166	1	0.166	0.600	0.519
Temperatura de secado (C°) (Q)	1.161	1	1.161	4.185	0.177
1L por 2L	0.187	1	0.187	0.676	0.497
1L por 2Q	0.391	1	0.391	1.409	0.357
1Q por 2L	0.00	1	0.00	0.034	0.869
1Q por 2Q	0.283	1	0.283	1.021	0.418
Error puro	0.555	2	0.277		
Total SS	148.383	10			

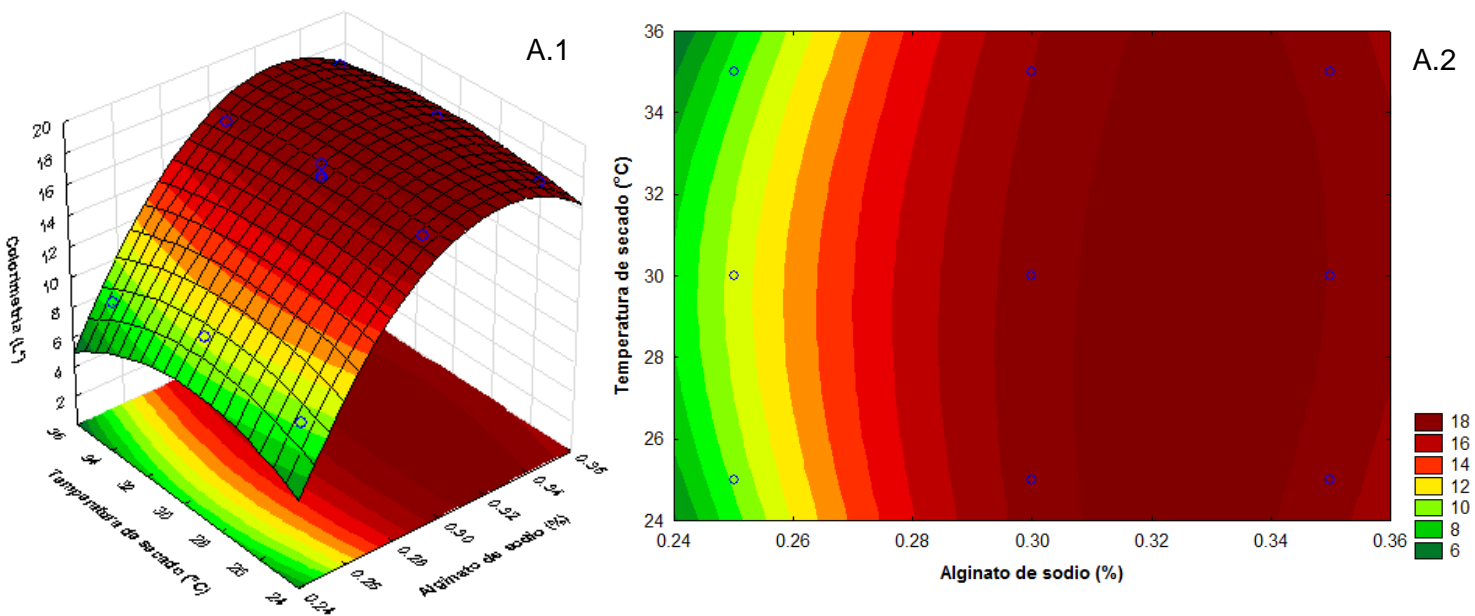


Figura 26. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de luminosidad (L^*)

4.4.2 a^*

Rettig y Hen (2014) mencionan que la escala a^* es la desviación del punto acromático que corresponde a la luminosidad hacia el rojo si a^* es positiva y verde si a^* es negativa. En la Tabla 25 se muestran los resultados obtenidos de la escala rojo-verde (a^*) durante el almacenamiento, donde se observa que el arándano control presenta un valor de $a^* = -15.70 \pm 3.18$ y los arándanos recubiertos presentaron una disminución comparado al valor inicial ($a^* = 8.84$) que se evidencia en los tratamientos 1, 2 y 3 con valores de -11.18, -12.95, -16.95, respectivamente. Por otro lado, los tratamientos 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 presentaron valores positivos que se encuentran dentro del rango de 4.99 a 23.03.

A medida que la concentración de alginato de sodio se reduce (0.25%), la escala a^* toma un valor más bajo, presentando un color más cercano al verde. Abanto (2018) reporta en su investigación un valor de $a^* = -0.665$ para un recubrimiento a base de cera de abeja y $a^* = -3125$ para un recubrimiento a base de quitosano. Esta reducción de la escala a^* se da debido a que el alginato de sodio a una concentración menor no evita que la luz sea absorbida y que ésta catalice los procesos de oxidación donde se degradan los compuestos nutricionales del arándano, reduciendo así la escala a^* (Solano et al., 2018).

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 28, donde se observó que el alginato de sodio lineal, temperatura de secado lineal, la interacción del alginato de sodio cuadrático y la temperatura de secado lineal y la interacción del alginato de sodio cuadrático y la temperatura de secado cuadrático son significativos al nivel de confianza del 95 % ($p \leq 0.05$) y que se muestran también en la gráfica de Pareto y la tabla de estimación de efectos (Anexo 6). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 99 % de la variabilidad de los resultados. El factor con mayor influencia fue el alginato de sodio (L), por presentar el valor mayor de F (39.728), seguido por la interacción del alginato de sodio (Q) y la temperatura de secado (L) con un valor de F (28.675), la interacción del alginato de sodio (Q) y la temperatura de secado (Q) con un F (24.945) y por último la temperatura de secado (L) con un valor de F (24.865).

En la Figura 27, se observó que el valor mayor de escala a^* se obtiene a temperatura de secado entre 24 a 26°C y 0.24 a 0.28 % de alginato de sodio.

Se generó un modelo con interacción y con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 6), el comportamiento de los variables sobre la escala a^* fue:

$$\begin{aligned} \text{Escala } a^* = & -13076 - 89563 (X_1) + 149.611 (X_1)^2 + 836 (X_2) - 13 (X_2)^2 - 5720 (X_1) (X_2) + 90(X_1) (X_2)^2 \\ & + 9532(X_1)^2(X_2) - 150(X_1)^2 (X_1)^2 \end{aligned} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

X_1 : alginato de sodio

X_2 : temperatura de secado

Tabla 28. Análisis de varianza de a*

FACTOR	R:0,98598		R-Adj:0.92992		
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	88.013	1	88.013	39.728	0.024
Alginato de sodio (%) (Q)	10.332	1	10.332	4.663	0.163
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	55.085	1	55.085	24.865	0.037
Temperatura de secado (C°) (Q)	11.249	1	11.249	5.077	0.152
1L por 2L	18.619	1	18.619	8.404	0.101
1L por 2Q	0.046	1	0.046	0.021	0.987
1Q por 2L	63.526	1	63.526	28.675	0.033
1Q por 2Q	55.263	1	55.263	24.945	0.037
Error puro	4.430	2	2.215		
Total SS	316.109	10			

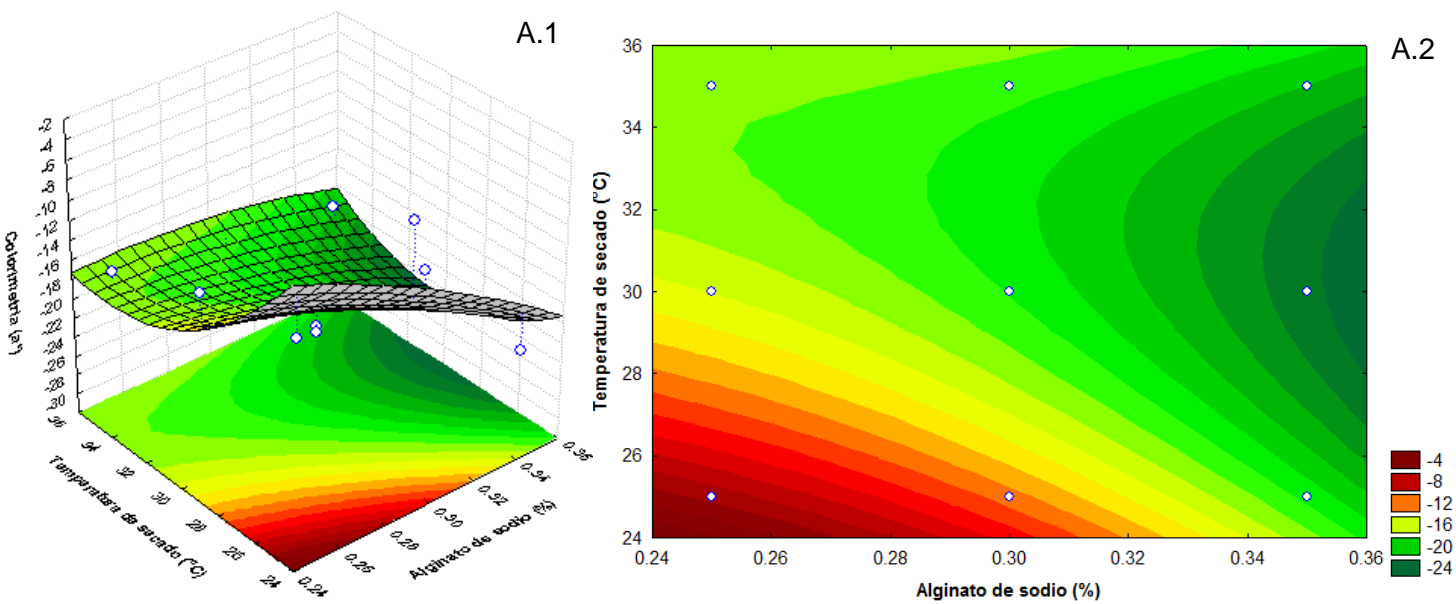


Figura 27. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de a^*

4.4.3 b^*

Dussán, Torres y Reyes (2014) señalan que los valores de la escala b^* indican la variación entre azul y amarillo. En la Tabla 29 se observan los resultados obtenidos durante el almacenamiento, donde los arándanos control obtuvieron un valor de $b^*=-2.28$ siendo cercano al valor inicial ($b^*=0.51$) y lo arándanos recubiertos donde los tratamientos 1, 2 y 3 presentaron valores negativos menores

siendo estos -2.48, -1.99 y -1.83, respectivamente. Por otro lado, los tratamientos 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 tienen valores positivos que se encuentran entre 4.09 a 5.08.

La disminución de los valores de la escala b^* indica que el color amarillo va reduciendo su intensidad, predominando el color azul y reduciendo la intensidad del color amarillo. El arándano control presentó un valor menor al valor inicial, debido a que no se encuentran protegidos por un recubrimiento, ya que durante la maduración las antocianinas migran desde la pulpa hacia la piel del arándano y al encontrarse con el recubrimiento hace que el color azul sea más intenso y en consecuencia el valor de la escala b^* aumente que se evidencia en los demás tratamientos (Plasencia, 2008). Por otro lado, Pérez, Serra, Alonso, Mateos y Del Río (2003) encontraron que los arándanos recubiertos con proteína láctea y cera de abeja presentaron valores altos de b^* , así también Abanto (2018) reportó un valor de 0.99 al final del almacenamiento.

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 28, donde se observó que el alginato de sodio lineal, el alginato de sodio cuadrático, la temperatura de secado lineal y la interacción del alginato de sodio cuadrático y la temperatura de secado cuadrático son significativos al nivel de confianza del 95 % ($p \leq 0.05$) y que se muestran también en la gráfica de Pareto y tabla de estimación de efectos (Anexo 7). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 99 % de la variabilidad de los resultados. El factor con mayor influencia fue el alginato de sodio (L), por presentar el valor mayor de F (39.72), seguido por el alginato de sodio (Q) con un valor de F (177.218), la temperatura de secado (L) con un valor de F (42.121) y por último la interacción del alginato de sodio (Q) y la temperatura de secado (Q) con un F (25.693).

En la Figura 28, se observó que el valor mayor de escala b^* se obtiene a temperatura de secado entre 24 a 36°C y 0.24 a 0.25 % de alginato de sodio.

Se generó un modelo sin interacción con coeficientes significativos según la tabla de coeficiente de regresión (Anexo 7), el comportamiento de los variables sobre la escala b^* fue:

$$\text{Escala } b^* = 964.69 - 6820.77 (X_1) + 11692.67 (X_1)^2 - 63.96 (X_2) - 1.09 (X_2)^2 + 452.66 (X_1) (X_2) - 7.70 (X_1) (X_2)^2 - 780.07 (X_1)^2 (X_2) + 13.27 (X_1)^2 (X_1)^2 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

X₁: alginato de sodio

X₂: temperatura de secado

Tabla 29. Análisis de varianza de b*

FACTOR	R:0,99768		R-Adj:0.98838		
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	10.533	1	10.533	623.298	0.001
Alginato de sodio (%) (Q)	2.994	1	2.994	177.218	0.005
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.711	1	0.711	42.121	0.022
Temperatura de secado (C°) (Q)	0.027	1	0.027	1.647	0.327
1L por 2L	0.028	1	0.028	1.676	0.324
1L por 2Q	0.143	1	0.143	8.462	0.100
1Q por 2L	0.052	1	0.052	3.129	0.218
1Q por 2Q	0.434	1	0.434	25.693	0.036
Error puro	0.033	2	0.016		
Total SS	14.543	10			

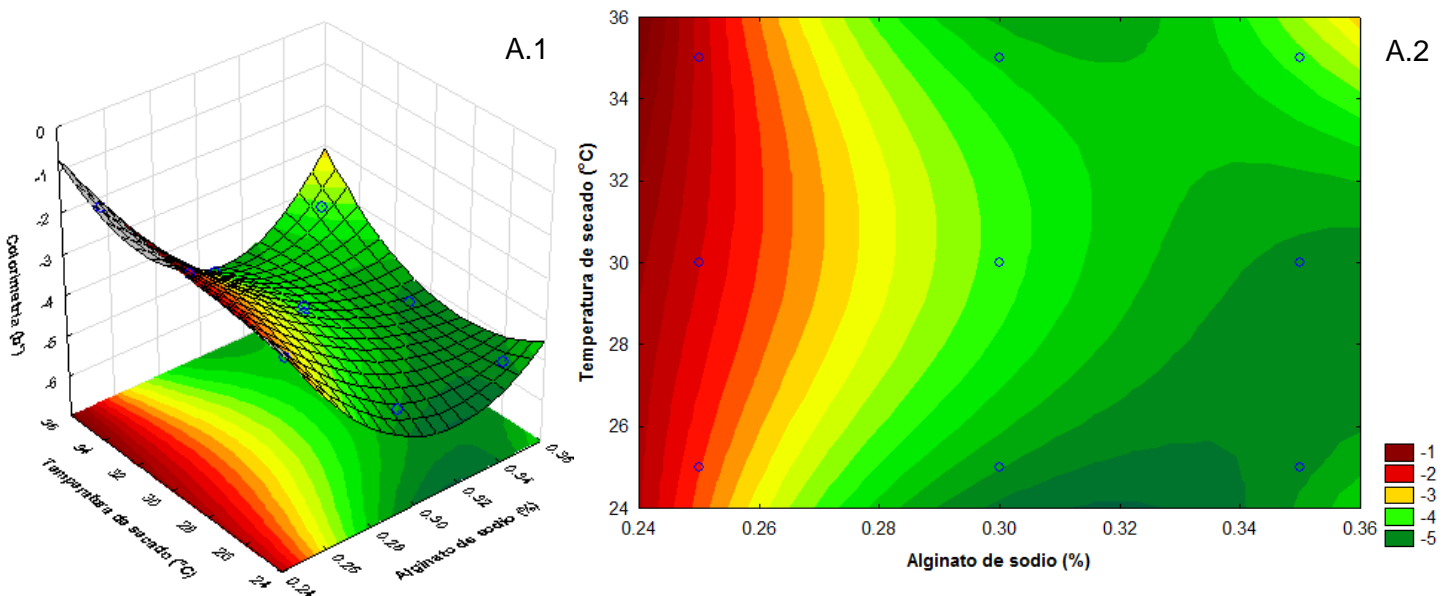


Figura 28. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de b*

4.3 Actividad antimicrobiana del arándano recubierto

Se realizó el análisis microbiológico a los arándanos recubiertos para evaluar el poder de inhibición del aceite esencial de canela, donde se utilizó el método de difusión en agar, contra las cepas

Escherichia coli O157:H7 ATCC 43888 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En la Tabla 30 se observan los resultados obtenidos, donde se muestra que el arándano control no pudo inhibir el crecimiento microbiano, sin embargo, los arándanos recubiertos sí mostraron un efecto inhibitorio donde capacidad inhibitoria del recubrimiento a base de aceite esencial de canela contra la *Escherichia Coli* O157:H7 se desarrolló solo en los tratamientos 2, 3, 4, 5, 8 y 10 teniendo un halo de inhibición de 3.99, 4.02, 3.85, 4.50, 4.29 y 3.06 mm, respectivamente (Figura 31). Con respecto a la capacidad inhibitoria contra el *Staphylococcus aureus*, se encuentra que solo en el tratamiento 10 se obtiene un halo de 2.85 mm (Figura 32).

Los resultados de la inhibición del recubrimiento comestible contra las cepas bacterianas, muestran que para la cepa *Escherichia Coli* O157:H7 existe mayor inhibición que para la cepa *Staphylococcus aureus*, siendo el tratamiento 5 con 0.30% de alginato de sodio y 30°C de temperatura de secado el que presentó mayor inhibición. Para el *Staphylococcus aureus* el tratamiento 10 con 0.30% de alginato de sodio y 30°C de temperatura de secado fue el único que presentó halo de inhibición. En esta investigación el aceite esencial de canela mostró su eficacia en el control de microorganismos, proporcionado por el aldehído cinámico que inhibe las amilasas y proteasas provocando el deterioro de la pared y una lisis celular alta (Ferriño et al. 2010).

Tabla 30. Diámetros de zona de inhibición de *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*

T	Diámetro de zona de inhibición (mm)	
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
2	3.99 ± 2.82	0.00 ± 0.00
3	4.02 ± 2.84	0.00 ± 0.00
4	3.85 ± 2.72	0.00 ± 0.00
5	4.50 ± 3.18	0.00 ± 0.00
6	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
7	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
8	4.29 ± 3.03	0.00 ± 0.00
9	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
10	3.06 ± 2.16	2.85 ± 2.02

Herrera (2011) menciona que los aceites esenciales presentan actividad antimicrobiana, debido a una gran variedad de grupos químicos que están presentes, en el caso del aceite esencial de canela posee: linalol, benzaldehído, aldehído cinámico, furfural, eugenol, safrol, cimeno, dipenteno, felandreno y pineno. Otra característica importante es la hidrofobicidad que poseen, ya que permite la unión a los lípidos de la membrana celular, desestabilizando la estructura y aumentando la permeabilidad que genera la salida de metabolitos, iones y moléculas que llevan a la muerte de un microorganismo. Además, Márquez, Galeano y Martínez (2003) agregan que se han reportado estudios sobre el aceite esencial de canela donde presentan actividad biológica antimicótica, antibacterial y antiprotozoaria y Rodríguez (2011) informa que el aldehído cinámico presente en la canela, es usado para rociar o sumergir las frutas extendiendo la vida útil de las manzanas, peras, duraznos, rebanadas de tomate, melón, sandía, kiwi y limón.

El estudio de Pastrana, Durango y Acevedo (2017), donde utilizaron el método de difusión en agar a diferentes concentraciones de extracto de canela y clavo, muestra los halos de inhibición obtenidos contra la *Escherichia coli* que varían entre 9 y 15 mm a concentraciones de 25-150 mg/mL y para el *Staphylococcus aureus* presentaron halos entre 14-15 mm a concentraciones de 100-150 mg/mL pero a concentraciones entre 25-50 mg/mL no se presentó inhibición, debido a que el clavo posee alcaloides, oxhidrilos fenólicos y eugenol, en cambio, la canela proporciona el aldehído cinámico.

Por otro lado, Shiva. (2007) reportó resultados del uso del aceite esencial de canela contra la *Escherichia Coli* mediante el método de difusión en agar usando un disco de 6mm en cada placa, donde obtuvo un halo de inhibición de 6.50 mm, un valor cercano al obtenido al aplicar el arándano recubierto en la placa y para *Staphylococcus aureus* un halo de 10.50 mm, mayor al obtenido en esta investigación.

Según los resultados obtenidos por Hernández et al. (2011) donde aplicaron un recubrimiento a base de quitosano aceite esencial de clavo con diferentes pesos moleculares, encontraron que no se exhibieron zonas de inhibición, solo se percibió en las partes donde habían sido colocadas las películas, como sucedió en esta investigación; esto debido a que el efecto antimicrobiano no se difundió a través del agar Mueller Hinton y solo inhibió a los microorganismos en contacto directo.

Rojas et al. (2007) utilizaron películas comestibles a base de aceite de canela a una concentración de 0.5 % y alginato-puré de manzana para probar la actividad antimicrobiana contra la *Escherichia coli*, donde obtuvieron bajos halos de inhibición de 0.16 mm debido a que esta bacteria es Gram negativa teniendo diferencia en su estructura celular y su composición en las membranas y una interacción con aceites esenciales.

Valderrama, Algecira y Albaracín (2016) reportaron un halo de 9 mm para *Escherichia coli* y 15 mm para *Staphylococcus aureus* al utilizar una película a base de quitosano y aceite esencial de romero y tomillo, obteniéndose mayor inhibición al *Staphylococcus aureus* porque es una bacteria Gram positiva y más susceptible al efecto de los antimicrobianos.

Zhang, Min, Fang y Liu (2016) evaluaron la capacidad de inhibición del *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* usando 100 μ de aceite esencial de canela, donde reportaron 16.87 mm para *Staphylococcus aureus* y 18.63 mm para *Escherichia Coli*

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 31, donde se observó que ninguno de los factores es significativo al nivel de confianza de 95 % ($p \leq 0.05$) y que se muestran también en la gráfica de Pareto y tabla de estimación de efectos (Anexo 9). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 86% de la variabilidad de los resultados.

En la Figura 29, se observó que la mayor inhibición a la cepa de *Escherichia Coli* se da a en una concentración media de alginato de sodio (0.3%) y una temperatura media de secado (30°C).

Tabla 31. Análisis de varianza de *Escherichia coli*

FACTOR	R:0,8695		R-Adj:0.34251		
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	0.000	1	0.000	0.000	1.000
Alginato de sodio (%) (Q)	3.933	1	3.933	1.579	0.335
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.000	1	0.000	0.000	1.000
Temperatura de secado (C°) (Q)	3.933	1	3.933	1.579	0.335
1L por 2L	0.000	1	0.000	0.000	1.000
1L por 2Q	0.000	1	0.000	0.000	1.000
1Q por 2L	0.000	1	0.000	0.000	1.000
1Q por 2Q	9.524	1	9.524	3.823	0.189
Error puro	4.981	2	2.490		
Total SS	37.884	10			

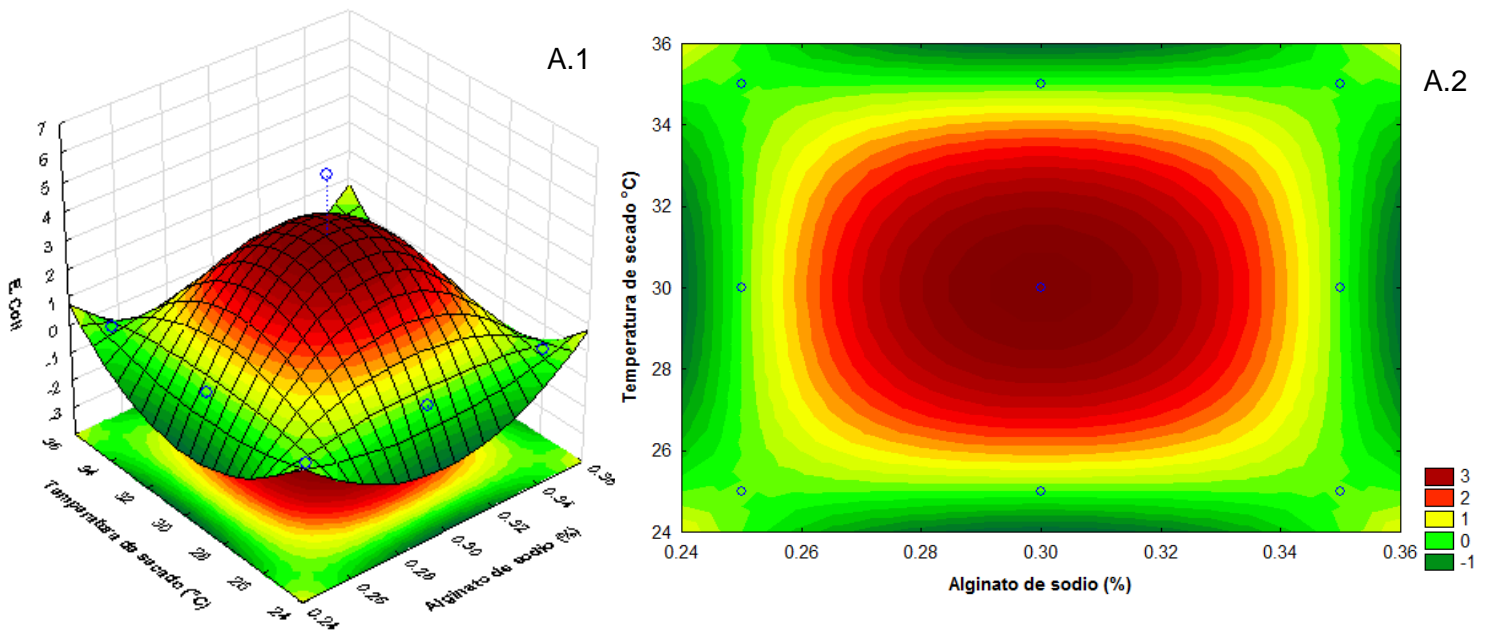


Figura 29. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de *Escherichia coli*

El análisis de varianza (ANOVA) y las interacciones para los factores (alginato de sodio y temperatura de secado) se presentan en la Tabla 32, donde se observó que la temperatura de secado (Q) es significativa al nivel de confianza del 95 % ($p \leq 0.05$) y se muestra también en la gráfica de Pareto y tabla de estimación de efectos (Anexo 8). Este modelo presentó un coeficiente de determinación (R^2) de 89% de la variabilidad de los resultados.

En la Figura 30, se observó que la mayor inhibición a la cepa de *Staphylococcus aureus* se da a en una concentración más alta de alginato de sodio y una temperatura de secado más alta de la aplicada.

Tabla 32. Análisis de varianza de *Staphylococcus aureus*

FACTOR	R:0,89425		R-Adj:0.47125		
	SC	GL	CM	F-valor	P-valor
(1) Alginato de sodio (%) (L)	2.306	1	2.306	3.336	0.209
Alginato de sodio (%) (Q)	0.771	1	0.771	1.116	0.401
(2) Temperatura de secado (C°) (L)	0.004	1	0.004	0.006	0.941
Temperatura de secado (C°) (Q)	18.253	1	18.253	26.408	0.035
1L por 2L	4.040	1	4.040	5.845	0.136
1L por 2Q	1.778	1	1.778	2.573	0.249
1Q por 2L	11.446	1	11.446	16.560	0.055
1Q por 2Q	0.683	1	0.683	0.988	0.429
Error puro	1.382	2	0.691		
Total SS	42.824	10			

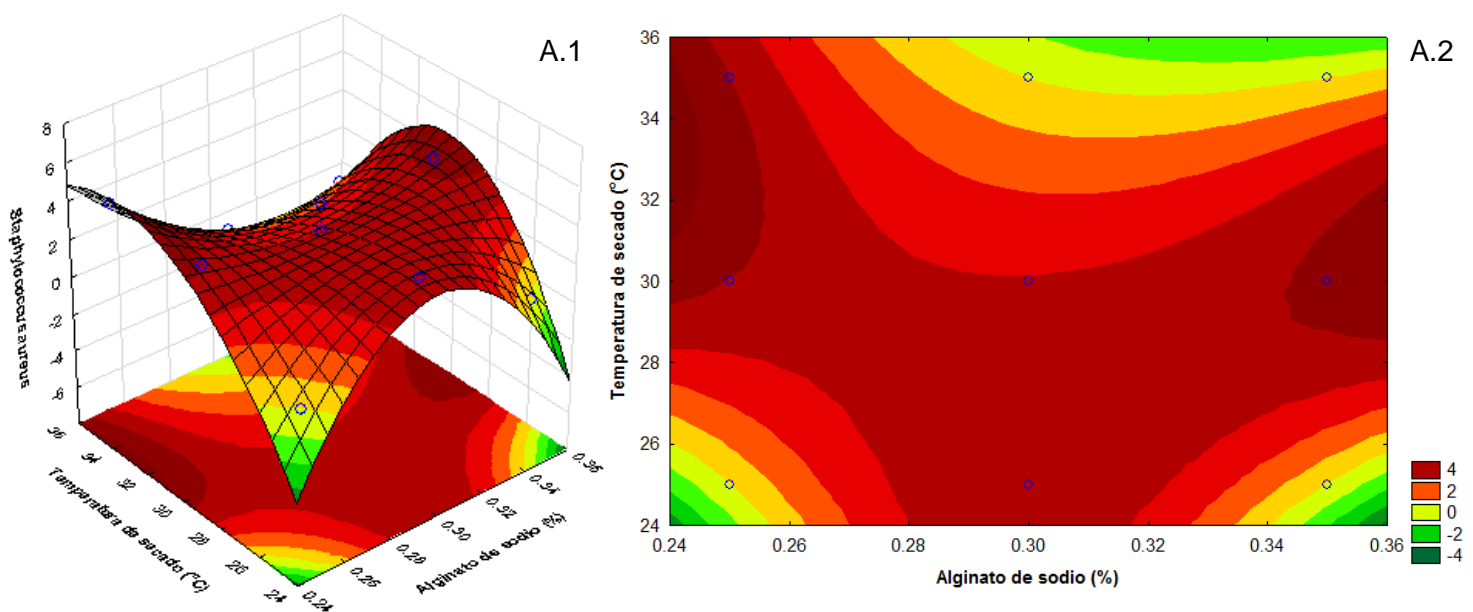


Figura 30. Gráfica de superficie de respuesta y contorno de *Staphylococcus aureus*

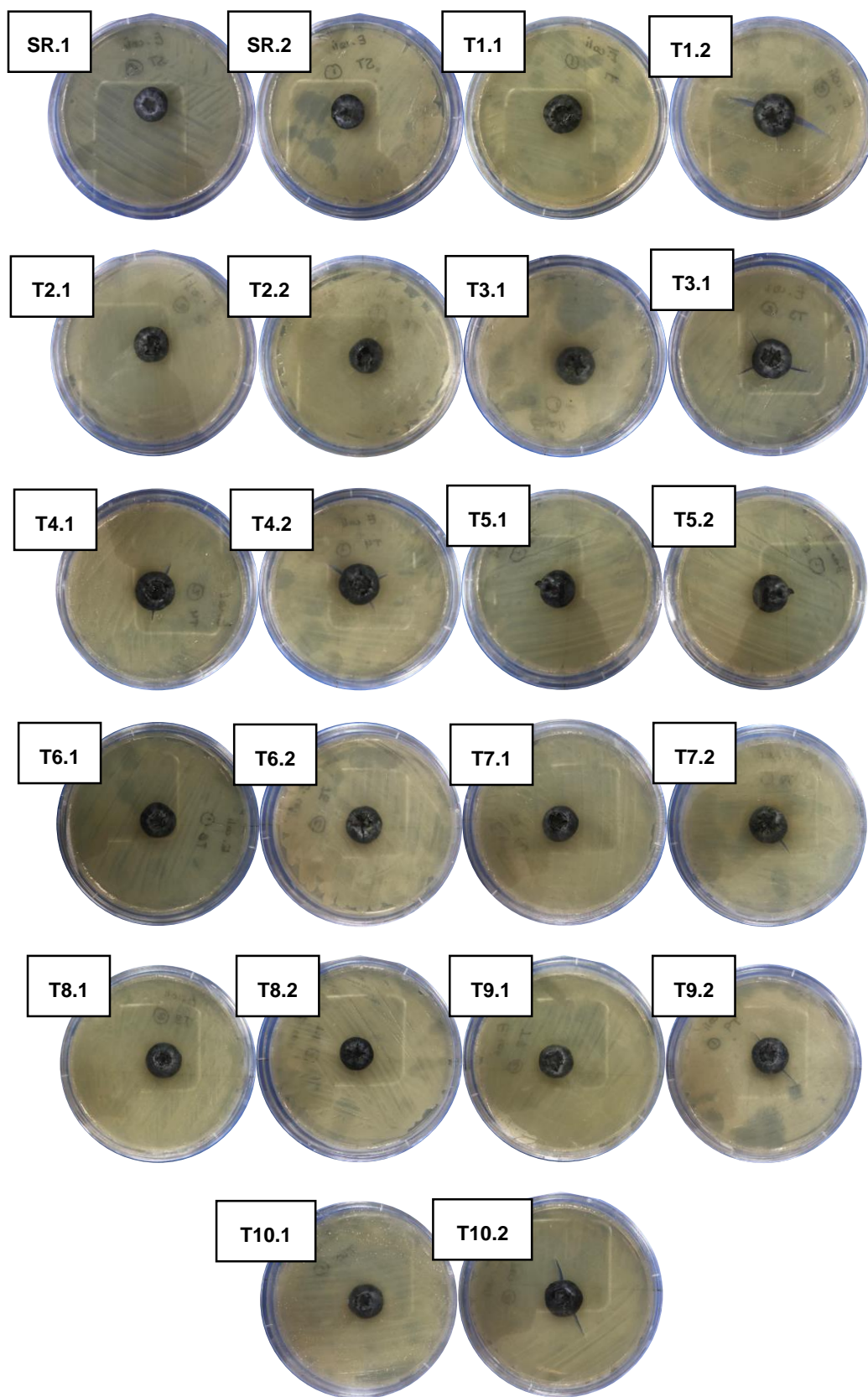


Figura 31. Resistencia antimicrobiana de *Escherichia Coli*

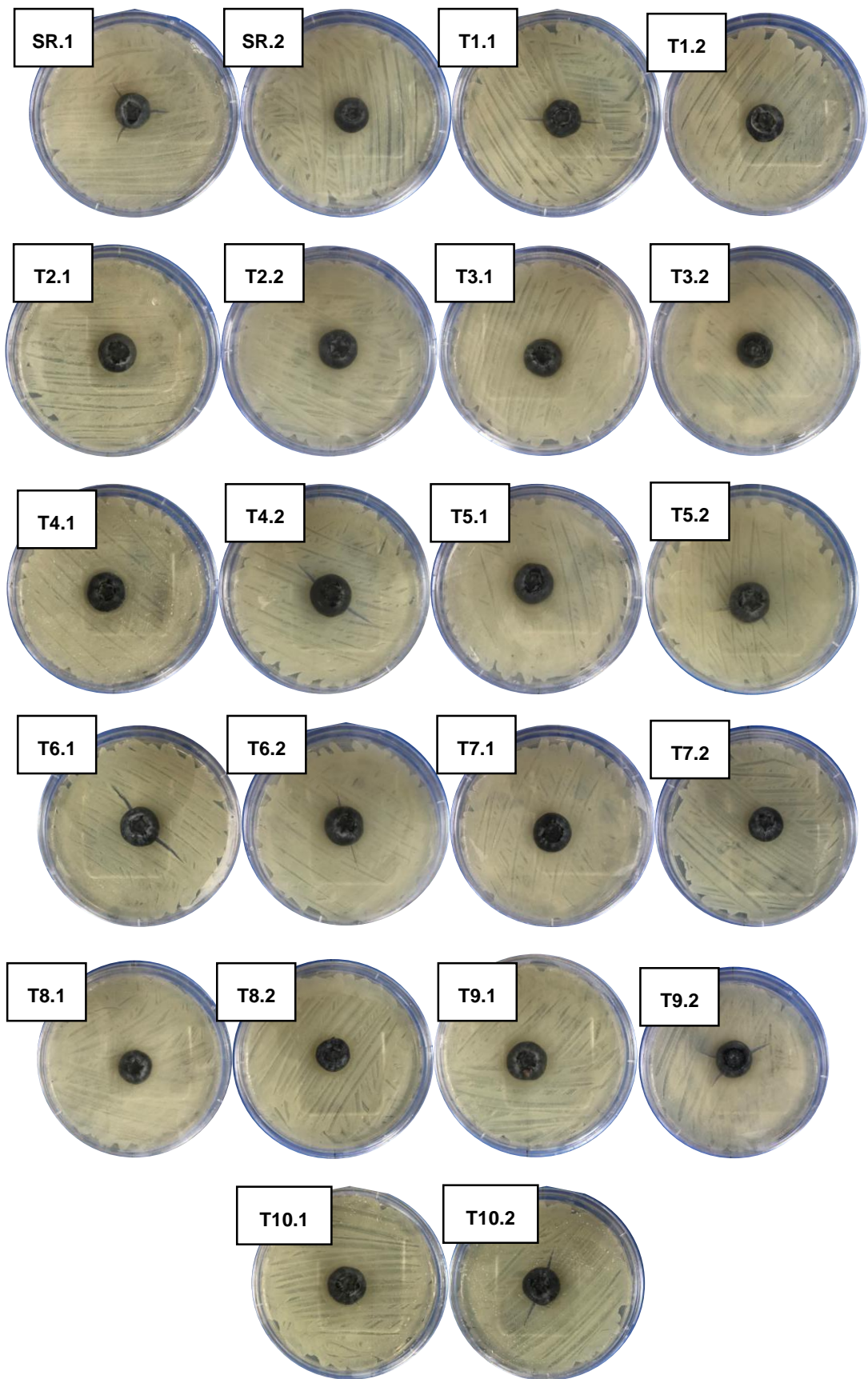


Figura 32. Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Los mejores parámetros para obtener el menor diámetro de gota (81.02 nm) de la nanoemulsión según el método ortogonal Taguchi L8, son: 0.3% de aceite esencial de canela, 5g de goma arábiga, 30 minutos de homogeneización, 10000 rpm y 60Hz de ultrasonido, donde el tiempo de homogeneización tuvo influencia en el tamaño de gota y se utilizó esta formulación para aplicarla a la elaboración del recubrimiento comestible.
- La caracterización de la materia y el análisis proximal fueron: 9.7 ± 0.003 °Brix, 0.73 ± 0.004 (g/100mL), 3.4 ± 0.04 pH, 0.961 ± 0.04 a_w , humedad 83.42 ± 0.04 %, ceniza 0.67 ± 0.01 %, fibra cruda 0.24 ± 0.00 %, proteína total 0.95 ± 0.01 %, grasas 0.26 ± 0.01 % y carbohidratos 14.47 ± 0.01 %.
- Al aplicar el recubrimiento comestible a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato de sodio en el arándano y emplear un diseño factorial 2^3 con un 1 punto central (10 tratamientos), mostró significancia en la luminosidad (L^*) donde el alginato de sodio (L) y (Q) fueron significativos, en la escala a^* el alginato de sodio (L), temperatura de secado (L), la interacción del alginato de sodio (Q) con la temperatura de secado (L) y la interacción del alginato de sodio (Q) y la temperatura de secado (Q) fueron significativos; por último, en la escala b^* el alginato de sodio (L), el alginato de sodio (Q), la temperatura de secado (L) y la interacción del alginato de sodio (Q) y la temperatura de secado (Q) fueron significativos. Sin embargo, al evaluar los °Brix, acidez titulable, actividad de agua y pH no se encontraron variables significativas.
- Al evaluar la actividad antimicrobiana de los arándanos recubiertos, se encontró una variable significativa en la inhibición del *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, que fue la temperatura de secado (Q), sin embargo, no se encontró significancia en la inhibición de la *Escherichia coli* ATCC 43888.

5.2 Recomendaciones

- Evaluar la sedimentación, floculación, engrosamiento de gotas y reología de la nanoemulsión del aceite esencial de canela.
- Evaluar la actividad antimicrobiana del recubrimiento de nanoemulsión de aceite esencial de canela sobre la *Bortrytis cinerea*.
- Elaborar y caracterizar películas comestibles a base de nanoemulsión de aceite esencial de canela y alginato de sodio.
- Evaluar efecto de la adición del recubrimiento comestible a temperatura de refrigeración.
- Realizar estudios para evaluar la estabilidad y los antioxidantes presentes en el arándano.
- Realizar evaluación sensorial del arándano control y recubierto.

REFERENCIAS

- A.O.A.C. (2005). Official methods of analysis of AOAC Internacional. 18 ed. Maryland, US, Editorial Board. 2v.
- Abanto, M. (2018). *Aplicación de dos recubrimientos comestibles quitosano y cera de abeja, para determinar el mejor efecto en la prolongación de la vida útil del arándano (Vaccinium corymbosum L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Cajamarca. Cajamarca, Perú.
- Acuña, L. (2015). *Estudio de pre-factibilidad para determinar la viabilidad de la instalación de una planta procesadora de arándano fresco tipo blueberry para la exportación* (Tesis inédita de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Aldaba, J., Concha, B., Enciso, V., y Carranza, J. (2016). Funcionalidad del arándano azul (*Vaccinium corymbosum L.*).
- Aranberri, I., Binks, B., Clint, J., y Fletcher, P. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 7(3).
- Arteaga, H., Espinoza, M., Aguilar, J., Gómez, E., Cabanillas, J., y Santa Cruz, M. (2015). Efecto de la osmodeshidratación de sobre el contenido de antocianinas y capacidad de rehidratación de arándanos (*Vaccinium corymbosum L.*) liofilizados. *Agroindustrial Science*. 5.
- Atencia, S. (2015). *Aplicación de aloe vera como recubrimiento comestible en arándano (Vaccinium corymbosum L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Huaraz, Perú.
- Ávila, R., & López, A. (2009). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles.
- Barba, M., Rodríguez, M., Guatemala, G., Arriola, E., y Espinosa, H. (2013). Efecto de los parámetros de procesamiento de la microfluidización sobre las propiedades fisicoquímicas de las nanoemulsiones (goma arábiga-aceite de linaza). *Memorias del XXIV Encuentro Nacional y III Congreso Internacional de la AMIDIQ*.
- Barrios de Leon, J. (2007). *Efectos sobre las características físicas y químicas de frutos de arándano cv. Elliot (Vaccinium corymbosum L.) bajo mallaje de sombra para el control de la madurez*.

(Tesis de maestría). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Baser, K., Buchbauer, G. (2010). *Essential oils: Science, technology, and applications*. U.S.A.:Editorial: CRC Press.

Belitz, H., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. Berlín: Springer.

Bello, J. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. Madrid, España: Editorial Díaz de Santos.

Cámara, M., Sanchez, M., y Torija, E. (2008). *Nutrición y salud*. Madrid, España: Grupo Elba.

Cardoso, G. y Jiménez, M. (2015). *Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones*. Universidad de las Américas Puebla.

Castañeda, M. (2015). *Efecto de la concentración de propóleo y alginato de sodio en cubierta comestible, temperatura y tiempo de almacenamiento en las características fisicoquímicas, fisiológicas y microbiológicas del arándano fresco (Vaccinium corymbosum L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

Cao, X., Huang, R., Chen, H. (2017). Evaluation of pulsed light treatments on inactivation of Salmonella on blueberries and its impact on shelf-life and quality attributes. *International Journal of Food Microbiology*. 260. 17-26.

Chilean Blueberry Committee. (2015). Defectos en arándanos. Recuperado de https://comitedearandanos.cl/wp-content/uploads/2015/08/06_DANOS_d.pdf

Chouhan, S., Sharma, K., Sanjay, G. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils: present status and future perspectives.

Corono, D., y Garduño, F. (2016). *Calidad bromatológica de líneas avanzadas de trigo (Triticum aestivum L.) evaluadas en tres localidades del Valle de Toluca* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México.

Cruañes, M., y Locaso, D. (2011). Quitosano: antimicrobiano biodegradable en postcosecha de arándanos (*Vaccinium myrtillus L.*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12(1). 57-63.

Dahll, R. (2016). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical*

- Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435-450, DOI: 10.1080/10408398.2010.541568.
- De Ancos, B., González, D., Colina C., y Sánchez C. (2015). Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. Instituto de ciencia y tecnología de alimentos y nutrición.
- Defilippi, B., Robledo, P., & Becerra, C. (2013). Manejo de cosecha y poscosecha en arándano. *Manual del arándano*.
- Díaz, M. (2003). Evaluación preliminar de la vida de anaquel de papaya tratada osmóticamente con películas de quitosano. *Universidad de las Américas Puebla*.
- Duan, J., Wu, R., Strik, B., & Zhao, W. (2011). Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliot) under commercial storage conditions. *Postharvest biology and technology*. 59(2011). 71-79.
- Dussán, S., Torres, C., y Reyes, P. (2014). Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos fisicoquímicos de mango 'Tommy Atkins' mínimamente procesado y refrigerado. *Universidad Nacional de Colombia*. 63(3).
- Fennema, O. (2013). Química de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia.
- Fernández, D., Bautista, D., Ocampo, A., García, A., y Falcón, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista ciencias técnicas agropecuarias*. 24(3). 52-57.
- Fernández, N., Echevarría, D., Mosquera, S., y Paz, S. (2017). Estado actual del uso de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 15(2). 134-141.
- Ferriño, E., Pedroza, G., Sandoval, N., Martínez, E., Mendoza, L., y Balderas, L. (2010). Ensayo químico dirigido y estudio del efecto antimicrobiano in vitro de algunos condimentos empleados en la cocina mexicana. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 10. 23-25
- Figueroa, D., Guerrero, J., Bensch, T. (2010). Efecto de momento de cosecha y permanencia en huerto sobre la calidad en poscosecha de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.), cvs. Berkeley, Brigitta y Elliot durante la temporada 2005-2006. *IDESIA* 28(1).

- Figuroa, J., Salcedo, J., y Narváez, G. (2013). Efecto de recubrimientos comestibles a base de almidón nativo y oxidado de yuca sobre la calidad de mango (*Tommy Atkins*). *Temas agrarios*. 18(2). 94-105.
- Flores, G. (2016). *Elaboración de nanoestructuras poliméricas para la estabilización de componentes bioactivos* (Tesis de doctorado). Instituto Politécnico Nacional. México D.F., México.
- Galán, J. (2008). *Influencia de la temperatura en las propiedades micelares de sales cuaternarias de amonio en disolución acuosa* (Tesis de doctorado). Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España.
- Galleta, G., Ballinger, W., Monroe, R., & Kushman, L. (1990). Relationships between fruit acidity and soluble solids levels of highbush blueberry clones and fruit keeping quality. *American Society for Horticultural Science*. 18(1). 71-76.
- Gamboa, W. y Silva, J. (2018). *Determinación de la temperatura y concentración de la solución osmótica en la deshidratación del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Santa. Chimbote, Perú.
- García, J., Gonzáles, G., y Ciordia, M. (2018). El cultivo del arándano en el norte de España. *Dirección general de desarrollo rural y agroalimentación*.
- García, O. (2013). *Detección temprana de daños mecánicos por golpe en el manejo poscosecha de la manzana Fuji a través de imágenes hiperespectrales* (Tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Ginez, P. y Godoy, M. (2018). *Formulación de un recubrimiento comestible preservante de arándano empleando mucílago extraído de la penca de tuna (*Opuntia ficus-indica*)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Callao. Callao, Perú.
- Gómez, A. (2014). *Formulación y caracterización de nano-emulsiones de aceite de parafina tipa agua-en-aceite (W/O)* (Tesis de maestría). Centro de investigación en materiales avanzados. Monterrey, México.
- Gómez, A. & López, A. (2009). Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*). *Departamento de Ingeniería Química*

y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla. 3(1). 33-45.

- González, M. (2011). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*). *Departamento de Química: Escuela Superior Técnica de Chimborazo*.
- Haro, A. (2004). *Estudio de la conservación de arándanos (Vaccinium corymbosum) cv. Elliot, mediante deshidratación osmótica y secado por aire. Determinación de condiciones experimentales óptimas de procesamiento* (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Helander, I., Alakomi, H., Latva-Kala, K., Mattila-Sandhom, T., Pol, I., Smid, E., Gorris, L., & Von, A. (1998). Characterization of the action of selectes essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal and Agricultural and Food Chemistry*. 46.3590-3595-
- Hernández, L., Gonzalez, A., Gutiérrez, N., Muñoz, L., y Quintero A. (2011). Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporando aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(3). 455-463.
- Hernández, P., Almenar, E., Del Valle, V., Velez, D. & Gavara D. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 110. 428-435.
- Herrera, N. (2011). *Evaluación de aceites esenciales de canela y nuez de moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (Rubus glaucus Benth)* (Tesis de pregrado). Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia.
- Horacio, J. (2000). Manejo postcosecha de frutas y hortalizas. *Municipio de Granada*.
- Hubbard, N., Pharr, D., & Huber, S. (1990). Role of sucrose synthase in sucrose biosynthesis in ripening bananas and its relationship to the respiratory climateric. *Department of Horticultural Science*. 94. 201-208.
- Jimenez, G. (2014). *Efecto de la concentración de clara de huevo y tiempo de batido sobre las características físicas de espuma de pulpa de arándano (Vaccinium corymbosum L.) variedad*

- Biloxi con fines de deshidratación* (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.
- Jung, H. & Aristippos, G. (2005). Edible films and coatings: a review. *Innovations in Food Packaging*.
- Kosegarten, C. y Jiménez, M. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 6(2). 1-18.
- Márquez, B. (2014). *Cenizas y grasas* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa, Perú.
- Márquez, C., Trillo, O., Cartagena, J., y Cotes, J. (2009). Evaluación fisicoquímica y sensorial de frutos de uchuva (*Physalis peruviana L.*). *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 16(1). 42-48.
- Márquez, D., Galeano, E., y Martínez, A. (2013). Productos naturales con actividad microbiana parte I. *Revista de la Facultad de Química farmacéutica*. 10(2). 61-71.
- Mejía, M., Murillo, A., Suazo, H., Catarino, J., Rodríguez, E., Espinal, O., y Avelar G. (2008). Brote por *Staphylococcus aureus* en una guardería infantil en Choluteca, Honduras. *Field Epidemiology Training Programs (FETP)*. 77(2). 57-98.
- Méndez, D., Quintero, J., Váquiro, H., y Solanilla, J. (2015). Alginato de sodio en el desarrollo de películas comestibles. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 5(2). 089-113.
- Mihai, A. (2016). *Emulsions: Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. United Kingdom: Elsevier Editorial.
- Miller, B., Rigdon, C., Robinson, T., Hedberg, C., & Smith, K. (2010). Use of global trade item numbers in the investigation of a salmonella newport outbreak associated with blueberries in Minnesota. *Journal of Food Protection*. 76(5).
- Ministerio de Agricultura y Riego. (MINAGRI). (2016). El arándano en el Perú y el mundo: Producción, comercio y perspectivas.
- Moleyar, V. & Narasimham, P. (1992). Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*. 16. 337-342.
- Moreno, M. (2013). *Desarrollo de nanoemulsiones de aceites esenciales cítricos estabilizadas con*

- gomas de origen natural* (Tesis de maestría). Centro de investigación en materias avanzadas. Nuevo León, México.
- Muñoz, J., Alfaro, M., y Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y aceites*. 58(1). 64-73.
- Noboa, G., Márquez, L., y López, J. (2017). Tamaño de gota: factor determinante sobre la velocidad de clarificación de una emulsión o/w. *Revista Ciencia e Ingeniería*. 38(3). 259-264.
- Núñez, A., NeSmith, S., Sánchez, E., Prussia, S., y Soto, J. (2005). Influencia de métodos de cosecha y temperaturas de almacenamiento en la calidad del arándano. *Revista Filotecnia Mexicana*. 28(4).
- Pasquel, A. (2001). Gomas: una aproximación a la industria de alimentos. *Revista Amazónica de investigación*. 1(1). 1-8.
- Pastor, C. (2010). *Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa: caracterización y aplicación* (Tesis de doctorado). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- Pastrana, Y., Durango, A., y Acevedo, D. (2017). Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 15(1). 56-65.
- Pérez, A., Aristizábal, I., y Restrepo, J. (2016). Conservación de mango Tommy Atkins mínimamente procesado mediante la aplicación de un recubrimiento de aloe vera (*Aloe barbandensis miller*). *Revista de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y alimentarias*, 23(1). 65-77.
- Pérez, G., Serra, M., Alonso, M., Mateos, M., y Del Río, M. (2013). Aplicación de recubrimientos comestibles a base de proteína láctea y cera de abeja a manzana cortada en fresco: efecto en el pardeamiento. *X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*.
- Pérez, R. (2009). *Aplicación de microondas en el tratamiento de emulsiones del tipo agua en aceite (w/o) y aceite en agua (o/w)* (Tesis de doctorado). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Pinedo, S. (2018). Caracterización fisicoquímica y organoléptica de variedades comerciales de arándanos y otras especies del género *Vaccinium* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Amazonas, Perú.

- Pino, C. (2007). *Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos de cuatro clones de arándano alto (Vaccinium corymbosum L.)* (Tesis de licenciatura). Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Pinzón, I., Fischer, G., y Corredor, G. (2007). Determinación de los estados de madurez del fruto de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Universidad Nacional de Colombia*.
- Plasencia, D. (2010). *Estudio de la proteína de quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) y quitosano como película comestible y su aplicación en la vida útil post-cosecha en arándanos (Vaccinium corymbosum L., O'Neal)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Trujillo. Facultad de ciencias agropecuarias. Trujillo-Perú.
- Ramírez, N., Baena, Y., y Osorio, C. (2019). Caracterización fisicoquímica de emulsiones aceite/agua a partir de achuva (*Physalis peruviana*) como ingrediente para la industria alimenticia. *Información Tecnológica*. 30(3). 147-156.
- Rettig, K. y Hen, A. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Instituto de ciencia y tecnología de alimentos* 42(2).
- Reyes, P. y Di Scipio, S. (2012). Caracterización físico-química de emulsiones de aceite de maíz en agua. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.* 27(1). 56-69.
- Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Revista Ra Ximahi*. 7(1). 153-170.
- Rojas, A., Avena, R., Olsen, C., Friedman, M., Henika, P., Martín, O. Pan, Z., & McHugh, T. (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*. 81. 634-641.
- Rojas, M., Soliva, R., & Martin, O.(2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Department of Food Technology*, 20(10). Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224409001769>.
- Ruboglio, E. y Tesone, S. (2007). Escherichia coli O157:H7: presencia en alimentos no cárnicos. *Archivos Argentinos de Pediatría*. 105(3). 193-194.
- Santa Cruz, L. (2018). *Evaluación del tiempo de vida útil del arándano (Vaccinium corymbosum)*

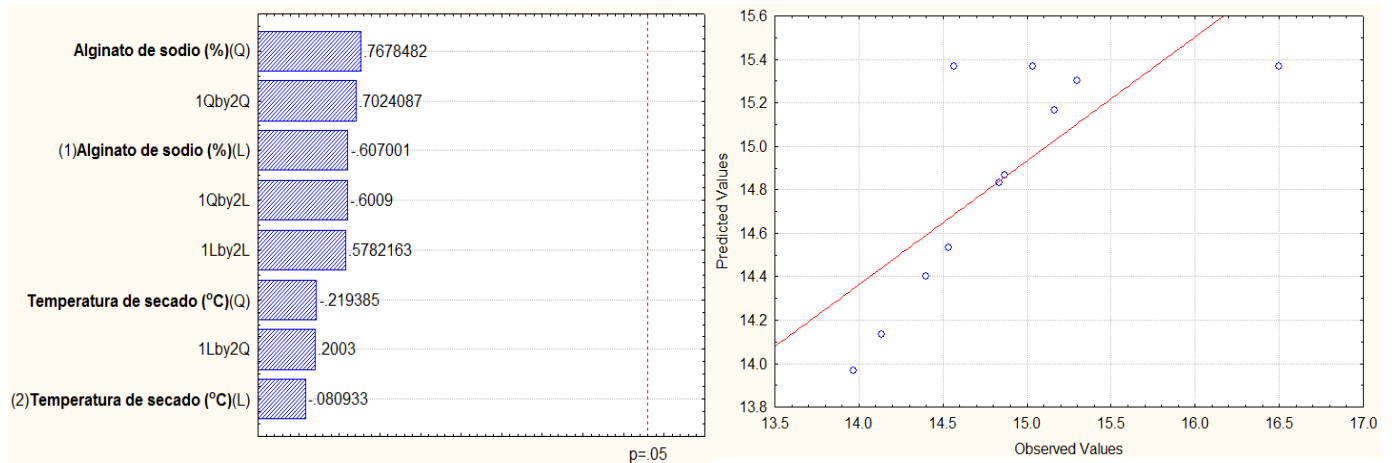
- fresco variedad azul, almacenado en atmósfera modificada* (Tesis de pregrado). Universidad Señor de Sipán. Chiclayo, Perú.
- Shiva, C. (2007). *Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento* (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.
- Solano, L., Alamilla, L., Jiménez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Revista especializada en ciencias químicas-biológicas*. 21(2).
- Soto, G. y Guablocho, Y. (2016). *Evaluación de la temperatura y concentración de dos agentes osmodeshidratantes en la obtención de Vaccinium Myrtillus "arándano" deshidratado* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Chachapoyas, Perú.
- Stückrath, R., y Petzold, G. (2007). Formulación de una pasta gelificada a partir del descarte de arándanos (*Vaccinium corymbosum*). *Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 18(2). 53-60.
- Torres, C., Báez, J., Amaya C., Núñez, A., y Alanis, M. (2016). Desarrollo de emulsiones con aceite esencial de naranja formuladas con diferentes polímeros. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de alimentos*. 1(2). 850-856.
- Tutku, S., Halil, M., & Soyer, Y. (2017). Cinnamon oil nanoemulsions by spontaneous emulsification: Formulation, characterization and antimicrobial activity. *Food Science and Technology*.
- United States Department of Agriculture (USDA). (2002). Blueberries.
- Valderrama, N., Algecira, N., y Albaracin, W. (2016). Efecto del almacenamiento sobre las propiedades físicas de las películas de quitosano con inclusión de aceites esenciales de tomillo y romero. *Revista Materia*. 21(1). 141-156.
- Vásquez, M. y Guerrero, J. (2013). Recubrimientos de frutas con biopelículas. *Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental*.
- Wan, J., Zhong, S., Shwarz, P., Chen, B., & Rao, J. (2019). Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters. *Food Chemistry*. 291. 199-206

- Velásquez, I. y Pereira, J. (2014). Emulsiones de agua en crudo. Aspectos generales. *Revista Ingeniería UC*. 21(3). 45-54.
- Yaman, O. & Bayoindirli, L. (2002). Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Food Science and Technology*. 35(2). 146-150.
- Zapata, L., Heredia, A., Malleret, A., Quinteros, F., Cives, H., y Carlazara, G. (2013). Evaluación de parámetros de calidad que ayuden a definir la frecuencia de recolección de bayas de arándanos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 14(2). 186-194.
- Zhang, S., Min, S., Fang, Z., & Liu, Y. (2016). Preparation and characterization of blended cloves/cinnamon essential oil nanoemulsions. *Food Science and Technology*. 10(16).

ANEXOS

Anexo 1. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de °Brix

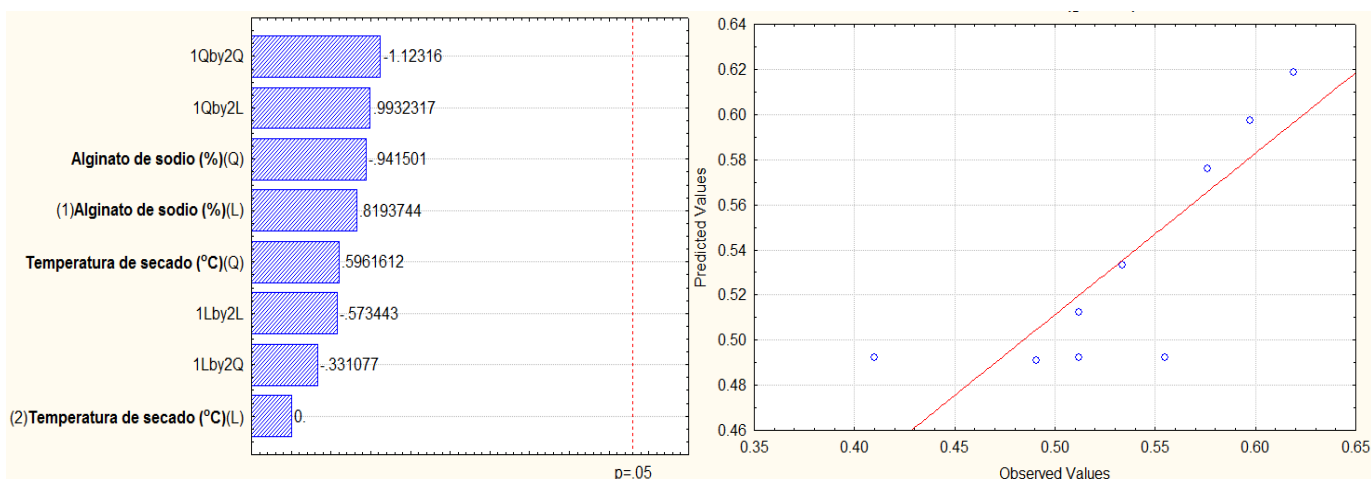
Effect Estimates; Var.: (°Brix); R-sqr=.57021; Adj:0. (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=1.017778 DV: (°Brix)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	14.72963	0.323589	45.51960	0.000482	13.33734	16.12192	14.72963	0.323589	13.33734	16.12192
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-0.50000	0.823722	-0.60700	0.605582	-4.04419	3.04419	-0.25000	0.411861	-2.02210	1.52210
Alginato de sodio (%) (Q)	0.50556	0.658406	0.76785	0.522845	-2.32734	3.33845	0.25278	0.329203	-1.16367	1.66922
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-0.06667	0.823722	-0.08093	0.942865	-3.61086	3.47752	-0.03333	0.411861	-1.80543	1.73876
Temperatura de secado (°C) (Q)	-0.14444	0.658406	-0.21939	0.846705	-2.97734	2.68845	-0.07222	0.329203	-1.48867	1.34422
1L by 2L	0.58333	1.008850	0.57822	0.621550	-3.75740	4.92406	0.29167	0.504425	-1.87870	2.46203
1L by 2Q	0.17500	0.873689	0.20030	0.859766	-3.58418	3.93418	0.08750	0.436845	-1.79209	1.96709
1Q by 2L	-0.52500	0.873689	-0.60090	0.608937	-4.28418	3.23418	-0.26250	0.436845	-2.14209	1.61709
1Q by 2Q	0.44583	0.634721	0.70241	0.555168	-2.28515	3.17682	0.22292	0.317360	-1.14257	1.58841



Regr. Coefficients; Var.: (°Brix); R-sqr=.57021; Adj:0. (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs , 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=1.017778 DV: (°Brix)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	1053.17	1619.03	0.650493	0.582118	-5912.9	8019.28
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-6847.67	10899.34	-0.628264	0.594010	-53743.7	40048.41
Alginato de sodio (%) (Q)	11140.00	18136.11	0.614244	0.601618	-66893.4	89173.40
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-75.13	108.99	-0.689277	0.561876	-544.1	393.83
Temperatura de secado (°C) (Q)	1.31	1.81	0.721213	0.545692	-6.5	9.11
1L by 2L	497.97	733.60	0.678796	0.567282	-2658.5	3654.40
1L by 2Q	-8.70	12.21	-0.712725	0.549950	-61.2	43.82
1Q by 2L	-814.00	1220.67	-0.666849	0.573503	-6066.1	4438.10
1Q by 2Q	14.27	20.31	0.702409	0.555168	-73.1	101.66

Anexo 2. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de acidez titulable

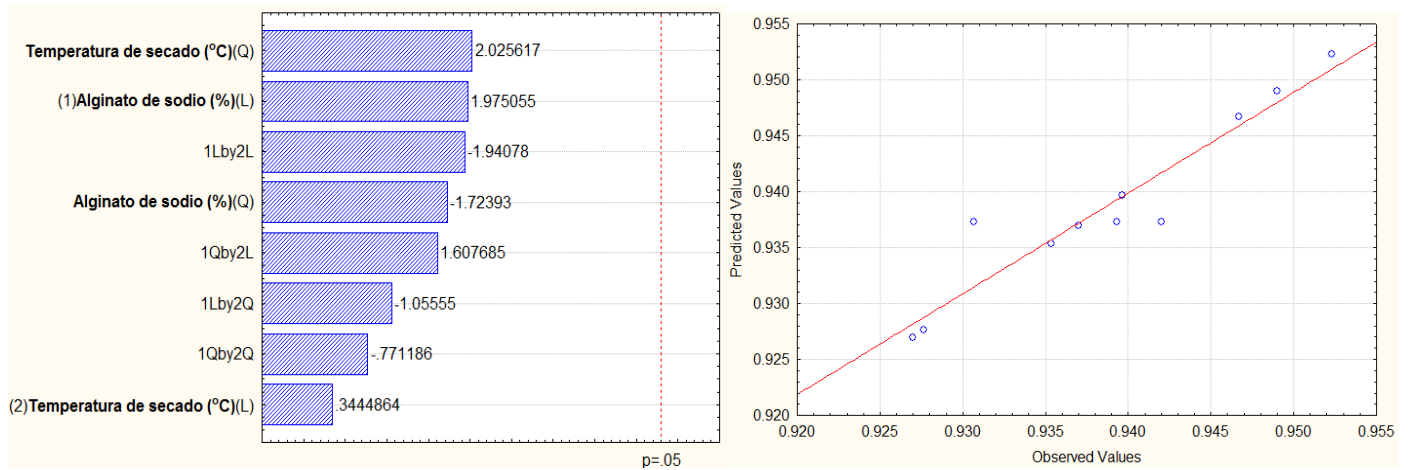
Effect Estimates; Var.: Acidez titulable ; R-sqr=.71564; Adj:0. (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0055395										
DV: Ácido titulable										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.550266	0.023873	23.05002	0.001877	0.447550	0.652982	0.550266	0.023873	0.447550	0.652982
(1)Alginato de sodio (%)(L)	0.049793	0.060770	0.81937	0.498680	-0.211679	0.311265	0.024897	0.030385	-0.105839	0.155633
Alginato de sodio (%)(Q)	-0.045732	0.048574	-0.94150	0.445833	-0.254728	0.163264	-0.022866	0.024287	-0.127364	0.081632
(2)Temperatura de secado (°C)(L)	0.000000	0.060770	0.00000	1.000000	-0.261472	0.261472	0.000000	0.030385	-0.130736	0.130736
Temperatura de secado (°C)(Q)	0.028958	0.048574	0.59616	0.611554	-0.180038	0.237954	0.014479	0.024287	-0.090019	0.118977
1L by 2L	-0.042680	0.074428	-0.57344	0.624231	-0.362916	0.277556	-0.021340	0.037214	-0.181458	0.138778
1L by 2Q	-0.021340	0.064456	-0.33108	0.772056	-0.298673	0.255993	-0.010670	0.032228	-0.149336	0.127996
1Q by 2L	0.064020	0.064456	0.99323	0.425264	-0.213313	0.341353	0.032010	0.032228	-0.106656	0.170676
1Q by 2Q	-0.052593	0.046826	-1.12316	0.378083	-0.254071	0.148884	-0.026297	0.023413	-0.127036	0.074442



Regr. Coeficientes; Var.: Acidez titulable ; R-sqr=.71564; Adj:0. (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0055395						
DV: Ácido titulable						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-122.05	119.443	-1.02179	0.414353	-635.97	391.877
(1)Alginato de sodio (%)(L)	806.96	804.097	1.00356	0.421283	-2652.79	4266.706
Alginato de sodio (%)(Q)	-1314.70	1337.988	-0.98259	0.429408	-7071.60	4442.200
(2)Temperatura de secado (°C)(L)	8.87	8.041	1.10308	0.384971	-25.73	43.467
Temperatura de secado (°C)(Q)	-0.15	0.134	-1.15804	0.366450	-0.73	0.421
1L by 2L	-58.62	54.121	-1.08320	0.391933	-291.49	174.241
1L by 2Q	1.03	0.901	1.14027	0.372322	-2.85	4.902
1Q by 2L	95.86	90.054	1.06444	0.398634	-291.62	483.330
1Q by 2Q	-1.68	1.498	-1.12316	0.378083	-8.13	4.764

Anexo 3. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de actividad de agua

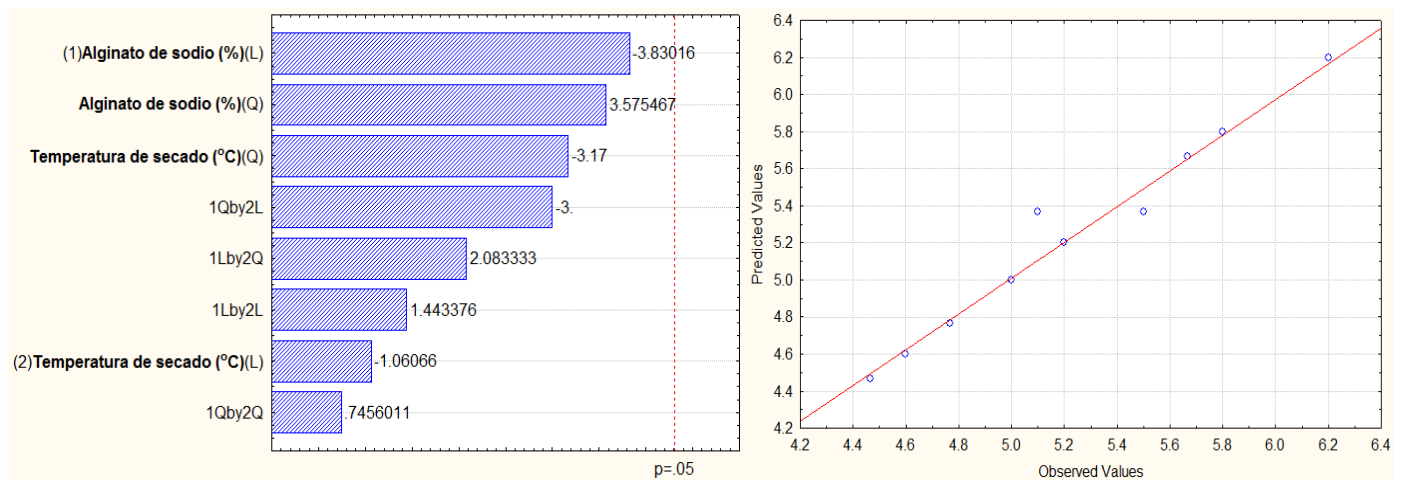
Effect Estimates; Var.:Actividad de agua (Aw); R-sqr=.90039; Adj:.50193 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0000351										
DV: Actividad de agua (Aw)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.939111	0.001901	494.1148	0.000004	0.930934	0.947289	0.939111	0.001901	0.930934	0.947289
(1)Alginato de sodio (%) (L)	0.009556	0.004838	1.9751	0.186941	-0.011261	0.030372	0.004778	0.002419	-0.005631	0.015186
Alginato de sodio (%) (Q)	-0.006667	0.003867	-1.7239	0.226862	-0.023306	0.009972	-0.003333	0.001934	-0.011653	0.004986
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	0.001667	0.004838	0.3445	0.763332	-0.019150	0.022483	0.000833	0.002419	-0.009575	0.011242
Temperatura de secado (°C) (Q)	0.007833	0.003867	2.0256	0.180062	-0.008806	0.024472	0.003917	0.001934	-0.004403	0.012236
1L by 2L	-0.011500	0.005925	-1.9408	0.191807	-0.036995	0.013995	-0.005750	0.002963	-0.018498	0.006998
1L by 2Q	-0.005417	0.005132	-1.0556	0.401855	-0.027496	0.016663	-0.002708	0.002566	-0.013748	0.008331
1Q by 2L	0.008250	0.005132	1.6077	0.249159	-0.013829	0.030329	0.004125	0.002566	-0.006915	0.015165
1Q by 2Q	-0.002875	0.003728	-0.7712	0.521245	-0.018915	0.013165	-0.001437	0.001864	-0.009458	0.006583



Regr. Coefficients; Var.:Aw; R-sqr=.90039; Adj:.50193 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0000351						
DV: Aw						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-5.9207	9.5093	-0.622616	0.597065	-46.836	34.9947
(1)Alginato de sodio (%) (L)	39.8933	64.0171	0.623167	0.596767	-235.550	315.3367
Alginato de sodio (%) (Q)	-58.8000	106.5222	-0.551998	0.636395	-517.128	399.5279
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	0.5332	0.6402	0.832850	0.492545	-2.221	3.2876
Temperatura de secado (°C) (Q)	-0.0097	0.0107	-0.914364	0.457048	-0.056	0.0361
1L by 2L	-3.1990	4.3088	-0.742434	0.535180	-21.738	15.3403
1L by 2Q	0.0595	0.0717	0.830362	0.493672	-0.249	0.3680
1Q by 2L	4.8600	7.1696	0.677865	0.567765	-25.988	35.7081
1Q by 2Q	-0.0920	0.1193	-0.771186	0.521245	-0.605	0.4213

Anexo 4. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto del pH

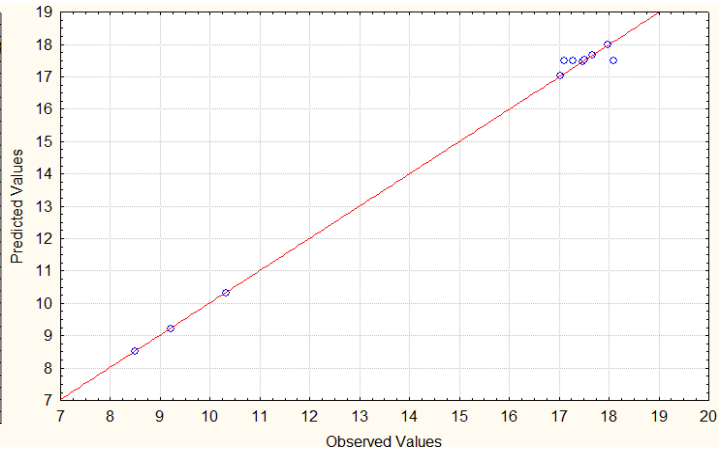
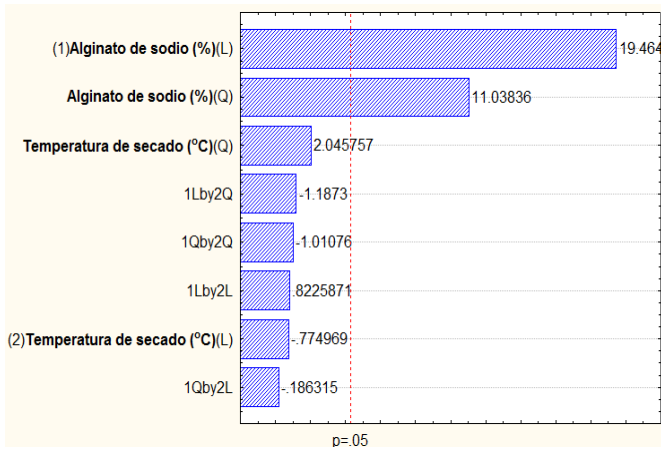
Effect Estimates; Var.:pH; R-sqr=.96271; Adj.:81356 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0533333 DV: pH										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt
Mean/Interc.	5.229630	0.074074	70.60000	0.000201	4.91091	5.548345	5.229630	0.074074	4.910915	5.548345
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-0.722222	0.188562	-3.83016	0.061904	-1.53354	0.089094	-0.361111	0.094281	-0.766769	0.044547
Alginato de sodio (%) (Q)	0.538889	0.150718	3.57547	0.070098	-0.10960	1.187378	0.269444	0.075359	-0.054800	0.593689
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-0.200000	0.188562	-1.06066	0.400000	-1.01132	0.611316	-0.100000	0.094281	-0.505658	0.305658
Temperatura de secado (°C) (Q)	-0.477778	0.150718	-3.17000	0.086759	-1.12627	0.170711	-0.238889	0.075359	-0.563133	0.085356
1L by 2L	0.333333	0.230940	1.44338	0.285714	-0.66032	1.326988	0.166667	0.115470	-0.330161	0.663494
1L by 2Q	0.416667	0.200000	2.08333	0.172621	-0.44386	1.277197	0.208333	0.100000	-0.221932	0.638599
1Q by 2L	-0.600000	0.200000	-3.00000	0.095466	-1.46053	0.260531	-0.300000	0.100000	-0.730265	0.130265
1Q by 2Q	0.108333	0.145297	0.74560	0.533628	-0.51683	0.733494	0.054167	0.072648	-0.258414	0.366747



Regr. Coefficients; Var.:pH; R-sqr=.96271; Adj.:81356 (3**(2-0) full factorial design 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0533333 DV: pH						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95. % Cnf.Limt	+95. % Cnf.Limt
Mean/Interc.	243.47	370.619	0.656920	0.578720	-1351.2	1838.11
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-1165.67	2495.015	-0.467198	0.686315	-11900.8	9569.52
Alginato de sodio (%) (Q)	1406.67	4151.615	0.338824	0.767009	-16456.3	19269.63
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-21.50	24.950	-0.861718	0.479660	-128.9	85.85
Temperatura de secado (°C) (Q)	0.43	0.415	1.024501	0.413334	-1.4	2.21
1L by 2L	116.67	167.932	0.694725	0.559084	-605.9	839.22
1L by 2Q	-2.41	2.794	-0.863669	0.478802	-14.4	9.61
1Q by 2L	-160.00	279.428	-0.572598	0.624707	-1362.3	1042.28
1Q by 2Q	3.47	4.649	0.745601	0.533628	-16.5	23.47

Anexo 5. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la luminosidad (L*)

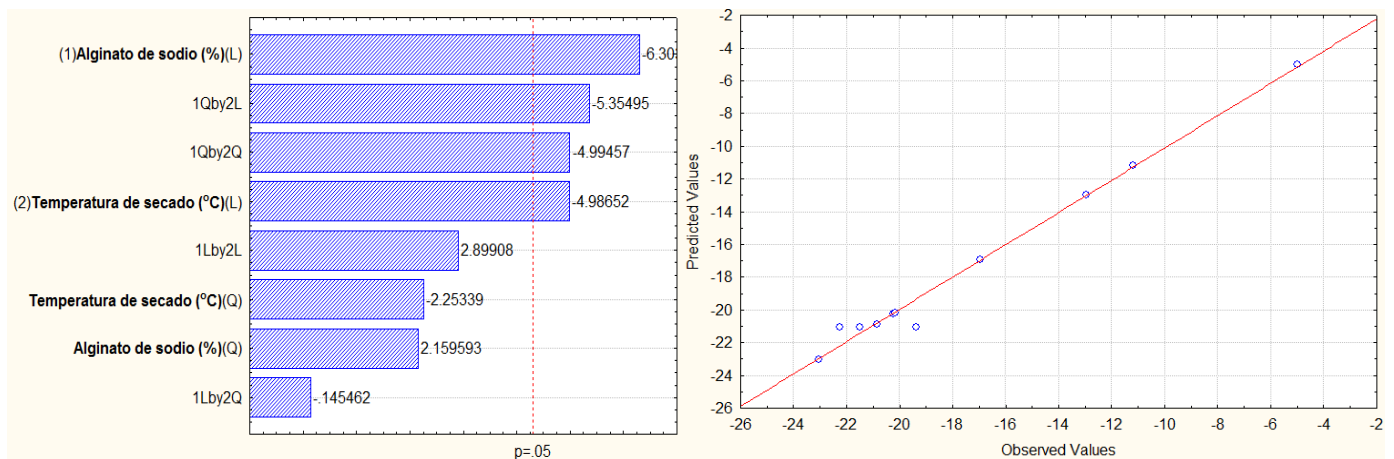
Effect Estimates; Var.: Colorimetria (L*); R-sqr=.99626; Adj.:.9813 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.2775111 DV: Colorimetria (L*)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	14.79889	0.168969	87.58345	0.000130	14.07187	15.52590	14.79889	0.168969	14.07187	15.52590
(1)Alginato de sodio (%) (L)	8.37222	0.430125	19.46463	0.002629	6.52154	10.22290	4.18611	0.215062	3.26077	5.11145
Alginato de sodio (%) (Q)	3.79500	0.343801	11.03836	0.008107	2.31574	5.27426	1.89750	0.171901	1.15787	2.63713
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-0.33333	0.430125	-0.77497	0.519438	-2.18401	1.51734	-0.16667	0.215062	-1.09201	0.75867
Temperatura de secado (°C) (Q)	0.70333	0.343801	2.04576	0.177417	-0.77592	2.18259	0.35167	0.171901	-0.38796	1.09129
1L by 2L	0.43333	0.526793	0.82259	0.497211	-1.83328	2.69994	0.21667	0.263397	-0.91664	1.34997
1L by 2Q	-0.54167	0.456216	-1.18730	0.357010	-2.50461	1.42127	-0.27083	0.228108	-1.25230	0.71064
1Q by 2L	-0.08500	0.456216	-0.18632	0.869384	-2.04794	1.87794	-0.04250	0.228108	-1.02397	0.93897
1Q by 2Q	-0.33500	0.331433	-1.01076	0.418530	-1.76104	1.09104	-0.16750	0.165717	-0.88052	0.54552



Regr. Coefficients; Var.: Colorimetria (L*); R-sqr=.99626; Adj.:.9813 (3**(2-0) full factorial design 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.2775111 DV: Colorimetria (L*)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-1129.8	845.411	-1.33636	0.313184	-4767.3	2507.74
(1)Alginato de sodio (%) (L)	7155.3	5691.332	1.25723	0.335592	-17332.5	31643.13
Alginato de sodio (%) (Q)	-11191.3	9470.174	-1.18175	0.358781	-51938.2	29555.54
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	66.6	56.913	1.17040	0.362427	-178.3	311.49
Temperatura de secado (°C) (Q)	-1.1	0.947	-1.16689	0.363563	-5.2	2.97
1L by 2L	-415.1	383.067	-1.08371	0.391752	-2063.3	1233.07
1L by 2Q	6.9	6.374	1.07709	0.394102	-20.6	34.29
1Q by 2L	650.0	637.398	1.01977	0.415115	-2092.5	3392.50
1Q by 2Q	-10.7	10.606	-1.01076	0.418530	-56.4	34.91

Anexo 6. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la escala a*

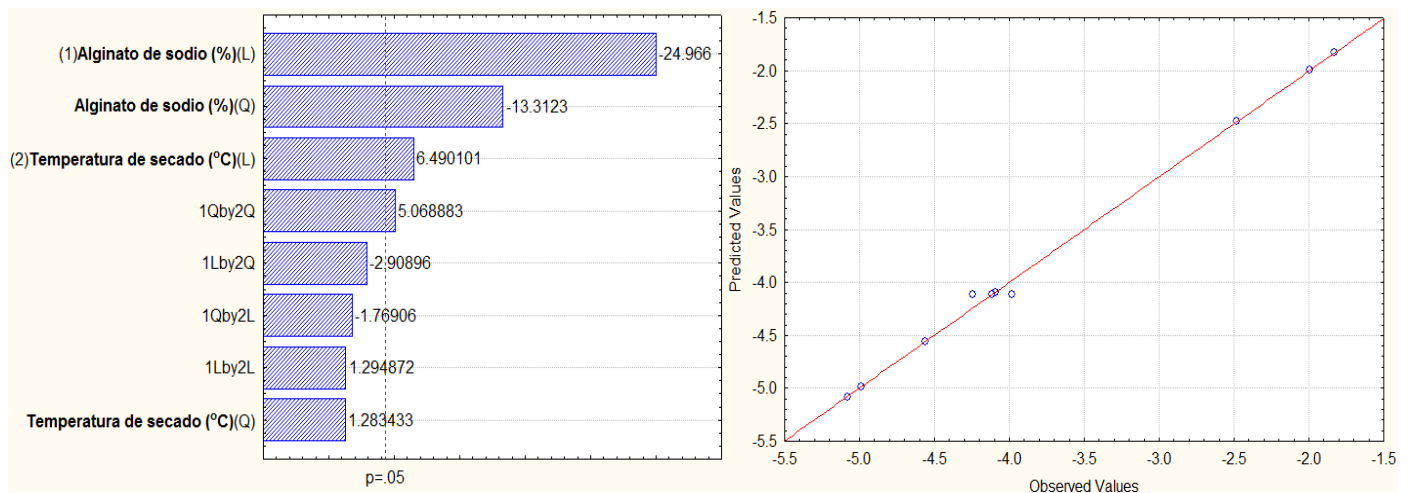
Effect Estimates; Var.:Colorimetria (a*); R-sqr=.98598; Adj.:92992 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=2.215344 DV: Colorimetria (a*)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-16.8252	0.477406	-35.2430	0.000804	-18.8793	-14.7711	-16.8252	0.477406	-18.8793	-14.7711
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-7.6600	1.215276	-6.3031	0.024258	-12.8889	-2.4311	-3.8300	0.607638	-6.4445	-1.2155
Alginato de sodio (%) (Q)	2.0978	0.971377	2.1596	0.163416	-2.0817	6.2773	1.0489	0.485688	-1.0409	3.1386
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-6.0600	1.215276	-4.9865	0.037942	-11.2889	-0.8311	-3.0300	0.607638	-5.6445	-0.4155
Temperatura de secado (°C) (Q)	-2.1889	0.971377	-2.2534	0.152991	-6.3684	1.9906	-1.0944	0.485688	-3.1842	0.9953
1L by 2L	4.3150	1.488403	2.8991	0.101235	-2.0891	10.7191	2.1575	0.744202	-1.0445	5.3595
1L by 2Q	-0.1875	1.288995	-0.1455	0.897683	-5.7336	5.3586	-0.0938	0.644498	-2.8668	2.6793
1Q by 2L	-6.9025	1.288995	-5.3549	0.033149	-12.4486	-1.3564	-3.4513	0.644498	-6.2243	-0.6782
1Q by 2Q	-4.6771	0.936433	-4.9946	0.037827	-8.7062	-0.6479	-2.3385	0.468217	-4.3531	-0.3240



Regr. Coefficients; Var.:a*; R-sqr=.98598; Adj.:92992 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=2.215345 DV: a*						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-13076	2388.63	-5.47428	0.031787	-23353	-2798.6
(1)Alginato de sodio (%) (L)	89563	16080.31	5.56976	0.030756	20375	158751.4
Alginato de sodio (%) (Q)	-149611	26757.06	-5.59145	0.030528	-264737	-34484.3
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	836	160.80	5.20054	0.035043	144	1528.1
Temperatura de secado (°C) (Q)	-13	2.68	-4.92506	0.038841	-25	-1.7
1L by 2L	-5720	1082.32	-5.28467	0.033992	-10377	-1062.9
1L by 2Q	90	18.01	4.99471	0.037825	12	167.4
1Q by 2L	9532	1800.91	5.29300	0.033890	1784	17280.9
1Q by 2Q	-150	29.97	-4.99457	0.037827	-279	-20.7

Anexo 7. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de la escala b*

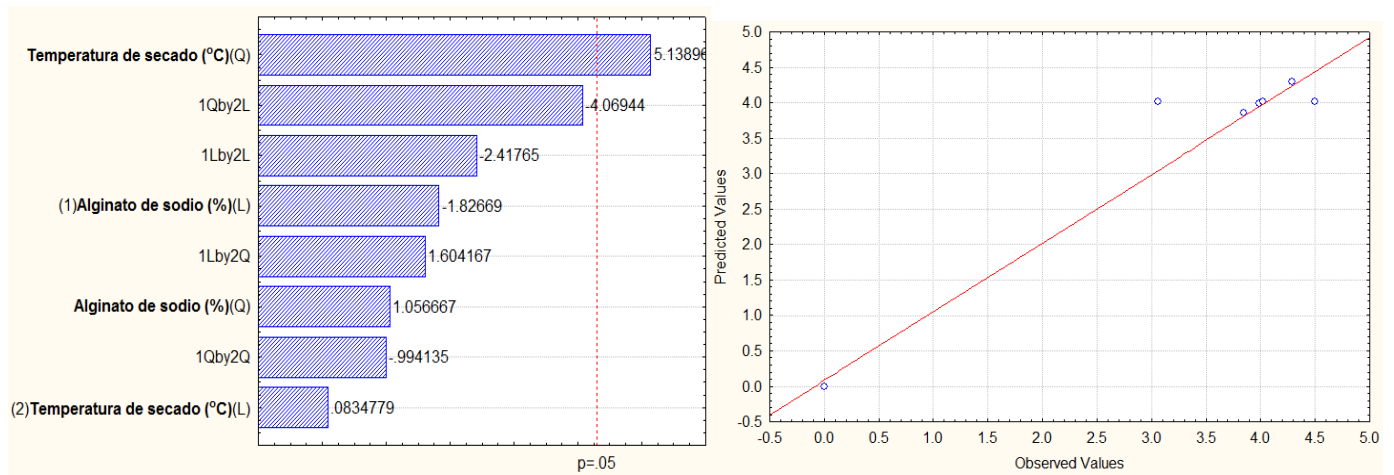
Effect Estimates; Var.:Colorimetria (b*); R-sqr=.99768; Adj.:.98838 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0169 DV: Colorimetria (b*)										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-3.80148	0.041698	-91.1680	0.000120	-3.98089	-3.62207	-3.80148	0.041698	-3.98089	-3.62207
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-2.65000	0.106145	-24.9660	0.001601	-3.10670	-2.19330	-1.32500	0.053072	-1.55335	-1.09665
Alginato de sodio (%) (Q)	-1.12944	0.084842	-13.3123	0.005595	-1.49449	-0.76440	-0.56472	0.042421	-0.74724	-0.38220
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	0.68889	0.106145	6.4901	0.022928	0.23219	1.14559	0.34444	0.053072	0.11609	0.57280
Temperatura de secado (°C) (Q)	0.10889	0.084842	1.2834	0.327963	-0.25616	0.47393	0.05444	0.042421	-0.12808	0.23697
1L by 2L	0.16833	0.130000	1.2949	0.324698	-0.39101	0.72768	0.08417	0.065000	-0.19551	0.36384
1L by 2Q	-0.32750	0.112583	-2.9090	0.100649	-0.81191	0.15691	-0.16375	0.056292	-0.40595	0.07845
1Q by 2L	-0.19917	0.112583	-1.7691	0.218908	-0.68357	0.28524	-0.09958	0.056292	-0.34179	0.14262
1Q by 2Q	0.41458	0.081790	5.0689	0.036786	0.06267	0.76650	0.20729	0.040895	0.03133	0.38325



Regr. Coefficients; Var.:Colorimetria (b*); R-sqr=.99768; Adj.:.98838 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.0169 DV: Colorimetria (b*)						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	964.69	208.627	4.62397	0.043726	67.0	1862.34
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-6820.77	1404.485	-4.85642	0.039881	-12863.8	-777.76
Alginato de sodio (%) (Q)	11692.67	2337.013	5.00325	0.037703	1637.3	21748.02
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-63.96	14.045	-4.55403	0.044989	-124.4	-3.53
Temperatura de secado (°C) (Q)	1.09	0.234	4.65951	0.043103	0.1	2.09
1L by 2L	452.66	94.532	4.78841	0.040953	45.9	859.39
1L by 2Q	-7.70	1.573	-4.89400	0.039306	-14.5	-0.93
1Q by 2L	-780.07	157.295	-4.95927	0.038337	-1456.9	-103.28
1Q by 2Q	13.27	2.617	5.06888	0.036786	2.0	24.53

Anexo 8. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de *Staphylococcus aureus*

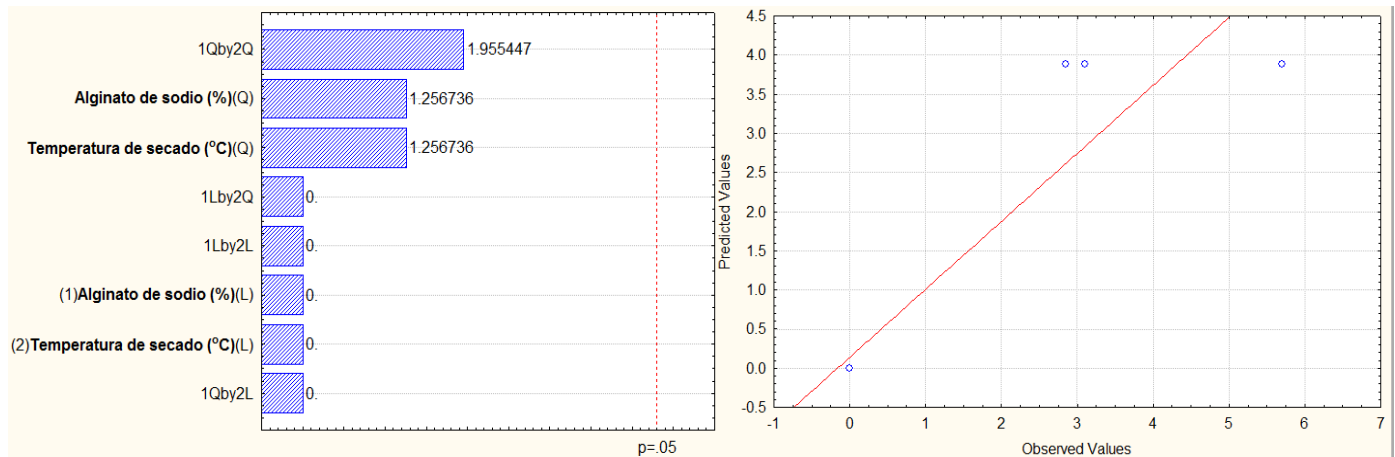
Effect Estimates; Var.: S. Aureus ; R-sqr=.96772; Adj: .8386 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.6912 DV: S. Aureus										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	2.24111	0.266667	8.40417	0.013865	1.09374	3.388485	2.24111	0.266667	1.09374	3.388485
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-1.24000	0.678823	-1.82669	0.209276	-4.16074	1.680738	-0.62000	0.339411	-2.08037	0.840369
Alginato de sodio (%) (Q)	0.57333	0.542586	1.05667	0.401448	-1.76123	2.907894	0.28667	0.271293	-0.88061	1.453947
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	0.05667	0.678823	0.08348	0.941075	-2.86407	2.977404	0.02833	0.339411	-1.43204	1.488702
Temperatura de secado (°C) (Q)	2.78833	0.542586	5.13897	0.035842	0.45377	5.122894	1.39417	0.271293	0.22689	2.561447
1L by 2L	-2.01000	0.831384	-2.41765	0.136830	-5.58716	1.567158	-1.00500	0.415692	-2.79358	0.783579
1L by 2Q	1.15500	0.720000	1.60417	0.249877	-1.94291	4.252910	0.57750	0.360000	-0.97145	2.126455
1Q by 2L	-2.93000	0.720000	-4.06944	0.055414	-6.02791	0.167910	-1.46500	0.360000	-3.01395	0.083955
1Q by 2Q	-0.52000	0.523068	-0.99413	0.424914	-2.77058	1.730579	-0.26000	0.261534	-1.38529	0.865290



Regr. Coefficients; Var.: S. Aureus ; R-sqr=.96772; Adj: .8386 (3**(2-0) full factorial design 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.6912 DV: S. Aureus						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	-1823.8	1334.23	-1.36697	0.305005	-7564.6	3916.86
(1)Alginato de sodio (%) (L)	12468.0	8982.05	1.38810	0.299513	-26178.7	51114.66
Alginato de sodio (%) (Q)	-21960.0	14945.82	-1.46931	0.279514	-86266.7	42346.65
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	100.2	89.82	1.11521	0.380791	-286.3	486.64
Temperatura de secado (°C) (Q)	-1.3	1.49	-0.87262	0.474884	-7.7	5.13
1L by 2L	-688.3	604.56	-1.13846	0.372928	-3289.5	1912.93
1L by 2Q	9.1	10.06	0.90065	0.462829	-34.2	52.34
1Q by 2L	1232.8	1005.94	1.22552	0.345110	-3095.4	5561.01
1Q by 2Q	-16.6	16.74	-0.99413	0.424914	-88.7	55.38

Anexo 9. Tabla de coeficientes de regresión, estimación de efectos y diagrama de pareto de
Escherichia Coli O157:H7

Effect Estimates; Var.: E. Coli; R-sqr=.8685; Adj.:.34251 (3**(2-0) full factorial design, 1 block , 9 runs 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=2.490833 DV: E. Coli										
Factor	Effect	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt	Coeff.	Std.Err. Coeff.	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	0.431481	0.506220	0.852360	0.483799	-1.74661	2.609570	0.431481	0.506220	-1.74661	2.609570
(1)Alginato de sodio (%) (L)	0.000000	1.288625	0.000000	1.000000	-5.54451	5.544508	0.000000	0.644313	-2.77225	2.772254
Alginato de sodio (%) (Q)	1.294444	1.030005	1.256736	0.335737	-3.13731	5.726199	0.647222	0.515003	-1.56865	2.863099
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	0.000000	1.288625	0.000000	1.000000	-5.54451	5.544508	0.000000	0.644313	-2.77225	2.772254
Temperatura de secado (°C) (Q)	1.294444	1.030005	1.256736	0.335737	-3.13731	5.726199	0.647222	0.515003	-1.56865	2.863099
1L by 2L	0.000000	1.578237	0.000000	1.000000	-6.79061	6.790608	0.000000	0.789119	-3.39530	3.395304
1L by 2Q	0.000000	1.366794	0.000000	1.000000	-5.88084	5.880839	0.000000	0.683397	-2.94042	2.940419
1Q by 2L	0.000000	1.366794	0.000000	1.000000	-5.88084	5.880839	0.000000	0.683397	-2.94042	2.940419
1Q by 2Q	1.941667	0.992953	1.955447	0.189704	-2.33066	6.213997	0.970833	0.496476	-1.16533	3.106998



Regr. Coefficients; Var.: E. Coli; R-sqr=.8685; Adj.:.34251 (3**(2-0) full factorial design 1 block , 9 runs, 2 3-level factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=2.490833 DV: E. Coli						
Factor	Regressn Coeff.	Std.Err.	t(2)	p	-95.% Cnf.Limt	+95.% Cnf.Limt
Mean/Interc.	4757.1	2532.80	1.87819	0.201138	-6141	15654.8
(1)Alginato de sodio (%) (L)	-32620.0	17050.85	-1.91310	0.195861	-105984	40743.9
Alginato de sodio (%) (Q)	54366.7	28372.01	1.91621	0.195400	-67708	176441.6
(2)Temperatura de secado (°C) (L)	-326.2	170.51	-1.91310	0.195861	-1060	407.4
Temperatura de secado (°C) (Q)	5.4	2.84	1.91621	0.195400	-7	17.6
1L by 2L	2236.8	1147.64	1.94904	0.190619	-2701	7174.7
1L by 2Q	-37.3	19.10	-1.95224	0.190161	-119	44.9
1Q by 2L	-3728.0	1909.60	-1.95224	0.190161	-11944	4488.4
1Q by 2Q	62.1	31.77	1.95545	0.189704	-75	198.8

Anexo 10. Equipos utilizados para la emulsión y el recubrimiento



Microscopio Primo Star



Ultrasonido Branson



Refractómetro HANNA



Medidor de Aw AquaLab



Baño María HANNA



Homogeneizador Silverson

Anexo 11. Equipos utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana



Incubadora INCUSELL



Termoagitador magnético NUOVA



Agitador vortex punzante SPEED KNOB



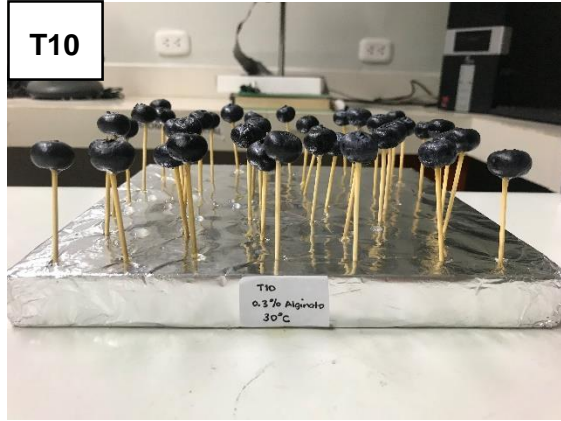
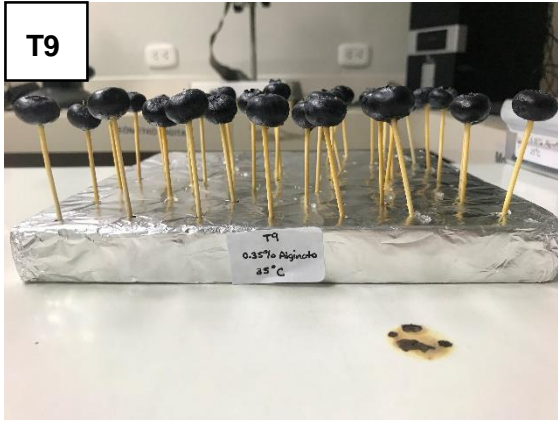
Horno de esterilización en seco HANNA



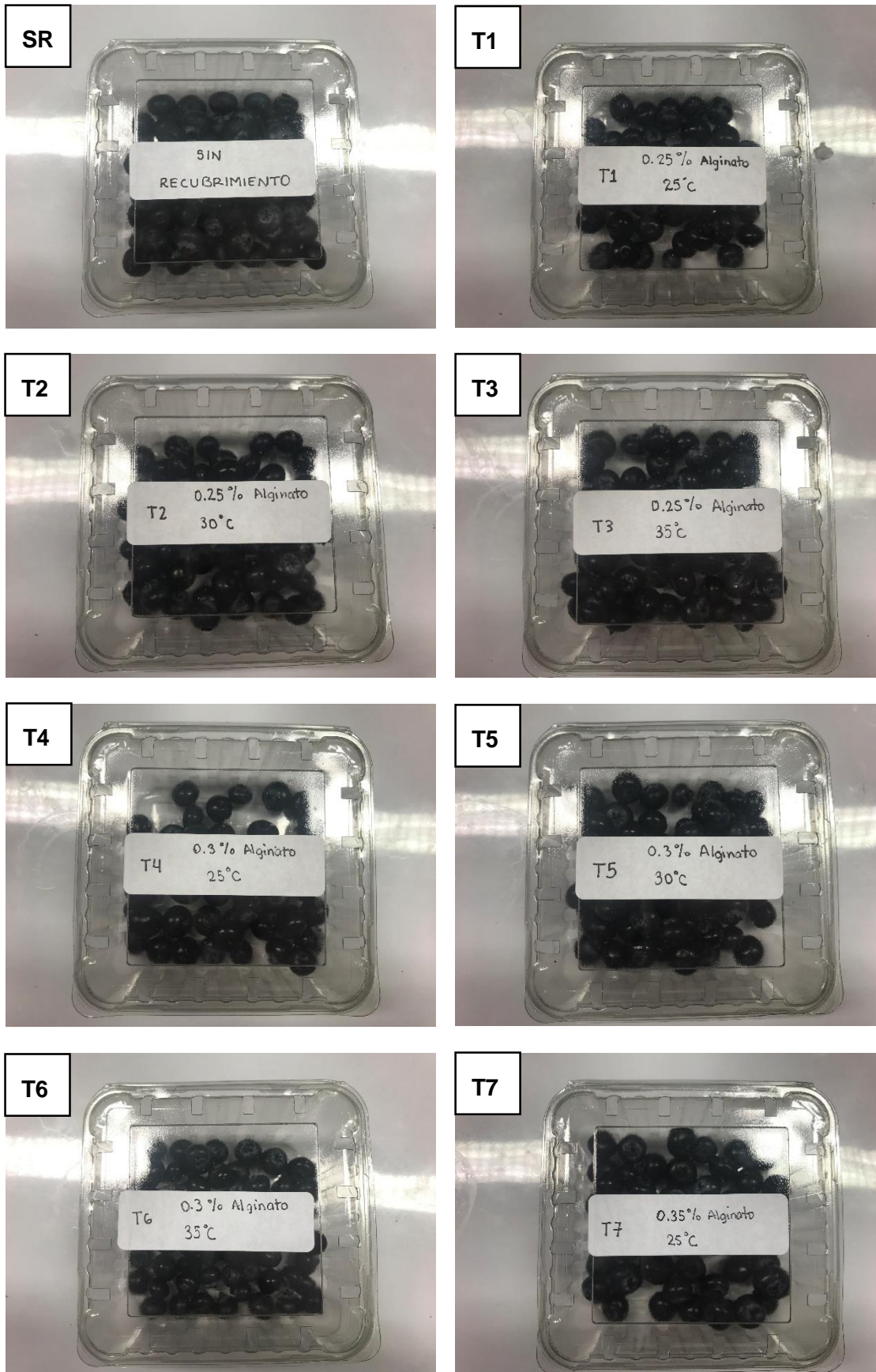
Autoclave JP SELECTA



Pie de rey TRUPER

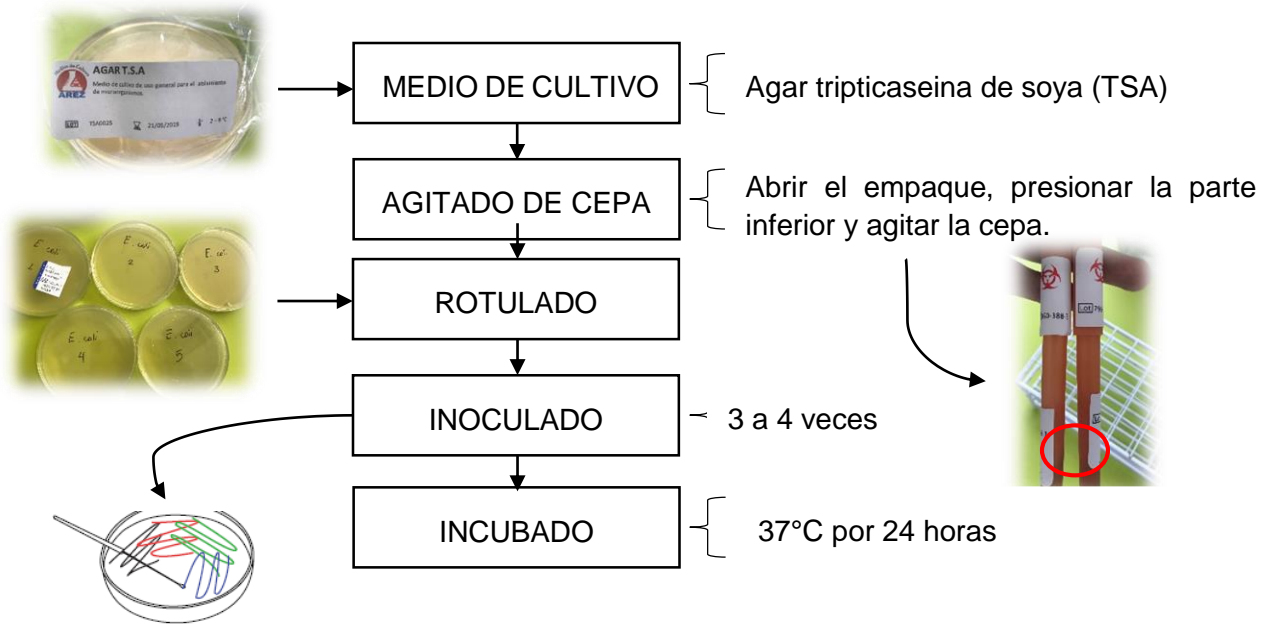


Anexo 13. Almacenamiento de los arándanos

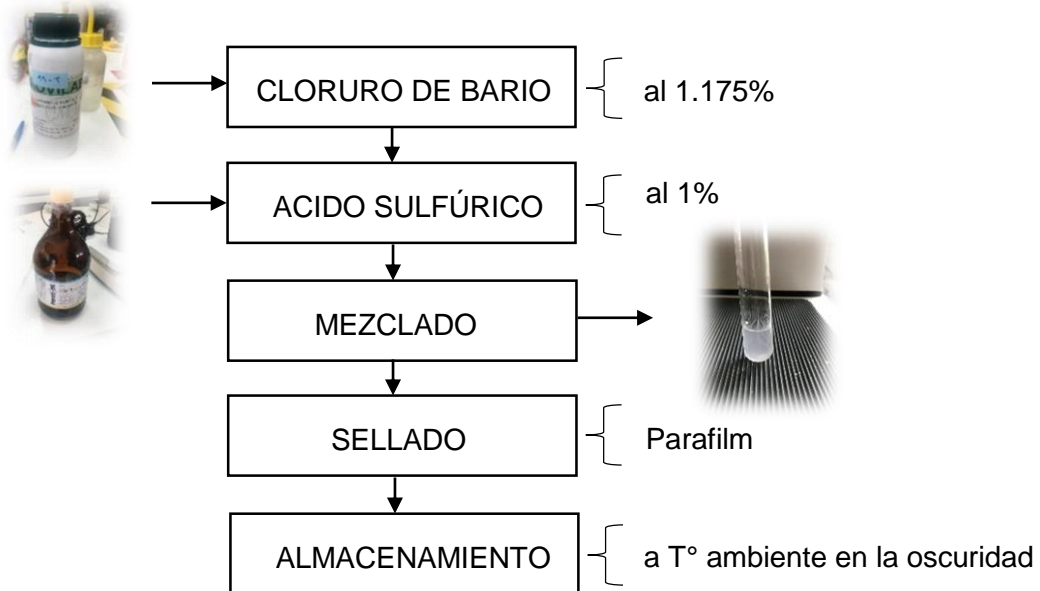




Anexo 14. Hidratación de cepas *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*



Anexo 15. Preparación del patrón de McFarland



Anexo 16. Informe de ensayo de composición proximal del arándano



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA - DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICION
LABORATORIO DE EVALUACION NUTRICIONAL DE ALIMENTOS

“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

INFORME DE ENSAYO LENA N° 0504/2019

CLIENTE : MICHELLE SEGURA
NOMBRE DEL PRODUCTO : 01 muestra de arándanos
(Denominación responsabilidad del cliente)
MUESTRA : PROPORCIONADA POR EL CLIENTE
FECHA DE RECEPCIÓN : 02-05-2019
FECHA DE ANALISIS : Del 02/05/19 al 14/05/19
CANTIDAD DE MUESTRA INICIAL: 914 gramos
CANTIDAD DE MUESTRA FINAL: 176.3 gramos
PRESENTACION : Muestra en táper.
IDENTIFICACION : Q19-0504

RESULTADOS DE ANALISIS QUIMICO

ANALISIS	REPETICIÓN 1	REPETICIÓN 2
a.- HUMEDAD, %	83.39	83.44
b.- PROTEINA TOTAL (N x 6.25), %	0.68	0.66
c.- GRASA, %	0.25	0.23
d.- FIBRA CRUDA, %	0.95	0.95
e.- CENIZA, %	0.25	0.26
f.- ELN ¹ , %	14.48	14.46

ELN¹ = EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

Métodos utilizados:

a.- AOAC (2005), 950.46
b.- AOAC (2005), 984.13
c.- AOAC (2005), 2003.05
d.- AOAC (2005), 962.09
e.- AOAC (2005), 942.05


Atentamente,



Dr. Carlos Gómez Bravo
Jefe del Laboratorio de Evaluación
Nutricional de Alimentos

La Molina, 14 de Mayo del 2019

Anexo 17. Certificado de análisis de Agar Mueller Hinton

	Certificado de Análisis	Fecha de Emisión 08/04/2019
-----------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------	--------------------------------

Código Producto: PA901004

Descripción: Agar Mueller Hinton Placa 90x15 mm

Lote: MH00127


Fecha Elaboración: 06/04/2019

Fecha Vencimiento: 21/05/2019

El agar se preparó a partir del medio deshidratado BD Mueller Hinton Agar, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ensayos

Apariencia	Medio de cultivo ámbar claro	Conforme
Esterilidad	Incubación a 35°C x 24 horas	Conforme
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Incubación a 35°C x 24 horas	Crecimiento.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Incubación a 35°C x 24 horas	Crecimiento.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Incubación a 35°C x 24 horas	Crecimiento.


Luis Alvarado Rios
CTMP 6765




Scanned with
CamScanner

AREZ E.I.R.L. www.arezperu.com – email: correo@arezperu.com

Teléfono: 994534088

Anexo 18. Certificado de análisis de Agar TSA

	<h3>Certificado de Análisis</h3>	Fecha de Emisión 08/04/2019
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------	--------------------------------

Código Producto: PA901017

Descripción: Agar TSA Placa 90x15 mm

Lote: TSA0025


Fecha Elaboración: 06/04/2019

Fecha Vencimiento: 21/05/2019

El agar se preparó a partir del medio deshidratado BD TSA Agar, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Ensayos

Apariencia	Medio de cultivo ámbar claro	Conforme
Esterilidad	Incubación a 35°C x 24 horas	Conforme
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Incubación a 35°C x 24 horas	Crecimiento.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Incubación a 35°C x 24 horas	Crecimiento.


Luis Alvarado Rios
CTMP 6765



Scanned with
CamScanner

AREZ E.I.R.L. www.arezperu.com – email: correo@arezperu.com

Teléfono: 994534088

Anexo 19. Datos de diámetro de gotas de las nanoemulsiones (nm)

Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4	Tratamiento 5	Tratamiento 6	Tratamiento 7	Tratamiento 8	
50.00	185.00	170.00	68.00	100.00	160.00	90.00	95.00	
232.50	45.00	185.00	100.00	90.00	130.00	105.00	94.00	
160.00	62.50	192.50	80.00	91.00	160.00	90.00	93.00	
212.50	30.00	75.00	67.00	88.00	175.40	87.50	97.00	
180.00	90.00	150.00	101.00	99.00	140.00	77.50	95.00	
120.00	62.50	145.00	92.00	88.00	170.00	80.00	97.00	
245.00	132.50	75.00	87.00	95.00	167.80	60.00	92.00	
95.00	37.50	132.50	78.00	102.00	190.00	90.00	91.00	
177.50	95.00	70.00	45.00	92.00	196.60	87.50	93.00	
107.50	75.00	62.50	55.00	98.00	185.00	84.50	94.00	
95.00	90.00	75.00	70.00	93.50	150.00	77.50	95.00	
95.00	237.50	70.00	65.00	88.00	192.50	78.50	96.00	
132.50	170.00	112.50	66.00	94.00	160.00	95.00	94.30	
112.50	107.50	112.50	88.00	97.50	158.70	90.00	94.40	
205.00	132.50	62.50	76.00	97.80	147.50	100.00	94.50	
32.50	132.50	75.00	74.00	101.00	177.50	107.50	95.00	
140.00	160.00	37.50	75.50	97.00	156.00	102.50	94.40	
160.00	30.00	57.50	100.00	100.00	150.00	97.50	97.00	
45.00	90.00	112.50	62.50	91.50	160.00	110.00	96.00	
140.00	57.50	62.50	93.00	93.40	167.80	103.40	93.20	
95.00	135.00	112.50	69.00	96.00	196.50	90.00	94.50	
140.00	260.00	157.50	74.00	94.60	167.50	95.00	92.00	
145.00	70.00	180.00	86.00	100.00	175.00	110.00	91.00	
200.00	160.00	70.00	67.00	103.00	200.00	97.50	94.50	
180.00	185.00	45.00	85.00	90.00	188.00	70.00	96.00	
160.00	112.50	45.00	75.00	101.00	177.50	130.00	93.40	
75.00	160.00	45.00	70.00	91.00	190.00	120.00	95.00	
120.00	92.50	45.00	69.00	96.00	135.00	125.00	93.40	
75.00	112.50	132.50	106.00	94.50	215.00	110.00	96.60	
160.00	212.50	15.00	75.00	94.50	192.50	120.00	90.00	
90.00	130.00	90.00	95.00	97.70	178.00	85.00	92.00	
242.50	160.00	45.00	75.00	89.00	170.00	120.00	94.00	
130.00	160.00	90.00	78.00	94.00	139.00	80.00	96.00	
130.00	107.50	55.00	94.00	94.50	207.50	99.00	95.00	
190.00	132.50	95.00	57.50	87.50	186.60	125.00	96.00	
190.00	300.00	45.00	95.00	100.00	177.50	90.00	93.00	
180.00	45.00	137.50	85.00	96.70	160.00	99.00	94.50	
237.50	185.00	90.00	62.50	95.60	190.00	115.00	93.40	
212.50	160.00	75.00	78.80	92.00	180.00	105.50	95.00	
180.00	107.50	85.00	86.00	99.00	172.50	97.50	94.40	
180.00	80.00	112.50	101.00	92.00	150.00	80.00	96.00	
185.00	205.00	62.50	77.50	100.00	179.80	85.00	97.60	
205.00	205.00	62.50	120.00	90.00	207.50	90.00	95.00	
160.00	90.00	132.50	107.50	95.00	152.50	85.00	90.00	
132.50	40.00	32.50	82.00	92.30	175.00	98.70	98.00	
95.00	120.00	95.00	90.00	100.00	170.00	95.00	94.50	
57.50	185.00	70.00	97.00	97.00	165.50	120.00	96.00	
212.50	80.00	155.00	91.00	98.70	190.00	100.00	96.00	
120.00	270.00	45.00	64.00	94.00	197.50	105.00	94.00	
50.00	150.00	135.00	95.00	92.00	180.00	97.50	96.00	
Promedio	145.35	128.70	91.85	81.02	95.09	173.21	97.07	94.47
SD	55.77	64.34	44.31	15.23	4.13	19.69	15.12	1.83