



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA**

MODALIDAD:

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**CONCENTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA
ENCAPSULADO Y TIEMPO DE INMERSIÓN SOBRE LAS
CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y CAPACIDAD
ANTIMICROBIANA EN QUESO**

AUTORA:

ING. STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA

TUTOR:

ELY SACON VERA, PhD.

CO-TUTOR:

ULBIO ALCIVAR CEDEÑO, PhD.

CALCETA, DICIEMBRE 2020

DERECHOS DE AUTORÍA

BERMELLO OCHOA STEPHANY JUDITH, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ELY SACON VERA, PhD, certifica haber tutelado el trabajo de titulación: Concentración de aceite esencial de albahaca morada encapsulado y tiempo de inmersión sobre las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en queso, que ha sido desarrollado por **STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA**, previo la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al Reglamento de unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ELY SACON VERA, PhD

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación: Concentración de aceite esencial de albahaca morada encapsulado y tiempo de inmersión sobre las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en queso, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria de acuerdo al Reglamento de la unidad de titulación de los programas de Posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Mg. Francisco Demera Lucas
MIEMBRO

Mg. Nelson Mendoza Ganchozo
MIEMBRO

Mg. Rosanna Loor Cusme
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme las fuerzas necesarias en los momentos en que más lo necesité.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mis Padres Liliana y Jonny por siempre ser los pilares de mi vida. A mis hermanas Ing. Malena, Dayana y Melissa que con su apoyo y cariño fomentan en mí el entusiasmo para no desfallecer y persistir en mis objetivos hasta alcanzarlos.

A mi Tutor Ely Sacón Vera PhD y Co-Tutor Ulbio Alcivar Cedeño PhD a quienes expreso mi sincero agradecimiento por su ayuda, acertada y valiosa orientación técnica en el desarrollo de este proyecto.

A mis profesores y amigos de maestría quienes de manera directa e indirecta han aportado en la realización de este trabajo.

STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado la vida, salud, voluntad y la oportunidad de estudiar para así lograr otro objetivo en mi vida.

A mis padres Liliana y Jonny, si me atreviera a decir lo que siento me quedaría corta, pues las palabras faltarían para darles las gracias por todo lo que me dan. Gracias por estar conmigo en las buenas y malas, gracias por su apoyo y su amor.

A mis hermanas Ing. Malena, Dayana y Melissa por ser parte de mi vida y mi fortaleza gracias.

STEPHANY JUDITH BERMELLO OCHOA

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
PALABRAS CLAVE.....	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1.- PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2.- JUSTIFICACIÓN	3
1.3.- OBJETIVOS.....	5
1.3.1- OBJETIVO GENERAL	5
1.3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
1.4.- HIPÓTESIS.....	6
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1.- INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS	7
2.1.1.- CALIDAD DE ALIMENTOS LÁCTEOS	9
2.1.2.- QUESO FRESCO	9
2.2.- ADITIVOS ALIMENTARIOS.....	10
2.2.1.- ACEITES ESENCIALES	11
2.2.2 ALBAHACA	12
2.3 ENCAPSULACIÓN.....	15
2.3.1 TÉCNICAS DE ENCAPSULACIÓN.....	16
2.4 APLICACIONES DE LA ENCAPSULACIÓN EN ALIMENTOS	17
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	21
3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	21
3.2 DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	21
3.3 FACTORES EN ESTUDIO	21
3.4. NIVELES DE LOS FACTORES.....	22
3.5. TRATAMIENTOS	22
3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL	23
3.7 UNIDAD EXPERIMENTAL	23
3.8 MANEJO DEL EXPERIMENTO	23
3.8.1.-DESCRIPCIÓN DEL DIAGRAMA PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL	24
3.8.2.-ENCAPSULACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA.	27
3.8.3 DESCRIPCIÓN DE LA APLICACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA ENCAPSULADO EN EL QUESO FRESCO	28
3.9. VARIABLES A MEDIR.....	29
3.10.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
• TRATAMIENTOS DE DATOS	30

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1 LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN.....	31
<i>Rendimiento de Microencapsulación.....</i>	<i>31</i>
4.2 CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL QUESO FRESCO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE INMERSIÓN Y DEL PORCENTAJE DE ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA ENCAPSULADO.	33
4.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	37
4.3 ANÁLISIS DE HUMEDAD	39
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
5.1 CONCLUSIONES.....	31
5.2 RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFIA.....	41
ANEXOS	50

CONTENIDO DE TABLAS, FIGURAS Y ANEXOS

TABLAS:

Tabla 1. Métodos de cuantificación de microorganismos en el queso fresco.	19
Tabla 2. Niveles en los factores en estudio.	22
Tabla 3. Tratamientos en estudio con su respectiva codificación	22
Tabla 4. Esquema ANOVA.	23
Tabla 5. Rendimiento de Microencapsulación	31
Tabla 6. AE Recuperado.....	31
Tabla 7. Eficiencia de microencapsulación	32
Tabla 8. Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Olor.	33
Tabla 9. Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Sabor.....	34
Tabla 10. Resultados de subconjunto homogéneos de la variable sabor.....	34
Tabla 11. Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Textura	35
Tabla 12. Resultados de subconjunto homogéneos de la variable sabor	36
Tabla 13. Resultados de análisis de <i>Salmonella</i>	37
Tabla 14. Resultados de análisis de <i>E. coli</i>	38

FIGURA:

Figura 1. Clasificación de técnicas de encapsulación.	16
Figura 2. Extracción con trampa de clewenger (hidrodestilación)	25
Figura 3. Descripción del diagrama para la extracción del aceite esencial	26
Figura 4. Encapsulación del aceite esencial de albahaca morada	27
Figura 5. Aplicación del aceite esencial de albahaca morada encapsulado en el queso fresco.....	29
Figura 6. Observación microscópica a 10 aumentos de las microcápsulas obtenidas a concentraciones del 4% de alginato de sodio.	32
Figura 7. Resultados de la humedad del queso fresco en los diferentes tratamientos aplicados (letras iguales no difieren estadísticamente).	39

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de análisis sensoriales.....	51
Anexo 2. Tabulación de la encuesta del parámetro olor.....	53
Anexo 3. Tabulación de la encuesta del parámetro sabor.....	54
Anexo 4. Tabulación de la encuesta del parámetro textura.....	55
Anexo 5. Resultados de la prueba de Wilcoxon para el parámetro de textura.	56
Anexo 6. Certificado del Laboratorio de Ecotoxicología.	62

RESUMEN

El propósito de esta investigación es determinar el tiempo de inmersión y la adición de aceite esencial de albahaca morada encapsulado. Las variables evaluadas fueron las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en el queso fresco. Esta investigación de tipo experimental se sujetó a un Diseño de bloque completamente al azar(DBCA) en arreglo bifactorial A*B donde se establecieron combinaciones entre la variable porcentajes de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada (5 %, 10 % y 15 %), factor A y tiempo de inmersión (15, 30 y 60 minutos), factor B; siendo el bloque, los panelistas, teniendo un total de 9 tratamientos. Se realizó la encapsulación por el método de gelificación iónica y se evaluó la aceptabilidad de los tratamientos, posteriormente se analizaron a los días 7, 14 y 21 días las variables de capacidad microbiológica, humedad y los análisis organolépticos a los 3 días. La mejor eficiencia de las microcápsulas fue la concentración de alginato de sodio al 4 % y aceite esencial al 20 %. Se determinó que los tratamientos más aceptados para el parámetro sabor y textura fue el T4 (10 % de solución de aceite esencial de albahaca morada encapsulado y 15 minutos de inmersión). Los resultados demuestran cambios significativos en los atributos sabor y textura mientras que en el atributo color los resultados no fueron significantes. Todos los tratamientos presentaron ausencia de *Salmonella* y *E. coli*. Se concluyó que la aplicación del aceite esencial de albahaca morada encapsulado fue capaz de controlar la proliferación de microorganismos.

PALABRAS CLAVE

Ocimum sanctum, análisis sensoriales, antimicrobianos naturales, queso fresco.

ABSTRACT

The purpose of this research is to determine the immersion time and the addition of encapsulated holy basil essential oil. The variables evaluated were the organoleptic characteristics and antimicrobial capacity in fresh cheese. This experimental type investigation was subjected to a completely randomized block design (DBCA) in a bifactorial arrangement A * B where combinations were established between the variable percentages of solution of essential oil of holy basil microcapsules (5 %, 10 % and 15 %), factor A and immersion time (15, 30 and 60 minutes), factor B; being the block, the panelists, having a total of 9 treatments. Encapsulation was carried out by the ionic gelation method and the acceptability of the treatments was evaluated, then the variables of microbiological capacity, humidity and organoleptic analyzes were analyzed at days 7, 14 and 21. The best efficiency of the microcapsules was the concentration of sodium alginate at 4 % and essential oil at 20 %. It was determined that the most accepted treatments for the flavor and texture parameter was T4 (10 % encapsulated holy basil essential oil solution and 15 minutes immersion). The results showed significant changes in the flavor and texture attributes, while in the color attribute the results were not significant. All treatments showed an absence of Salmonella and E. coli. It was concluded that the application of encapsulated holy basil essential oil was able to control the proliferation of microorganisms.

KEY WORDS

Ocimum sanctum, sensory analysis, natural antimicrobials, fresh cheese.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1.- PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La demanda mundial de leche superará la oferta disponible en la próxima década debido al aumento del consumo de productos lácteos, tales como leche, queso y manteca fresca, lo cual crecerá el 36 % desde el año 2014 al 2024 (El Telégrafo, 2014). En el Ecuador aproximadamente la mayor producción de leche está concentrada en la Sierra (75 %), la Amazonía (11%) y la diferencia (14%) en el resto del país (Grijalva, 2011). Es por esto que en el país gran cantidad de personas se dedican a la elaboración de queso; el mercado ecuatoriano de quesos es muy dinámico; de acuerdo con las investigaciones de Pulso Ecuador (Empresa consultora), un (84,3 %) de los hogares urbanos de las 15 ciudades principales consumen regularmente este producto; esto representa algo más de un millón de hogares (Cadena & Pozo, 2011).

La Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO, 2019), mencionan que los productos lácteos pueden provocar enfermedades, debido que la calidad de la leche se ve afectada por factores tales como; la contaminación ambiental, descomposición de nutrientes, los aditivos químicos, la contaminación y el crecimiento de patógenos. Por lo cual, es importante conocer los peligros microbiológicos que afectan la inocuidad de los alimentos y en especial de los productos derivados de lácteos debido que la leche es un medio ideal para el crecimiento de bacterias y otros microbios.

Un alimento de amplio consumo a nivel mundial es el queso, cuyas características sensoriales, nutritivas, texturales y funcionales difieren entre cada tipo. En Ecuador predomina el consumo de quesos frescos, mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos que constituyen nuestro legado gastronómico (Ramírez & Vélez, 2012). La mayoría de los quesos expendidos en el Ecuador son de origen

artesanal por este motivo las características organolépticas y la calidad se ven afectadas, debido a que no se cuenta con métodos adecuados para prevenir el crecimiento de microorganismos durante su almacenamiento, lo cual generan grandes pérdidas económicas a los productores (Montoya, & Restrepo, 2010).

La calidad de los productos lácteos frescos cambia durante el almacenamiento, por ejemplo; en el queso, el tiempo de vida útil es afectado por factores ambientales y fisicoquímicos, por el envasado en atmósferas modificadas, por los métodos de fabricación y por el uso de compuestos activos empleados expresamente para prolongar su vida útil y principalmente por la calidad de la materia prima de la que procede (Carrillo & Mondragón, 2011).

Pilamunga (2017), menciona que en el Ecuador la contaminación microbiológica del queso fresco se debe a que la mayoría que se vende en el mercado ecuatoriano son elaborados sin un previo tratamiento térmico adecuado, lo que indica que las prácticas higiénicas son deficientes y esto conlleva a tener una elevada presencia de microorganismos.

Se han identificado diversos factores como causantes de modificaciones en propiedades del queso (microestructuras, propiedades fisicoquímicas, texturales, reológicas y sensoriales), entre ellos la formulación, las condiciones de proceso y almacenamiento y las alteraciones provocadas por microorganismos (Ramírez & Vélez, 2012).

Las industrias de alimentos buscan extender la vida útil de los productos alimenticios minimizando el posible riesgo de contaminación microbiológica, ya sea por problemas en los sistemas de conservación tradicionales o por factores asociados a la contaminación cruzada. Es por esto que el uso de sustancias activas (aceites esenciales) con capacidades antimicrobianas genera un interés de investigación en la conservación de los alimentos tales como el queso fresco. Sin embargo, las características organolépticas de estas sustancias activas generan

ciertos problemas asociados al olor, sabor, color y textura propia de los aceites esenciales para poder masificar su uso a gran escala en la industria alimenticia.

Con estos antecedentes se plantea la siguiente pregunta científica: ¿De qué manera la aplicación de aceite esencial de albahaca morada encapsulado permitirá conservar las características organolépticas y controlar el crecimiento microbiano del queso fresco?

1.2.- JUSTIFICACIÓN

La comprensión de los aspectos científico-técnicos entorno a la elaboración del queso es de suma importancia para un adecuado control de las condiciones que pudieran afectar dichas propiedades en el queso y en consecuencia su calidad y aceptación por parte del consumidor (Ramírez & Vélez, 2012).

Cada día la industria de alimentos busca resolver problemas para la conservación de productos alimenticios. Por lo que, en la actualidad el principal objetivo es reemplazar conservantes químicos o sintéticos por los de origen natural, una de las principales razones es que los clientes se niegan a consumir productos que declaren contenidos de los mismos, debido que causan enfermedades (Arellano & Montesdeoca, 2016).

McClements (2012) menciona que de forma directa hay un gran número de componentes alimenticios que no se pueden incorporar y requieren ser encapsulados en algún tipo de sistema de liberación antes de ser introducidos en la matriz del alimento, los aceites esenciales se incluyen dentro de este tipo de componentes debido a que son antimicrobianos naturales por ello tienen gran demanda en la industria alimentaria. Por lo que se está promoviendo la utilización de esta técnica ya que deja mínimos residuos, es viable y eficaz (Soares, 2018).

Una gran multifuncionalidad se les asocia a los componentes presentes en los aceites esenciales como consecuencia a sus diferentes actividades naturales: insecticida, analgésico antimicótica, antitumoral, actividad antimicrobiana, antioxidante, etc (Sánchez, Pino, Correa, Naranjo & Iglesia, 2009).

Según Hernández (2011) en la actualidad se están potenciando el uso de aceites esenciales en la industria alimentaria, debido a sus propiedades antimicrobianas, protegiendo el equilibrio ecológico y subyugando así el uso de productos químicos de síntesis. El aceite esencial de albahaca posee compuestos con propiedades de reducción de la capacidad de oxidación e inhibición del crecimiento bacteriano que por sus características lo convierten en un potencial aditivo alimenticio (Cardoso & Sosa, 2012).

Es por esto que se están buscando alternativas como el uso de aceites esenciales como agente antimicrobiano pero estos aceites se volatilizan por lo que es necesario encapsularlos para poder utilizarlos como aditivo. La encapsulación se utiliza con el objetivo de crear una barrera que proteja a la sustancia encapsulada del contacto con factores externo que puedan afectar como el oxígeno, la luz, radicales libres, etc (Paucar & Celene, 2018).

Fang & Bhandari (2012) mencionan que los aceites esenciales se encapsulan para poder ser añadidos en los alimentos sin afectar los atributos de calidad, para prevenirlos contra la degradación química, física o biológica; para enmascarar sabores, para liberarse en algún sitio de acción en particular, para extender su vida útil y sus condiciones de almacenamiento.

Actualmente, se busca extender la vida útil de los alimentos debido a esto se está impulsando la búsqueda de aditivos naturales que no generen efectos secundarios por su consumo, por lo que se están realizando numerosos estudios donde se plantea el uso de aceites esenciales como agentes microbianos. Según Dávila, Sosa, Navarro, Téllez & Lazcano, (2013) las concentraciones de aceite esencial

que utilizaron para demostrar la actividad antimicrobiana están en un rango de 1 al 10% estos fueron positivas, pero aun no existen estudios sobre el tiempo de inmersión de los aceites esenciales encapsulados sobre el alimento por lo cual se toma como referencia los tiempos usados en una salmuera, que según Quinteros (2018) son 60 minutos.

La albahaca morada (*Ocimum sanctum*) es una especie vegetal de origen selvático que posee diferentes propiedades y características curativas, antimicrobianas, antioxidantes, también contiene flavonoides, antocianinas, fenoles, taninos y azúcares reductores, el aceite esencial de esta planta es de color claro y tiene un olor aromático característico de la planta. Los principales compuestos activos presentes en el aceite esencial de albahaca morada que tienen un efecto inhibitorio en el crecimiento microbiano son: linalol, eugenol, metilchavicol, entre otros (Inampudi & Ivvala, 2010).

1.3.- OBJETIVOS

1.3.1- OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el tiempo de inmersión y la adición de aceite esencial de albahaca morada encapsulado sobre las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en el queso fresco.

1.3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las condiciones de operación en el proceso de encapsulación del aceite esencial de Albahaca morada (*Ocimum sanctum*).
- Determinar el porcentaje de aceite esencial de albahaca morada encapsulado que mejore las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en el queso fresco.

- Determinar tiempo de inmersión que mejore las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en el queso fresco.

1.4.- HIPÓTESIS

La adición de la solución acuosa de aceite esencial de albahaca morada encapsulada y el tiempo de inmersión en queso fresco mejorará las características organolépticas y su capacidad antimicrobiana.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS

La inocuidad de los alimentos es la ausencia, o niveles seguros y aceptables, de peligro en los alimentos que pueden dañar la salud de los consumidores (Díaz, García, Jiménez & Villanueva, 2015). Según FAO (2019) los peligros transmitidos por los alimentos pueden ser de naturaleza microbiológica, química o física y con frecuencia son invisibles a simple vista, bacterias, virus o residuos de pesticidas son algunos ejemplos.

Para Wanden, (2015) la calidad de un producto es concebida como la apreciación que el cliente o consumidor tiene de un producto, y su contenido para satisfacer las necesidades por las cuales fue adquirido. La calidad es una disciplina que actualmente las empresas procesadoras practican con esmero, incluso se invierten recursos anualmente para lograr obtener certificados de aseguramiento de la calidad, con el único fin de preservar la vida humana (Berovides & Michelena, 2013).

Chavarrías, (2016) menciona que la calidad y seguridad de los alimentos están garantizadas por los análisis microbiológicos, físicos y químicos. Pero, también, los alimentos además destacan por sus propiedades organolépticas, particularidades que se miden a través de análisis sobre las sensaciones que producen.

Según los autores consultados Torricella, Pulido & Zamora (2014) las características organolépticas de los alimentos se refieren al conjunto de estímulos que interactúan con los receptores del analizador (órganos de los sentidos). El receptor convierte la energía que actúa sobre él, en un proceso nervioso que se transmite a través de los nervios centrípetos o aferentes, hasta los sectores corticales del cerebro, donde se producen las diferentes sensaciones: aroma, sabor, forma, tamaño, color y textura.

Por otra parte, la inocuidad alimentaria y sanidad son dos temas de mucha responsabilidad para todos quienes procesan diversos alimentos, entidades que se encargan del control y vigilancia de las normas de higiene, es decir, participantes activos en la consecución de llevar al mercado productos terminados, pero con la calidad necesaria que permita lograr eliminar o disminuir la contaminación de estos.

Entre el 20 – 25 % de gastos alimentarios en los hogares se realizan fuera de casa, se han realizado estudios en países en desarrollo donde se obtienen estas cifras, por lo tanto, la inocuidad y correcta preparación de los alimentos es un motivo importante de preocupación en el caso de los alimentos (Campuzano, Mejía, Madero & Pabón, 2015).

González (2018) considera al aspecto microbiológico un elemento importante debido que afecta directamente a la vida útil y conservación de los alimentos. Es necesario mencionar que los microorganismos relacionados con alimentos se agrupan dependiendo el tipo de riesgo que impliquen para la vida útil del alimento y de riesgo directo para la salud.

Un problema de salud pública a nivel mundial son las enfermedades de transmisión alimentaria; las principales causas son los patógenos bacterianos, los cuales generan desde síntomas gastrointestinales hasta complicaciones que pueden llevar a la muerte. En este estudio se menciona que se analizaron alimentos como alimentos crudos carne, pescado y alimentos procesados listo para el consumo (Soto, Pérez, & Estrada, 2015).

Debido a todos estos problemas de contaminación alimentaria en la actualidad las industrias se están preocupando por encontrar nuevos aditivos que sean naturales y que ayuden a la conservación de alimentos. Según McClements (2012) de forma directa hay un gran número de componentes alimenticios que no se pueden incorporar y requieren ser encapsulados.

2.1.1.- CALIDAD DE ALIMENTOS LÁCTEOS

El control de calidad en las industrias lácteas durante todo el proceso productivo, es fundamental para obtener tanto materias primas como productos elaborados de excelente calidad y asegurar la protección de la salud pública ofreciendo productos saludables (Cuesta, 2018).

Es significativo distinguir que los derivados de los lácteos jamás serán de mejor calidad que la materia prima de la proceden por la cual si la leche cruda es de mala eficacia no se podrá obtener ningún precedente de buena calidad. Estudios revelan que la leche y su alto contenido de altos nutrientes compone un excelente sustrato para la multiplicación de microorganismos, se deben tomar medidas necesarias para prevenir la contaminación y proliferación de microorganismos a partir de la leche cruda (Abanto, González & Portocarrero, 2018).

2.1.2.- QUESO FRESCO

El queso fresco es un producto lácteo que se lo define como no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos (NTE INEN1528, 2012. Revisión 2019).

Como consecuencia de procesos bioquímicos tales como la lipólisis y la proteólisis, pueden verse afectadas las propiedades físicas del queso. En estos procesos se involucran enzimas que podrían estar presentes en la leche, el cuajo, también podrían ser producidas por microorganismos. También mencionan que pueden producir y liberar otros compuestos en el queso con ayuda de algunos microorganismos usados como cultivos iniciadores y además de metabolizar la lactosa (Ramírez & Vélez, 2012).

Las producciones de quesos frescos de elaboración artesanal no son sometidas a procedimientos térmicos como la pasteurización antes de ser distribuidos, por este motivo constituye una fuente potencial de transmisión de patógenos. Por lo que se están realizando estudios para determinar la calidad microbiológica del queso y así conocer la carga bacteriana y calidad higiénica de los productos comercializados para el consumo humano todo lo anterior con el fin de evitar enfermedades causados por estos patógenos (Borras, García, Pulido & Rodríguez, 2014).

2.2.- ADITIVOS ALIMENTARIOS

Un aditivo alimentario es una sustancia que no se consume normalmente como alimento, cuya adición es intencional lo cual se lo realiza con fines tecnológicos (incluidos los organolépticos) en sus etapas de fabricación, elaboración, preparación, tratamiento, envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento, pueda preverse razonablemente que resulte (directa o indirectamente) por sí o sus subproductos, en un componente del alimento o un elemento que afecte a sus características (CODEX STAN 192-1995 Revisión 2019).

Hay otros aditivos que se utilizan por razones diversas, ya sea, dar color, edulcorar, conservar. Se añaden durante la preparación, el envasado, el transporte o el almacenamiento del alimento y son un ingrediente del producto final. Los conservantes pueden ralentizar el deterioro de los alimentos causado por el aire, los mohos, las bacterias y las levaduras. Además de mantener la calidad de los alimentos, ayudan a evitar la contaminación que puede provocar enfermedades de origen alimentario, algunas de ellas mortales como el botulismo (Organización Nacional de Salud, 2018).

Se puede detectar en estudios una clara tendencia de la industria a adquirir alimentos cada vez más naturales, es decir, de composición y características más adyacentes a los originales, respondiendo a las exigencias del consumidor actual (Duran, 2001). Cabe destacar que hay investigaciones donde se impulsa el uso de

aditivos naturales los cuales mencionan que los aceites esenciales tienen la propiedad antimicrobiana y antioxidante.

2.2.1.- ACEITES ESENCIALES

Son fracciones líquidas volátiles que contienen mezclas complejas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas que dan el aroma característico a flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a productos de origen animal (Bonilla, Delgado & Sánchez, 2015).

Los aceites esenciales tienen un origen biogénico, debido a que las sustancias que se conocen como metabolitos secundarios tienen una estructura química de terpenos, alcaloides y fenoles. La acumulación de aceites esenciales se da en las células epidérmicas, aunque también puede acumularse en los tallos, raíces, flores y frutos (Cardoso & Sosa, 2012).

Los aceites esenciales de plantas aromáticas poseen un fuerte potencial antioxidante y antimicrobiano, por lo cual, su uso como conservantes naturales satisface la demanda de los consumidores de alimentos sanos, seguros y nutritivos; debido a su gran potencial, pueden actuar contra los microorganismos patógenos que causan enfermedades en los consumidores, mantener la calidad y prolongar la vida útil de los alimentos (Ceballos & Londoño, 2017).

Estudios demuestran que los aceites esenciales tienen efectos antimicrobianos, por ejemplo: los aceites esenciales de naranja (*Citrus sinensis*), limón (*Citrus lemon*) y mandarina (*Citrus reticulata*) han demostrado actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella enterica*) (Olivares & López 2013).

Castaño, Ciro, Zapata & Jiménez (2010) mencionan que el aceite esencial de hojas de *R. officinalis* presenta una importante actividad antibacteriana contra cepas de *E. Coli*, *S. enteritidis* y *S. sonnei*. Según informan que el extracto de hoja de *R. officinalis* presenta actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas: *Leuconostoc mesenteroides*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Streptococcus mutans* y *B. cereus*; y también actividad antifúngica contra *Penicillium roqueforti* y *Botrytis cinérea*.

La actividad antibacteriana de diferentes extractos de *Eugenia caryophyllata* ha sido demostrada frente a bacterias patogénicas, incluyendo *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* observaron una reducción en la tasa de crecimiento de cepas de *Lysteria monocytogenes* a temperaturas de 15 y 5 °C con un tratamiento de aceite esencial de clavo de olor a concentraciones de 1 y 5 % (Hernández, 2011).

Según Dávila, Sosa, Navarro, Téllez & Lazcano, (2013) las concentraciones de aceite esencial que utilizaron para demostrar la actividad antimicrobiana están en un rango de 1 al 10 % estas fueron positivas para *Escherichia coli* y *Sta. Aureus*.

2.2.2 ALBAHACA

La albahaca tiene una altura aproximada de 60 cm, su nombre científico es *Ocimum basilicum L*, es una hierba aromática de la familia Lamiaceae. Esta planta tiene flores de unos 10 cm de largo, tallos erecto y ramificado, con mayor alcance de reproducción en climas áridos (González, González, Hernández, Macedo & Rivera, 2017).

Tigasi (2017) menciona a cada una de partes que componen a la albahaca:

- Tallo: con características de redondo abajo y cuadrangular arriba, de forma muy ramificado y tallo recto.

- Hojas: anchas y de forma ovaladas, aproximadamente de 5 cm de tamaño y muy aromáticas.
- Flores: labiadas y reunidas en un panículo con un contenido de 6 flores.
- Fruto: En forma de cápsula, valvoso y dehiscente.

Igualmente, Longoni & Alonso (2015) manifiestan que la albahaca es una planta herbácea anual perteneciente a la familia Lamiaceae. Se utilizan las hojas y las cumbres florales, de un marcado y agradable olor, y de la que existen más de 60 variedades diferentes. Existe una diversidad de más de cincuenta variedades de albahaca, con diferencias en el sabor, tamaño, color y textura cada una de ellas guarda numerosos beneficios para la salud humana (Álvarez, Chávez, González, Moncayo & Salas, 2015).

Pero las más representativas son: Albahaca dulce (*Ocimum basilicum*), albahaca morada (*Ocimum sanctum*), albahaca canela (*Ocimum cinnamon*), albahaca limón (*Ocimum basilicum citriodorum*) y criolla. De estas la que mayor proporción de aceites esenciales tiene, es la morada, de allí sus diversos usos en la industria.

• **ALBAHACA MORADA, PROPIEDADES Y USOS**

Prakash. & Gupta, 2005 establecen que el contenido de nutrientes de esta planta es muy amplio desde vitaminas, minerales, aminoácidos, hidratos de carbono; he aquí las razones por la cual, es muy utilizada en la industria de la medicina, cosmetología, alimenticia, debido que sus componentes actúan sobre ciertas patologías, ayudan en los distintos procesos de la cosmetología y es un gran aliado a la hora de condimentar y preparar deliciosas comidas.

Carmona, López, González, Fernández. & Bargaza (2009) señalan que la albahaca morada tiene propiedades nutricionales y farmacológicas, dentro de las primeras encontramos que sus hojas son fuente de un 70 % de eugenol, también contiene ácido urosólico, limatrol, carvacrol, metilo carvicol, las semillas contienen 5 ácidos

grasos (17 % de ácido linolénico y otro 50 % de ácido linoleico); en esta planta encontramos también varios porcentajes de azúcares.

La albahaca morada tiene usos muy amplios como lo es en la industria de alimentos e higiene bucal, sus hojas son empleadas por la industria farmacéutica como diurético y expectorante, además de esto también es utilizada por las empresas fabricantes de cosméticos y perfumería (Cardoso & Sosa, 2012).

La albahaca es reconocida por sus propiedades antiespasmódicas, antiinflamatorias y medicinales antisépticas. Presenta un inmenso valor para la industria de perfumería y cosméticos, la alimentaria y también la farmacéutica. Las albahacas de hoja roja/morada, cultivadas para condimento y como ornamentales; son de sabor fuerte, por lo que resultan más atractivas para ensaladas y aderezos, dejan un color rosa en la comida, por lo que se considera ideal para las salsas y cremas por lo que resultan altamente requeridas en el mercado gourmet (Burgos, 2016).

Las albahacas púrpuras contienen concentraciones muy altas de antocianinas totales y para la industria alimentaria pueden servir como una nueva fuente potencial de pigmentos rojos estables. También la medicina tradicional hace uso de la albahaca para contrarrestar los efectos de patologías como del ámbito digestivo, intestinal, antiséptico, tratamientos de dolor e inflamación, malestar en riñones, entre otros tantos (Tigasi, 2017).

Se han realizado numerables estudios sobre la composición química de los aceites esenciales de albahaca, esto depende del tipo de especie, pero la gran mayoría contienen el estragol, linalol, cinamato de metilo, metil eugenol, eugenol, isoestragol (anetol) y mirceno, lo cual hace que este sea considerado como un antimicrobiano (Rivas, Rivas, & Gamboa, 2015).

El efecto antimicrobiano de los aceites esenciales lo realizan sus componentes oxigenados estos contribuyen de un 73.22 y 77.79 % de abundancia relativa para la albahaca, los estudios demuestran que estos aceites pueden tener propiedades antimicrobianas debido a sus compuestos terpenoides presentes tales como el linalol, eugenol, 1,8 – cineol y safrol (Rojas, Sánchez, Abreu, Espinosa, Correa, & Pino, 2012).

En particular, este aceite esencial ha mostrado actividad antimicrobiana frente a un espectro de microorganismos. Sin embargo, los aceites esenciales no pueden ser incorporados directamente en un alimento, debido a que son insolubles en agua, volátiles, y sensibles al oxígeno, a la temperatura y a la luz, además de generar sabores y olores ajenos al alimento. Para evitar dichos problemas una opción es la tecnología de encapsulación, que se fundamenta en contener un compuesto activo dentro de un material encapsulante, generando partículas de tamaños micro y manométricos, lo cual permite una liberación prolongada del compuesto. Así, es posible desarrollar un ingrediente, en base a aceite esencial de lemongrass encapsulado, para extender la vida útil de los alimentos (Matiacevich & Saez, 2017).

2.3 ENCAPSULACIÓN

Para la industria de alimentos la encapsulación de aditivos es una técnica antigua (Guevara & Jiménez, 2008). En los años 1930 y 1940 se desarrollaron los procesos de encapsulación por la National Cash Register mediante un proceso de coacervación para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante. La utilización de cápsulas abarca una extensa gama de campos: la liberación controlada de sabores, colores, aromas, perfumes, drogas, fertilizantes y precursores en impresiones (Yañez et al., 2002).

Con gran frecuencia, las propiedades de los aceites esenciales no se aprovechan plenamente debido a su gran volatilidad y tendencia a oxidarse, por lo cual es necesario fijarlos a un transportador para proporcionarles una adecuada estabilidad y vida útil. Una de las mejores alternativas para llevar a cabo esto es la

microencapsulación, para lo cual pueden emplearse biopolímeros de origen natural (Matiz, Fuentes & León, 2015).

Este proceso consiste en producir el empaquetamiento de sustancias en forma de partículas con un tamaño del orden del micrómetro, generándose micropartículas, o del nanómetro, en el caso de las nanopartículas, con el objetivo tanto de proteger el compuesto bioactivo como de controlar su liberación al medio (Weng, 2017).

Además, señala que las cápsulas para el encapsulamiento de los aceites esenciales pueden estar fabricadas con multitud de polímeros diferentes, por ejemplo, se pueden mezclar varios emulsionantes con diferentes terpenos para formar nanoemulsiones mediante homogeneización a altas presiones.

2.3.1 TÉCNICAS DE ENCAPSULACIÓN

Parra (2011), menciona que las técnicas de encapsulación pueden ser divididas en dos grupos: Químicos y mecánicos. En la figura 1 se observa la clasificación según los grupos.

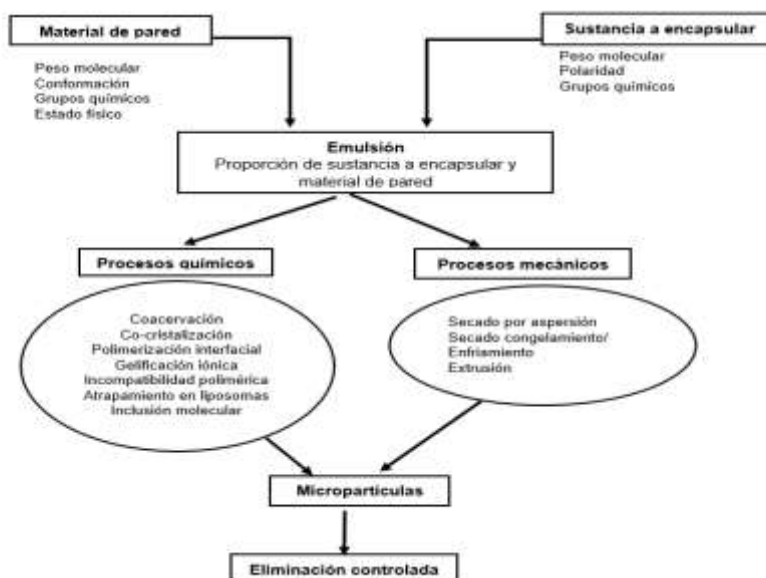


Figura 1. Clasificación de técnicas de encapsulación.

Fuente: Parra, 2011. Microencapsulación de alimentos. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. Colombia.

Por otro lado, Matiz, Fuentes & León (2015), señalan que la microencapsulación se realiza empleando numerosos procesos, entre ellos el secado por aspersión o *Spray Drying*, la coacervación, formación de liposomas, entre muchos otros. Según las condiciones de elaboración y el tipo de material encapsulante, es posible obtener materiales capaces de retener aceites esenciales y liberarlos en el momento de su uso.

Estos productos pueden ser empleados como transportadores de aceites esenciales capaces de brindar protección a los mismos frente a la oxidación, la evaporación y el mantenimiento de su perfil cromatográfico, así como el control de su liberación. Cabe mencionar que en esta investigación se usará el proceso químico gelificación iónica.

2.3.2 GELIFICACIÓN IÓNICA

La formación de la pared de las cápsulas tiene lugar por una reacción de gelificación iónica entre un ión de carga opuesta y un polisacárido. Las metodologías comprenden suspender el principio activo en una disolución acuosa de alginato de sodio. Dicha suspensión se hace gotear sobre una disolución acuosa de cloruro cálcico en agitación. Se forma así cubiertas de alginato cálcico que son insolubles y permeables. Los tiempos en el cual se forma las microcápsulas es de 15 minutos (Salas, 2019).

2.4 APLICACIONES DE LA ENCAPSULACIÓN EN ALIMENTOS

Respecto al área de alimentos, las aplicaciones de esta técnica se han ido incrementando debido a la protección de los materiales encapsulados de factores como calor y humedad, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad. Las microcápsulas, ayudan a que los materiales alimenticios empleados resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos. La técnica de microencapsulación ha

permitido solucionar algunos problemas limitados con las aplicaciones de ingredientes y aditivos alimenticios, puesto que puede controlar la eliminación de saborizantes, así como reducir volatilidad, higroscopicidad y reactividad incrementando la estabilidad de productos bajo condiciones ambientales adversas (Parra, 2011).

Diversas investigaciones demostraron que los compuestos encapsulados se encuentran biodisponibles y por tanto pueden mantener sus actividades funcionales durante el procesamiento y almacenaje de los alimentos. Aspectos que pueden reforzarse con la incorporación de matrices mixtas de alginato y xantana, polilisina, almidón, pectina, proteína del suero, quitosano, maltodextrina, entre otros, al mostrar mejoras en las propiedades físico-químicas del sistema, incrementos en la eficiencia de encapsulación y mayores tiempos en la liberación del principio activo (Lupo, González & Maestro, 2012). El tiempo considerado de inmersión de un alimento a un proceso de salmuera son 15, 30 y 60 minutos, estos datos son obtenidos de un estudio en un salado de lomo de cerdo (Ozuna. & Cárcel, 2011).

La industria farmacéutica colaboró ampliamente en el desarrollo de nuevas técnicas de microencapsulación. Otras industrias donde actualmente se aplica la encapsulación son la cosmética y la agrícola, en esta última se encapsulan pesticidas y fertilizantes garantizando su liberación constante. La encapsulación limita la oxidación, disminuye la higroscopicidad, logra una liberación controlada en el tiempo y permite la adición de mayor cantidad de ácido al producto (Aldana, Sandoval. & Aponte, 2011).

También indican que la encapsulación es una técnica muy útil para la protección de los aditivos utilizados en la industria de alimentos esta técnica se emplea en un producto alimenticio para la prolongación de su vida útil, la fortificación y liberación controlada de nutrientes, la disminución de la higroscopicidad, la transformación de sabores líquidos a polvos, la estabilización durante el almacenamiento y transporte a condiciones extremas de temperatura y humedad, el mejoramiento de la

temperatura y humedad, el mejoramiento de cualidades organolépticas y funcionales de productos alimenticios, la limitación de su interacción con otros ingredientes, entre otros.

La albahaca morada es parte de un importante grupo de plantas aromáticas que contienen aceites esenciales ricos en diferentes constituyentes, como linalol, geraniol, citral, alcanfor, eugenol, timol, entre otros, estos compuestos presentan actividad antimicrobiana (Burgos, 2016).

2.4.1 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR MICROORGANISMOS

El principal mecanismo a través del cual un cultivo iniciador puede afectar las propiedades texturales, reológicas y funcionales del queso, tiene que ver con su capacidad de producción de ácido, el cual afecta la red proteica y a su capacidad para retener agua. Un aumento en el contenido de humedad provocará una textura más blanda, menor firmeza. En la tabla 1, se especifican los métodos para realizar la cuantificación de cada microorganismo en el queso fresco (NTE INEN 1528, 2012.Revisión 2020).

Tabla 1.

Métodos de cuantificación de microorganismos en el queso fresco.

Microorganismo	Método de Ensayo	Norma Técnica donde aparece el procedimiento
Enterobacteriaceas, UFC/g	Control microbiológico de los alimentos Enteriobacteriaceae.	NTE INEN 1529-13
Escherichia coli, UFC/g	Recuento en placa por siembra en profundidad Método de película seca rehidratada en alimentos para Recuento de Coliformes y E. Coli.	AOAC 991.14
Staphylococcus aureus UFC/g	Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	Método horizontal para la detección y el recuento de <i>Listeria monocytogenes</i> y de <i>Listeria</i> spp.	ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25 g	Método de Siembra en placa de medios selectivos sólidos.	NTE INEN 1529-15

Fuente: NTE – INEN 1528, 2012.Revisión 2020

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El desarrollo de esta investigación se efectuó en el laboratorio de Eco-toxicología de la Universidad técnica de Manabí(UTM), ubicada en la ciudad de Portoviejo en las coordenadas 1°02'39"S 80°27'21"O (UTM, 2020), donde se realizó la extracción del aceite esencial de albahaca morada, se establecieron las condiciones de operación en la encapsulación por gelificación iónica, se encapsuló y se aplicó al queso fresco, para luego realizar el análisis humedad, microbiológico y organoléptico.

La parte organoléptica se evaluó con 30 panelistas no entrenados que se reflejara mediante la aplicación de escala hedónicas de cinco puntos (donde: 5= me gusta mucho, 4 = me gusta, 3= ni me gusta, ni me disgusta, 2 = casi no me gusta, 1 = no me gusta), el número de panelistas se lo seleccionó según lo realizado por Roman & Zambrano (2013). Los análisis microbiológicos fueron realizados en placas en siembras por dilución en las instalaciones de la Universidad Técnica de Manabí y la humedad en una balanza de humedad marca Mettler Toledo. Esta investigación fue de tipo experimental en el cual se realizó pruebas a los tratamientos en estudio.

3.2 DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La ejecución del trabajo de titulación se desarrolló en cinco meses a partir de la aprobación lo cual fue comprendido desde enero hasta mayo del 2020.

3.3 FACTORES EN ESTUDIO

Los factores en estudio son:

FACTOR A: Porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada.

FACTOR B: Tiempo de inmersión

3.4. NIVELES DE LOS FACTORES

Los niveles de los factores se pueden observar en la tabla 2.

Tabla 2

Niveles en los factores en estudio.

Factor A: %	Factor B: minutos.
a1: 5	b1: 15
a2: 10	b2: 30
a3: 15	b3: 60

3.5. TRATAMIENTOS

El número de tratamientos que se estudió se obtuvo teniendo en cuenta los factores (solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada y tiempo inmersión en el queso fresco) y sus niveles resultaron de las combinaciones de los tratamientos con tres réplicas que representan los días de conservación del producto para cada uno con un total de 9 tratamientos; como se detalla en la tabla 3.

Tabla 3

Tratamientos en estudio con su respectiva codificación

Tratamientos	Códigos	Descripción	
		Porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada (%)	Tiempo inmersión (minutos)
T1	a1*b1	5	15
T2	a1*b2	5	30
T3	a1*b3	5	60
T4	a2*b1	10	15
T5	a2*b2	10	30
T6	a2*b3	10	60
T7	a3*b1	15	15
T8	a3*b2	15	30
T9	a3*b3	15	60

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para evaluar tiempo de inmersión y el porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada aplicado al queso fresco se usó diseño de bloque completamente al Azar (DBCA) el mismo que fue bifactorial A*B. Las pruebas microbiológicas se determinaron en unidades formadoras de colonia (UFC/g) en siembra por dilución y los análisis organolépticos fueron evaluados por matrices hedónicas a 30 panelistas no entrenados y los datos se establecieron en ANOVA mediante el programa Spss 25.

Tabla 4.
Esquema ANOVA.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Tratamientos	8
Factor A	2
Factor B	2
Interacción AXB	4
Error	18
Total	26

3.7 UNIDAD EXPERIMENTAL

Cada unidad experimental fue de 500 g de queso fresco para cada tratamiento al cual se lo sumergió en una solución acuosa de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada, después de aplicar los tratamientos el queso se lo almacenó en fundas de polietileno.

3.8 MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para el manejo de los porcentajes de aceite esencial de albahaca morada encapsulado que se aplicaron en queso fresco, se lo realizó pesando en una balanza analítica marca Bensonmooth, la dosis a emplearse y luego se evaluó el tiempo de inmersión. A continuación, se detalla los pasos a seguir para la realización de esta investigación:

3.8.1.-DESCRIPCIÓN DEL DIAGRAMA PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

a) Recepción de la materia prima y selección: las hojas de Albahaca Morada (*Ocimum sanctum*) fueron recolectadas en la Finca La Pastora ubicada en la ciudad de Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, ubicada a una latitud -0.8542947 y longitud -80.1479273. Se recolectaron las hojas verdes sin daños físicos y se llevaron al laboratorio de Eco-Toxicología de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Técnica de Manabí.

b) Secado: El secado de las hojas se lo realizó en una estufa *de secado* TR 1050 donde se colocaron las hojas en las bandejas recubiertas con papel aluminio para ser secadas a una temperatura de 30 °C durante 3 horas hasta obtener una humedad \leq al 10 %.

c) Molienda: posteriormente se realizó la reducción del tamaño de las hojas mediante triturado en un mortero para facilitar el paso al interior del balón de destilación fondo plano.

d) Extracción con trampa de clewenger (hidrodestilación): después que se reduce el tamaño de las hojas, en una balanza analítica digital con precisión de hasta 0.001 g se pesó 30 g, los cuales se colocaron en el interior del balón de destilación de 1000 ml con 300 ml de agua destilada, seguidamente se ubicaron en el balón fondo plano con el material vegetal a una manta calefactora marca Heating Mantle Grere, luego se conectó con cuidado la trampa de clewenger y el refrigerante ambas sostenidas con pinzas a un soporte universal, se ubican las mangueras al refrigerante, una de ellas conectada a una bomba para llevar el agua con una temperatura de 24 °C al refrigerante, se comienza a calentar cuidadosamente a una temperatura de 100 °C hasta su ebullición, se pasa vapor de agua a través del material vegetal, para extraer las moléculas aromáticas volátiles, las cuáles son llevadas a través de un serpentín refrigerante hasta un recipiente donde se separó

el vapor enfriado (agua) del aceite esencial, este proceso se realizó durante un tiempo de 60 minutos (ver figura 2).

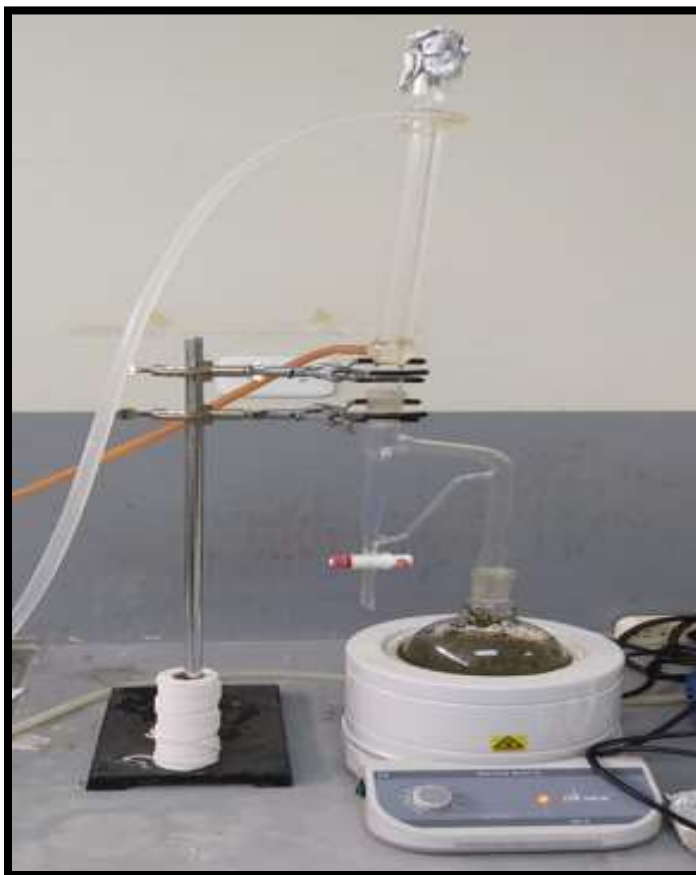


Figura 2. Extracción con trampa de clevenger (hidrodestilación)

e) Decantación: como el agua y el aceite son inmiscibles en estado líquido, se separaron de acuerdo con su densidad relativa en la bureta de la Trampa de Clevenger.

f) Evaporación: después del proceso de extracción este aceite se colocó en un matraz Erlenmeyer de 100 ml se llevó a baño maría con el uso de un recipiente con agua caliente para eliminar pequeñas cantidades de agua.

g) Envasado y almacenamiento: Con una jeringa estéril de 3 ml finalmente se almacenó el aceite esencial en viales para cromatografía (envase de vidrio ámbar), en un refrigerador a una temperatura de 4 °C a 8 °C, humedad relativa de

refrigeración de hasta 60 % para evitar su oxidación. A continuación, en la figura 3 se establece el diagrama de proceso.

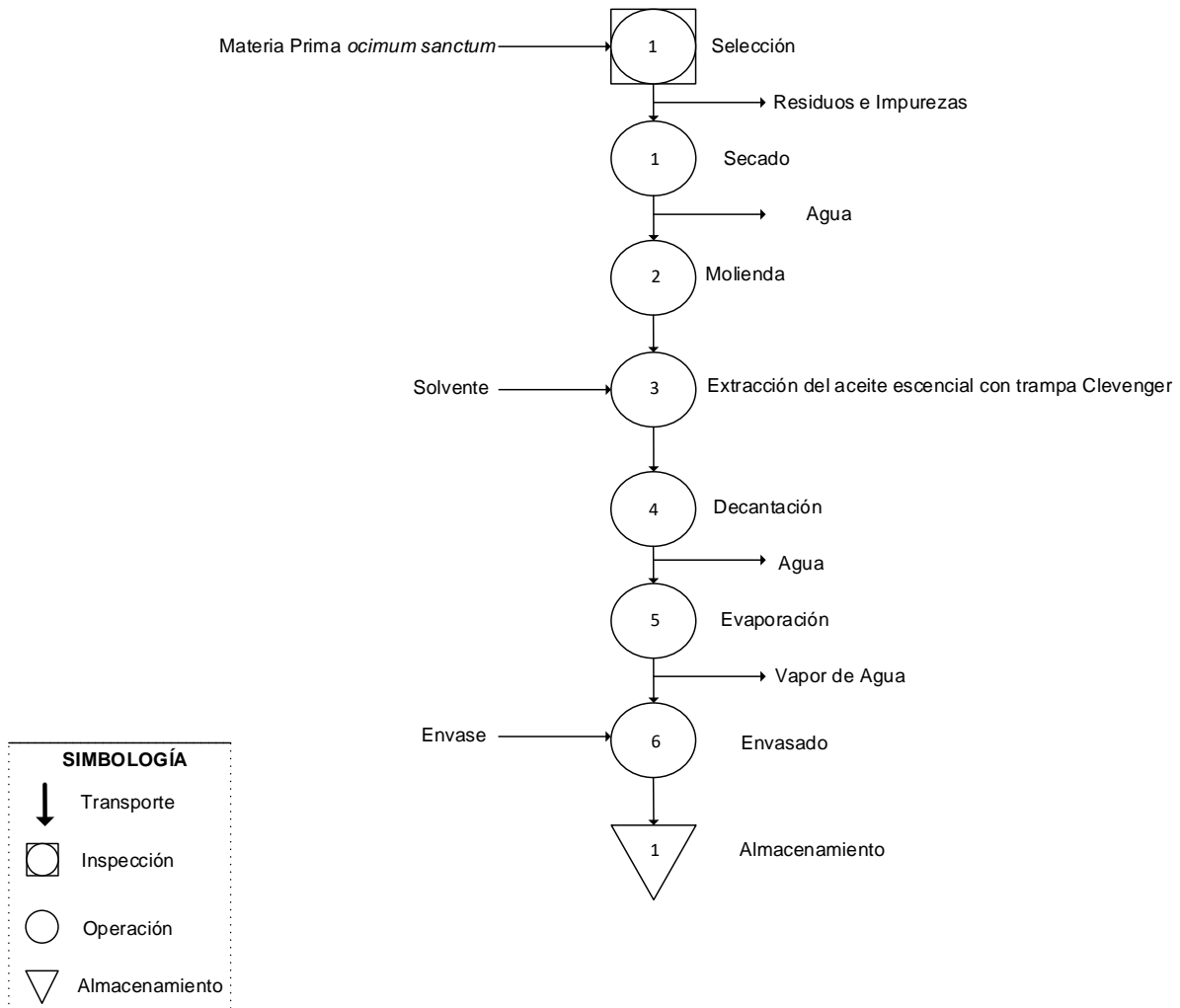


Figura 3. Descripción del diagrama para la extracción del aceite esencial

3.8.2.-ENCAPSULACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA.

1. Selección: En este paso se procedió a seleccionar la cantidad del compuesto activo que es el aceite esencial al 20 % p/v y como material encapsulante el alginato de sodio en concentraciones de 2 %, 3 % y 4 % p/v.
2. Emulsificación A/O: Se realizó la solución del aceite esencial de albahaca morada y del alginato de sodio.
3. Homogenización: La emulsión se disolvió el aceite esencial al 20 % p/v, obteniendo así, la solución de partida para la encapsulación.
4. Encapsulación por gelificación: La formación de cápsula se llevó a cabo mediante la gelificación iónica por goteo en una solución de cloruro de calcio (CaCl_2) al 2,5 % utilizando pistola de aspersion con tamaño de boquilla de 0,6 mm.
5. Almacenamiento: Las cápsulas permanecieron en la solución de cloruro de calcio durante aproximadamente 10 min a 15 min, luego se filtraron con papel filtro marca chm by CHMLAB GROUP de 185 mm y lavadas con agua destilada. En la figura 4 se establece el diagrama de proceso:

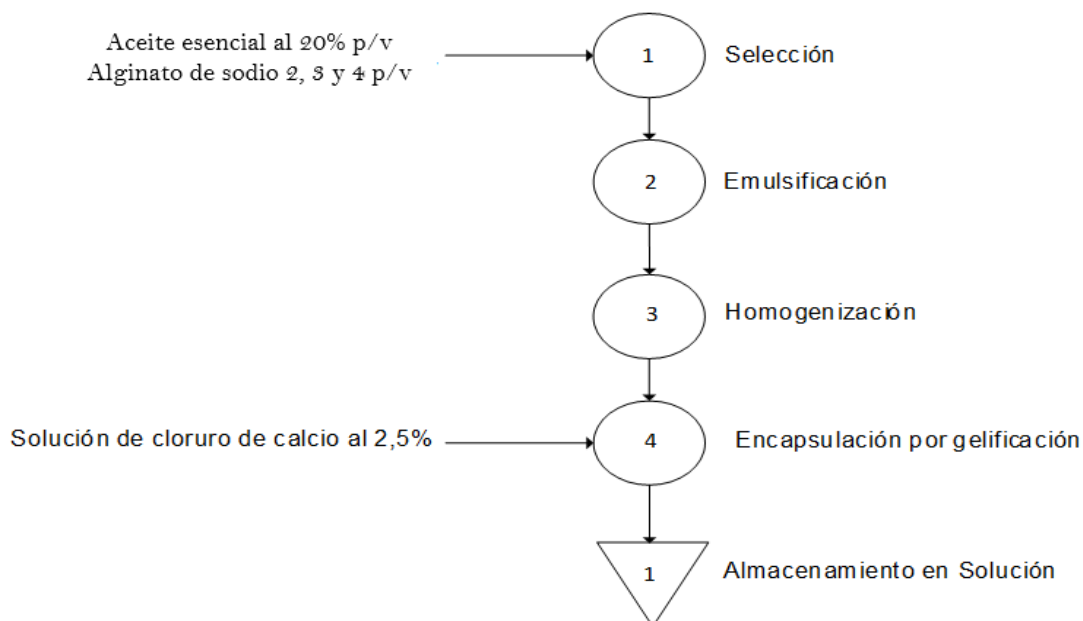


Figura 4. Encapsulación del aceite esencial de albahaca morada

Para establecer las mejores condiciones de operación se realizó lo siguiente:

Se determinó el rendimiento de microencapsulación, comparando el valor de las microcápsulas obtenidas y el de las microcápsulas esperadas (Calero, Sánchez, Tórrez, Hernann & Kaitlin, 2008), la ecuación se muestra a continuación:

$$\text{Ren} = \frac{\text{Cantidad de microcapsulas obtenidas}}{\text{Cantidad de microcápsulas esperadas}} \times 100 \% \quad (\text{E. 1})$$

Para la determinación del aceite superficial se realizó utilizando un equipo de Clevenger por el método de hidrodestilación en el cual se colocó la solución de cloruro de calcio saturada por las microcápsulas después del proceso de microencapsulación. Una vez determinado el aceite esencial superficial es posible obtener la eficiencia de microencapsulación mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ EM} = \frac{\text{cantidad teorica de A. E.} - \text{cantidad de aceite superficial}}{\text{cantidad teorica de A. E.}} \times 100 \% \quad (\text{E. 2})$$

3.8.3 DESCRIPCIÓN DE LA APLICACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA ENCAPSULADO EN EL QUESO FRESCO

1. Cortado/pesado: El queso fresco fue adquirido en la hacienda 'Mama Vaca' de la comunidad la Florida, del cantón Olmedo, ubicada a una latitud -0.8542947 y longitud -80.1479273, a los cuales les realizan análisis físico-químicos después de su elaboración. Se tomaron seis muestras al azar para realizarle los tratamientos estudio. Para aplicar los tratamientos estos quesos frescos fueron llevados al laboratorio de Eco-toxicología de la Universidad Técnica de Manabí, donde las muestras fueron cortadas y pesadas según las unidades experimentales que constan de 500 g cada una.
2. Inmersión en soluciones: Luego se procedió hacer la inmersión en los diferentes porcentajes establecidos (5; 10 ;15 %) de la solución acuosa, se sumergió directamente en la formulación de agua con las microcápsulas de aceite esencial

de albahaca morada el queso fresco por los tiempos establecidos en el factor B (15 minutos, 30 minutos y 60 minutos).

3. Envasado: Las muestras de queso fresco de 500 g fueron retiradas de la solución de manera manual, luego del tiempo establecido en este estudio y envasadas en fundas de polietileno y selladas con una selladora manual.
4. Almacenado: Fueron almacenadas a una temperatura de 15 °C.

En la figura 5 se establece el diagrama de proceso:

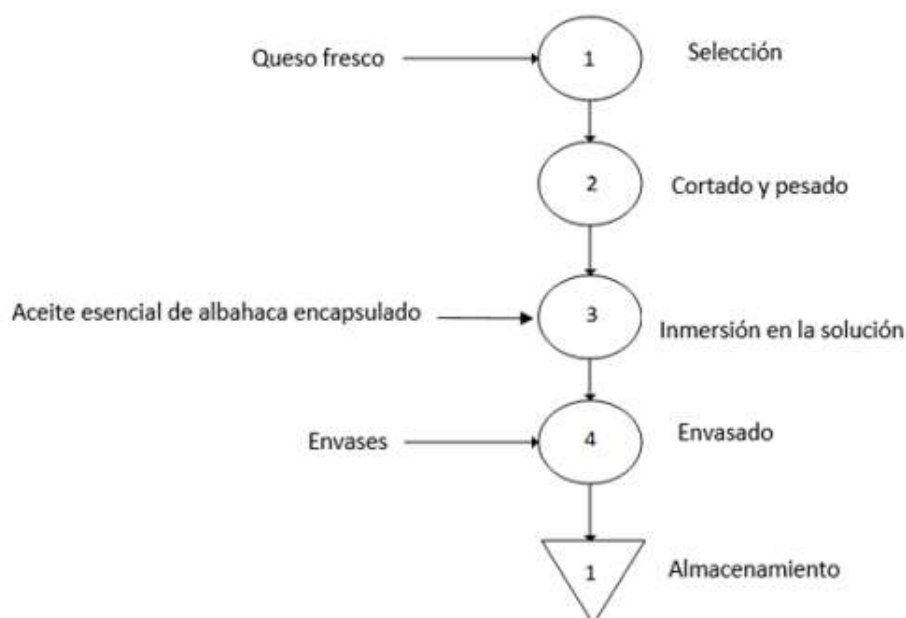


Figura 5. Aplicación del aceite esencial de albahaca morada encapsulado en el queso fresco.

3.9. VARIABLES A MEDIR

Las variables a medir fueron las características organolépticas y capacidad antimicrobiana en el queso fresco. Las cuáles fueron evaluadas de la siguiente manera: Para los análisis microbiológicos se realizaron en placas por siembra en dilución para *Salmonella* y *Escherichia coli*, en UFC/g se usará de muestra 1 g de cada tratamiento, los cuales fueron evaluados cada siete días por tres semanas y para el análisis de humedad se usó 5 g de muestra en una balanza de humedad

marca Mettler Toledo, la técnica que se aplicó fue la que usaron (Jiménez, Salhuana, Ríos, & Vásquez, 2018).

Las características organolépticas se evaluaron con 30 catadores no entrenados, en un recipiente se ubicaron 10 g de cada uno de los tratamientos donde las muestras fueron sujetas a los siguientes criterios: Sabor, olor y textura mediante una escala hedónica como se muestra en la ficha del anexo 1, estas características fueron evaluadas después de 3 días de aplicación.

3.10.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de las variables en estudio se realizaron las siguientes pruebas:

- a) Prueba no paramétrica de Friedman para parámetro sabor, olor, textura, Wilcoxon para textura y subconjuntos homogéneos para los parámetros sabor y textura.
- b) Para la variable capacidad microbiológica se evaluó según los resultados con la NTE INEN 1528, 2012.Revisión 2020.
- c) Variable humedad se aplicó un análisis de varianza (ANOVA). Se realizó para determinar la existencia de diferencias significativa estadísticas entre tratamientos. Permite determinar la magnitud de las diferencias entre tratamientos. Se analizaron al 5 % de probabilidad, de acuerdo a los grados de libertad (GL) del error.

• TRATAMIENTOS DE DATOS

Spss 25, e Infostat 2019 versión estudiante, ayudaron con el análisis de datos, utilizados para generar informes tabulares, gráficos y diagramas de distribuciones y tendencias, estadísticos descriptivos y análisis estadísticos complejos.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN

En la Tabla 5 se observa los rendimientos obtenidos por los diferentes porcentajes de alginato de sodio utilizados para realizar la microencapsulación, dando como mejor porcentaje de rendimiento en cuanto a la recuperación de microcápsulas el 85,83 % es decir mayor en comparación con los otros porcentajes utilizados.

Según Ferrándiz (2015) la concentración de alginato es un parámetro importante en la morfología de las microcápsulas, pues influye en el espesor de la membrana de las microcápsulas debido al proceso de migración de iones calcio desde la disolución del baño reticulante. A bajas concentraciones de alginato, la membrana es menos densa y porosa, y en el proceso de reticulación aparecen más tensiones que provocan la fragilidad y rotura de la membrana. Con todos estos argumentos se puede establecer que los mejores tratamientos son aquellos que utilizan un 4 % de alginato de sodio.

Tabla 5.

Rendimiento de Microencapsulación

% Alginato Sodio (w/w)	% Rendimiento de Microencapsulación
2	53,33
3	64,16
4	85,83

En la Tabla 6 muestra los resultados del aceite superficial recuperado según los porcentajes de alginato de sodio usado.

Tabla 6.

AE Recuperado

% Alginato Sodio (w/w)	AE Recuperado (g)
2	0,18
3	0,10
4	0,05

AE: Aceite esencial.

La eficiencia de la microencapsulación se observa en la tabla 7, donde la mejor fue de 94,79 %, es decir que las condiciones más adecuadas son las que utilizan (4 % de Alg.Na y 20 % de aceite esencial).

Tabla 7.

Eficiencia de microencapsulación

% Alginato Sodio (w/w)	% Eficiencia de microencapsulación
2	81,25
3	89,58
4	94,79

Loor & Segovia (2019) mencionan que el rendimiento y eficacia de las microcápsulas de aceite esencial de *Lippia alba* se encontraron en las condiciones correspondientes a una solución de alginato de sodio del 4 %, obteniendo un rendimiento del proceso de 86,44 % y eficacia de la microencapsulación de 93,15 %; en este estudio se utilizaron estas condiciones de operación.

En la figura 6 se observa la imagen microscópica con el software ToupView el cual permitió ver que el aceite esencial si se encuentra dentro de las microcápsulas, esta imagen es tomada a las microcápsulas que tuvieron mejor eficiencia, es decir las que se usaron concentraciones de alginato de sodio del 4 %.

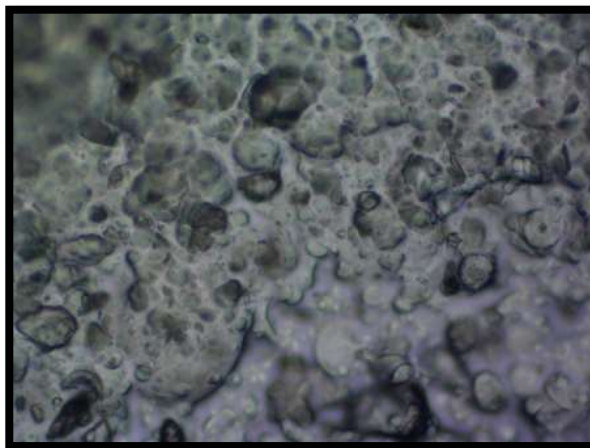


Figura 6. Observación microscópica a 10 aumentos de las microcápsulas obtenidas a concentraciones del 4 % de alginato de sodio.

Cabe mencionar que uno de los factores determinantes en la morfología de las microcápsulas que pueden influir en el tamaño y forma es la concentración del alginato de sodio (Castillo et al., 2017). Por otro lado, Barrios (2019) en su estudio dice que el alginato de sodio es útil porque mantienen su estabilidad en productos con pH ácidos, en la cual, esto explica porque se obtuvo buenos resultados con el uso de concentración de 4 % de alginato de sodio para la encapsulación debido que el pH del aceite esencial de albahaca morada se encuentra en un rango de 4,1 a 5,5.

4.2 CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL QUESO FRESCO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO DE INMERSIÓN Y DEL PORCENTAJE DE ACEITE ESENCIAL DE ALBAHACA MORADA ENCAPSULADO.

Los análisis estadísticos no paramétrico de las características sensoriales del queso fresco se realizaron a 30 catadores no entrenados, según las categorías de acuerdo con la escala hedónica que se muestra en anexo 1. Los resultados se detallan a continuación.

El anexo 2, se muestra los datos de olor los cuales fueron procesados con la prueba no paramétrica de Friedman, obteniendo resultados que se detallan en la tabla 8, en la que contiene el estadístico de Friedman (chi- cuadrado) su grado de libertad y su nivel crítico (sig. asintótica). Puesto que el nivel crítico 0,189 es mayor que 0,05 se acepta la hipótesis nula de los tratamientos para el parámetro olor, por lo que no difieren de acuerdo al criterio de jueces, es decir son estadísticamente iguales.

Tabla 8.

Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Olor.

Estadísticos de prueba^a

N	29
Chi-cuadrado	11,228
gl	8
Sig. asintótica	0,189

Los datos de sabor se detallan en el anexo 3, estos fueron procesados con la prueba no paramétrica de Friedman, que se describe en la tabla 9:

Tabla 9.

Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Sabor.

Estadísticos de pruebaa	
N	30
Chi-cuadrado	16,684
gl	8
Sig. asintótica	0,034

El nivel crítico igual 0,034 es menor que 0,05 para el parámetro sabor, rechazando así la hipótesis de igualdad de los tratamientos, y se concluye que los tratamientos difieren entre sí. Una vez rechazada la hipótesis nula se procedió a establecer la categorización de los tratamientos mediante una tabla de subconjuntos homogéneos como se puede observar en la tabla 10.

Tabla 10.

Resultados de subconjunto homogéneos de la variable sabor.

Subconjuntos homogéneos para la variable sabor			
		Subconjunto	
		1	2
Muestra1	Tratamiento_9	4,333	
	Tratamiento_6	4,367	4,367
	Tratamiento_5	4,567	4,567
	Tratamiento_3	4,683	4,683
	Tratamiento_2	4,700	4,700
	Tratamiento_8	4,700	4,700
	Tratamiento_1	5,850	5,850
	Tratamiento_7	5,883	5,883
	Tratamiento_4		5,917
Probar estadística		10,825	12,172
Sig. (prueba de 2 caras)		0,146	0,095
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		0,146	0,095

Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es 0,05.

1Cada casilla muestra el rango de media de muestras.

Estadísticamente la tabla 10 indica que el T4 que se encuentra en categoría 2 es el mejor tratamiento, debido a que su puntaje es el más alto según la escala hedónica, donde 5 significa me gusta mucho, mostrando que el tiempo de inmersión que menos afecta a la variable sabor es 15 minutos y el 10 % solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada; cabe mencionar que el T9 se usó un tiempo de inmersión de 60 minutos y un porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada en un 15 %, al encontrarse con el valor más bajo según las observaciones realizadas por dichos catadores, es el menos aceptado.

Los datos de textura se registran en el anexo 4, con estos resultados se efectuó una prueba no paramétrica de Friedman, obteniendo los resultados expuestos en la tabla 11.

Tabla 11.

Resultados de la prueba no paramétrica de Friedman para el parámetro Textura.

Estadísticos de prueba ^a	
N	30
Chi-cuadrado	32,679
gl	8
Sig. asintótica	0,000

Debido que el nivel crítico 0,000 es menor que 0,05 se rechaza la hipótesis nula para el parámetro textura, esto quiere decir que, si difieren de acuerdo al criterio de los jueces, de manera que son estadísticamente diferentes, por lo que se realizó además de Friedman la prueba de Wilcoxon, lo cual muestra las diferencias que existen. Según lo que se detalla en el anexo 5, el tratamiento 1 en comparación con los otros tratamientos se comporta diferente entre los demás y el tratamiento 2 se comporta igual en comparación con los otros tratamientos en relación a la sig-asintótica, en conclusión, el tratamiento 1 es el más significativo debido a que difiere entre los otros tratamientos.

También se procedió a establecer la categorización de los tratamientos mediante un cuadro de subconjuntos homogéneos, como se puede observar en la tabla 12.

Tabla 12.
Resultados de subconjunto homogéneos de la variable sabor

Subconjuntos homogéneos para la variable textura		Subconjunto		
		1	2	3
Muestra1	Tratamiento_3	4,233		
	Tratamiento_9	4,300		
	Tratamiento_5	4,350		
	Tratamiento_2	4,433		
	Tratamiento_6	4,450	4,450	
	Tratamiento_8	4,800	4,800	4,800
	Tratamiento_1	5,800	5,800	5,800
	Tratamiento_7		6,183	6,183
	Tratamiento_4			6,450
Probar estadística		7,600	9,340	5,950
Sig. (prueba de 2 caras)		0,269	0,025	0,114
Sig. ajustada (prueba de 2 caras)		0,331	0,056	0,239
Los subconjuntos homogéneos se basan en significancias asintóticas. El nivel de significancia es 0,05.				
1Cada casilla muestra el rango de media de muestras.				

La tabla 12 indica que el tratamiento más aceptable para la variable textura es el T4 al encontrarse con mayor puntaje de los más aceptables; en este tratamiento se utilizó un tiempo de inmersión de 15 minutos y el porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada que fue de 10 %, mostrando que esas condiciones son aceptadas debido que se conservaron mejor sus cualidades; en cambio el T3, T9, T5 y T2, el cual usó un tiempo de inmersión de 60 minutos y el porcentaje de solución de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada de 5% es el tratamiento menos agradable debido a que obtuvo el valor más bajo, cabe mencionar que los tratamientos del 5 % y 15 % fueron los menos aceptados debido que su sabor no era agradable.

Todo lo mencionado en el párrafo anterior, concuerda con Torres (2019) quien detalla que las concentraciones de aceite esencial de tomillo aplicadas a queso

fresco si interfieren en las características sensoriales del queso y con Ortega (2018) quien detalla que las concentraciones del 10 % de aceite esencial de orégano en queso fueron las más aceptadas por los panelistas.

Gómez & Chuquibala (2014) mencionan que el tiempo de inmersión en salmuera del queso fresco si influye en las características sensoriales, esto corrobora con esta investigación porque el mejor tiempo de inmersión fue 15 minutos. Cabe recalcar que el sentido del gusto es la combinación de las propiedades tales como el sabor, aroma y olor que hacen referencia a los sabores del alimento (Hernández, 2005).

4.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

La tabla 13 muestra lo obtenido en los análisis microbiológicos de *salmonella*, teniendo como resultado la ausencia para todos los tratamientos en los 7, 14 y 21 días que se realizaron, esto demuestra que las soluciones de 5, 10 y 15 % del aceite esencial encapsulado aplicado en tiempos de inmersión de 15, 30 y 60 minutos inhiben el crecimiento bacteriano en el queso fresco conservado a una temperatura de 15 °C.

Esto indica que se encuentra dentro de los estándares de calidad de la normativa Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1528, 2012. Revisión 2020).

Tabla 13.
Resultados de análisis de Salmonella.

Días Tratamientos	Salmonella		
	7	14	21
T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T4	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T5	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T6	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T7	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T8	Ausencia	Ausencia	Ausencia
T9	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Los resultados de la tabla 14 exhiben el recuento de *E. Coli* en las muestras de queso; esto reveló que no tienen diferencia estadísticamente significativa durante los 7, 10 y 21 días en las muestras de queso con inclusión, lo que esto comprueba que el aceite esencial de albahaca morada contribuye a la inhibición de microorganismo, lo cual corrobora con lo mencionado por Saltos & Vélez (2019); Rojas et al (2012), en la que este aceite esencial mediante análisis microbiológicos in-vitro presenta actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *E-coli* y *Salmonella* debido a que los compuestos fenólicos compuestos fenólicos tales como linalol y eugenol presente en el aceite esencial sensibilizan la membrana celular y al aumentar su concentración se saturan provocando un colapso de la membrana, lo que muestra porque son sensibles para *E-coli* y *Salmonella*.

Los aceites esenciales de orégano y tomillo han sido probados en concentraciones de 5% para la inhibición de microorganismos, demostrando la reducción de microorganismo patógenos (Elizari, 2013).

Tabla 14.
Resultados de análisis de *E. coli*

Días Tratamientos	<i>E. Coli</i>		
	7	14	21
T1	0	0	0
T2	0	0	0
T3	0	0	0
T4	0	0	0
T5	0	0	0
T6	0	0	0
T7	0	0	0
T8	0	0	0
T9	0	0	0

Fernandes et al. (2017) establece que el aceite esencial de romero encapsulado fue capaz de controlar la proliferación de bacterias en queso fresco, promoviendo un retraso en el crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento,

extendiendo así la vida útil del producto. A esto se le suma que las características del polímero (alginato de sodio) utilizado para la elaboración de las microcápsulas y la composición del componente activo (A.E. de albahaca morada), influyen directamente con el comportamiento y liberación del compuesto activo de las microcápsulas (Bakry et al., 2016).

4.3 ANÁLISIS DE HUMEDAD

La figura 7 demuestra que todos los tratamientos son iguales, no hay diferencias significativas de la humedad entre cada uno de los tratamientos, lo que indica que la humedad no fue alta lo que favorece porque alarga su vida útil, este análisis se lo realizo a los 7, 10 y 21 días después de la aplicación de los tratamientos.

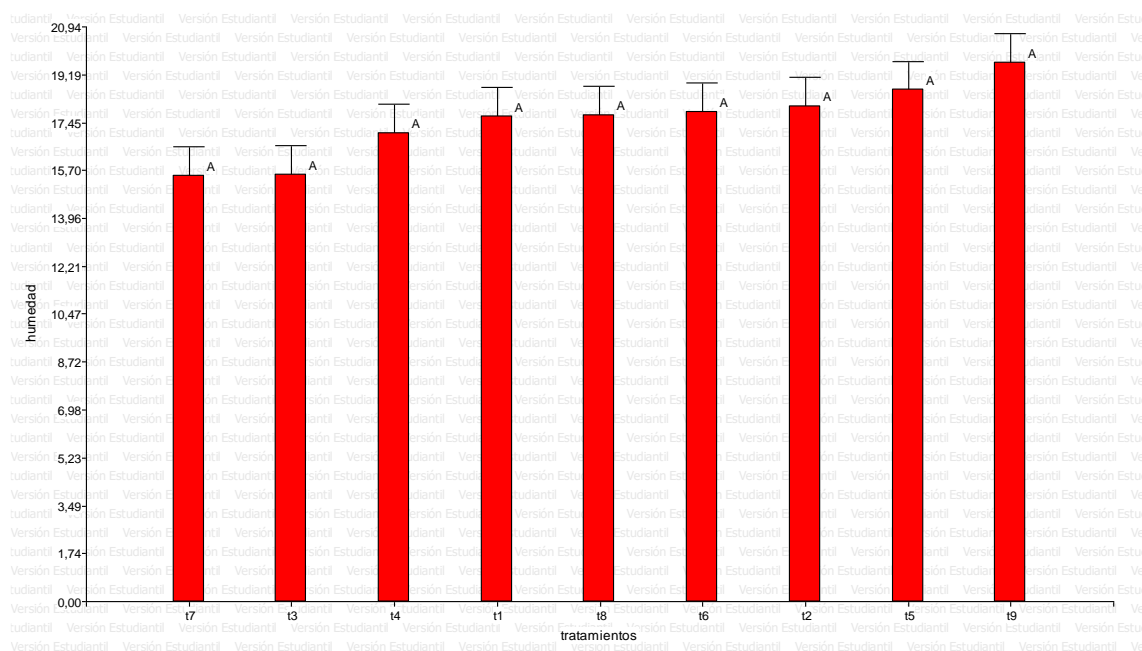


Figura 7. Resultados de la humedad del queso fresco en los diferentes tratamientos aplicados (letras iguales no difieren estadísticamente).

Siciliano (2010), según su estudio los quesos con una humedad menor de 36 % tienen menor riesgo microbiológicos debido a que dificultan el desarrollo de patógenos. La normativa Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1528, 2012.Revisión 2020) dice que la humedad debe de ser máxima 40, por lo que, según la norma el

queso fresco analizado pertenece a un tipo de queso duro y se encuentra dentro del parámetro establecido por la misma.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Las mejores condiciones en el proceso de encapsulación del aceite esencial de albahaca morada encapsulado fueron realizadas por método de gelificación iónica, el cual según esta investigación la mejor eficiencia fue del 94,74 % para una concentración de 4 % p/v del alginato de sodio y 20 % p/v de aceite esencial.
- El tiempo de inmersión y el porcentaje de la solución de aceite esencial de albahaca morada encapsulado que no cambiaron las características organolépticas del queso según los parámetros textura y sabor es 15 minutos y 10 %, que pertenece al tratamiento 4; en cambio, para el parámetro olor no hay diferencias significativas.
- En todos los tratamientos, los resultados dieron negativo para *E. coli* y *Salmonella* lo que demuestra, que el tiempo de inmersión y los porcentajes usados en cada tratamiento del aceite esencial de albahaca morada encapsulado controlaron la proliferación de microorganismos, promoviendo un retraso en el ataque de patógenos y extendiendo así la vida útil del queso fresco.

5.2 RECOMENDACIONES

- Este trabajo muestra que el aceite esencial de albahaca morada encapsulado tiene potencial para ser usado como conservante en el queso fresco. Sin embargo, se recomienda profundizar y continuar con la investigación con el fin de determinar las características organolépticas, microbiológicas y su posible uso a una escala industrial.

BIBLIOGRAFÍA

Abanto, M., González, J. & Portocarrero, S. (2018). Calidad de los derivados lácteos producidos en la Región Amazonas, Perú. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*.

Abreu, Y., Correa, M., Espinosa, O., Pino, O., Roja, M., & Sánchez, Y. (2012). Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *Genovese*. *Revista de protección Vegetales*. Cuba.

Aldana, A., Sandoval, E., & Aponte, A. (2011). Encapsulación de aditivos para la industria de alimentos. *Ingeniería y competitividad*. *Ingeniería y competitividad*, 73 – 83. Disponible en: <https://doi.org/10.25100/iyc.v5i2.2298>.

Álvarez, V., Chávez, J., González, G., Salas, L. & Moncayo, M. (2015). Producción orgánica de albahaca en invernadero en Comarca Lagunera. *Terra Latinoamericana*, 69-77.

Arellano, A., & Montesdeoca, F. (2016). Evaluación de preservantes naturales, para incrementar el tiempo de vida útil de análogos proteicos elaborados con Quinoa. (Tesis de pregrado). Universidad de Las Américas. Quito-Ecuador.

Bakry, A. M., Abbas, S., Ali, B., Majeed, H., Abouelwafa, M. Y., Mousa, A., & Liang, L. (2016). Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(1), 143-182.

Barrios, F. (2019). Estudio de encapsulación de polifenoles de té: Propiedades y estabilidad Valladolid. (Tesis de pregrado). Universidad de Valladolid. Valladolid-España.

Berovides, M., & Michelena, E. (2013). La gestión de la calidad en una empresa de pastas alimenticias. *Ingeniería Industrial*, 252-266.

Borras, L., García, D., Pulido, M., & Rodríguez, J. (2014). Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*.

Bonilla, C., Delgado, J. & Sánchez, M. (2015). Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia organoides* Kunth. *Revista Universidad nacional de Colombia*.

Burgos, A. (2016). Evaluación de dos variedades de albahaca. *Agrotecnia* 23, 10-14.

Calero, J., Sánchez, Y., Tórrez, R., Hernann, E., & Kaitlin, L. (2008). Elaboración y Caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de Diclofenac obtenidas por Gelificación Iónica. *Revista Científica de la UNAN-León*, 27-30.

Cardoso, G. & Sosa, M. (2012). Propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum bacilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*. Recuperado 14 de junio del 2018 de <https://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6> (1).

Carmona, R., López, O., Gonzáles, M., Fernández, E., & Barzaga, P. (2009). Optimización de un proceso de obtención de extracto acuoso de *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(3), 14-22.

Carrillo, M., & Mondragón, F. (2011). Estudio de vida útil del queso asadero. Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, (San Luis. Potosí, S.L.P. México).

Chavarrías, M. (9 de junio de 2016). *Consumer erorki*. Recuperado el 30 de agosto de 2019, de <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/propiedades-organolepticas-de-los-alimentos.html>.

Castaño, H., Ciro, G., Zapata, J., & Jiménez, S. (2010). Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*.

Castillo, S., Alvarado, J., Baez, J., Macías, E., Ramírez, P., Candelas., M. & Gonzales., C (2017). Diseño de microcápsulas de alginato con matriz prebiótica de aloe vera para la encapsulación de *Lactobacillus plantarum*. *Investigación y Desarrollo en Ciencias y Tecnología de Alimentos*. Vol. 2.

Cadena, J., & Pozo, S. (2011). Producción y comercialización de queso amasado en la ciudad de Quito. (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas. Quito. Ecuador.

Campuzano, S., Mejía, D., Madero, M., & Pabón, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. Bogotá. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Recuperado 31 de agosto del 2019. Disponible en: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/1708/1961>.

Ceballos, V., & Londoño, L. (2017). Aceites esenciales en la conservación de alimentos. *Universidad Libre. Microciencia*. Disponible en: 0m.

CODEX STAN 192-1995. Norma general para los aditivos alimentarios Codex Stan 192-1995. Disponible en: http://www.fao.org/gsfonline/docs/CXS_192s.pdf.

Cuesta, A. (2018). Control de calidad en la industria de productos lácteos. (tesis de pregrado). Universidad de Valladolid. España.

Dávila, R., Sosa, R., Navarro, A., Téllez, C., & Lazcano, M. (2013). Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de un extracto oleoso de poro (*Allium ampeloprasum* Var. *porrum*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*.

El Telégrafo. (18 de octubre de 2014). La producción lechera en Ecuador genera \$1.600 millones en ventas anuales. El Telégrafo. Recuperado el 01 de noviembre de 2019 de: <https://alsur.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/la-produccionlechera-en-ecuador-genera-1-600-millones-en-ventas-anuales-infografia>.

Elizari, I. (2013). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de orégano y tomillo incorporados en soluciones formadoras de films sobre la microbiota superficial de filetes de merluza. (Tesis de posgrado). Universidad Pública de Navarra. España.

Díaz, M., García, M., Jiménez, J., & Villanueva, A. (2015). Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio. Universidad autónoma del Estado de México. México.

Duran, L. (2001). Aditivos naturales. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. *Revista arbor Ciencia pensamiento y cultura*. Disponible en: <http://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/824/831>.

FAO. (2019). Inocuidad alimentaria. Recuperado el 31 de agosto del 2019. Disponible: <http://www.fao.org/food-safety/es/>

FAO. (2019). Peligros para la salud. Recuperado el 30 de octubre del 2019. Disponible: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/>

Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. En N. Garti y J. McClements, *Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals*, 92-121. Cambridge, UK.

Fernandes, R. V. D. B., Guimarães, I. C., Ferreira, C. L. R., Botrel, D. A., Borges, S. V., & de Souza, A. U. (2017). Microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil as a biopreservative in minas frescal cheese. *Journal of food processing and preservation*, 41(1), e12759.

Ferrándiz, M. (2015). Encapsulación de aceites esenciales funcionales para su aplicación en agricultura. (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. España.

Guevara, N., & Jiménez, T. (2008). Encapsulación: técnicas y aplicaciones en la industria alimenticia. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas. Puebla. México.

Gómez, C., & Chuquibala, J. (2014). Influencia del porcentaje de humedad, tiempo de inmersión en salmuera y presión de envasado al vacío en la vida útil del queso fresco. (Tesis pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Perú.

González, C. (2018). Análisis de la calidad microbiológica de los alimentos procedentes de cadenas de comida rápida. Universidad Da Coruña. Recuperado 31 de agosto 2019. Disponible: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/21542/GonzalezRodriguez_Cristina_TFG_2018.pdf?sequence=2&isAllowed=y/.

González, S., González, H., Hernández, A., Macedo, L., & Rivera, L. (2017). Identificación de compuestos volátiles relacionados con el aroma y sabor de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Reaxion. Ciencia y tecnología universitaria*.

Grijalva, J. (2011). La industria lechera en Ecuador: un modelo de desarrollo. Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador. *Retos 1. Enero/Junio. Pp. 65-70*

Hernández, P. (2011). Encapsulación de aceite esencial de clavo para su aplicación en la industria alimentaria. (Tesis doctoral). Universidad Católica San Antonio. Murcia - España.

Hernández, E. (2005). Evaluación sensorial. Bogotá, DC. Centro Nacional de Medios para el Aprendizaje. Recuperado 29 de Marzo del 2020. Disponible: https://www.academia.edu/22625186/EVALUACION_SENSORIAL.

Inampudi, S., & Ivvala, A. (2010). Antioxidant activity in *Ocimum sanctum* Linn, *Ocimum basilicum* .*Revista Asian Journal of Bio Science*.

Jiménez, L., Salhuana, J., Ríos, L. & Vásquez, V. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada. Revista Scielo Perú*.

Longoni, T., & Alonso, J. I. (2015). Interés de la albahaca (*Ocimum basilicum*) como alimento: valor nutritivo y propiedades funcionales. Milano. Università Degli Studi Di Milano.

Loor, H., & Segovia, D. (2019). Microencapsulación de aceite esencial de Lippia alba y su actividad antioxidante y antimicrobiana para la conservación de alimentos. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo. Ecuador

Lupo, B., González, C. & Maestro, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 3 (1): 130-151*.

Matiacevich, S., & Saez, C. (2017). Encapsulación de aceite esencial de lemongrass en el desarrollo de ingredientes naturales en polvo para preservación de alimentos. *Contribuciones científicas y tecnológicas - VOL. 42 I N° 2 I pp. 23 31. Revista científica de la Universidad Santiago de Chile*.

Matiz, G., Fuentes, K., & León, G. (2015). Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en matrices poliméricas de almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*) modificado. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* Vol. 44(2), 189-207.

McClements, J. (2012). Encapsulation technology and delivery. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited. Recuperado 15 de junio del 2019 de <https://www.elsevier.com/books/encapsulation-technologies-and-delivery-systems-for-food-ingredients-and-nutraceuticals/garti/978-0-85709-124-6/>.

Montoya, C., & Restrepo, A. (2010). Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa. (tesis doctoral). Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira. Colombia.

NTE INEN 1528. (2012). Normas generales para el queso fresco no madurado. Requisitos. Revisión 2020. Quito. Ecuador.

Organización Nacional de Salud. (2018). Aditivos Alimentarios 2018. Recuperado 01 de septiembre. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-additives>.

Ortega, A. (2018). Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600 (Tesis de pregrado). Universidad Técnica Salesiana. Cuenca-Ecuador.

Olivares, M., & López, A. (2013). Potencial antimicrobiano de mezclas que incluyen aceites esenciales componentes en fase vapor. *temas selectos de ingeniería de alimentos 7-1 (2013): 78 – 86*.

Ozuna, C., & Carcel, J. (2011). Influencia de la concentración de la salmuera en el transporte de agua y sal durante el salado de lomo de cerdo (*Longissimus dorsi*). (Tesis de posgrado). Universidad Politécnica de Valencia. España.

Paucar, A., & Celene, Y. (2018). Microencapsulamiento para la obtención de polvo a partir del subproducto de mango (*Mangifera indica*). (tesis de pregrado). Universidad católica de Loja. Loja-Ecuador.

Parra, R. (2011). Microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. Colombia.

Pilamunga, C. (2017). "Evaluación higiénico-sanitaria de la quesera artesanal Cod.Q1 ubicada en la Parroquia Químiag del Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo". (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador.

Prakash, P., & Gupta, N. (2005). Therapeutic uses of *ocimum sanctum linn* (tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review. *Indian J Physiol Pharmacol*.

Quintero, C., (2018). Evaluación del efecto de la concentración de la salmuera y tiempo de inmersión en el contenido de cloruro de sodio del queso mozzarella colanta. (Especialización). Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Medellín. Colombia.

Ramírez, C., & Vélez, J. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*, 131-148.

Rivas, K., Rivas, C., & Gamboa, L. (2015). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum L.*). *Multiciencias*. Universidad del Zulia.

Roman, D., & Zambrano, R. (2013). Estudio de la vida útil de la humita precocida por métodos físico y químico mediante el factor de aceleración Q10. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Ecuador.

Rojas, M., Sánchez, Y., Abreu, Y., Espinosa, I., Correa, T., & Pino, O. (2012). Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum L.* y *Ocimum basilicum var. genovese L.* *Revista Protección Vegetales*.

Saltos, M., & Vélez, R. (2019). Caracterización física, química, microbiológica y funcional de los extractos de la especie albahaca. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo-Ecuador.

Salas, J. (2019). Encapsulación del ácido ascórbico y compuestos fenólicos del extracto de tumbo serrano (*Passiflora mollissima H.B.K.*) en alginato de sodio mediante gelificación iónica. (Tesis de pregrado). Universidad Peruana Unión. Lima. Perú.

Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T.M., Naranjo, E., & Iglesia, A. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (*caisimon de anís*). *Revista de protección vegetal*, 24(1),39-46.

Siciliano, M. (2010). Estudio de la vida útil del queso crema, utilizando microbiología predictiva. (Tesis de maestría) Universidad Tecnológica Nacional. Buenos Aires. Argentina.

Soares, W. (2018). Síntesis y caracterización de microcápsulas de aceite esencial de naranja para usos en aromaterapia. (Tesis de maestría). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia - España.

Soto, Z., Pérez, L., & Estrada. (2015). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: *una mirada en Colombia*. *Revista Scielo*.

Tigasi, J. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial, extracto de albahaca (*Ocimum basilicum*) y el hipoclorito de sodio al 2,5 % sobre cepas de enterococcus faecalis “Estudio comparativo ‘in Vitro’”. (Tesis de pregrado) Universidad Central del Ecuador. Quito.

Toricella, R., Pulido, H., & Zamora, E. (2014). Evaluación sensorial aplicada a la investigación, desarrollo y control de la calidad en la industria alimentaria. *Editorial Universitaria*.

Torres, D. (2019). Efecto de la concentración del aceite esencial de tomillo (*thymus vulgaris*) sobre la vida útil del queso fresco artesanal. (Tesis de posgrado). Escuela Superior Politécnica de Manabí Manuel Félix López. Calceta.

Universidad Técnica de Manabí. (2020). GeoHack-Universidad Técnica de Manabí. Recuperado en: https://geohack.toolforge.org/geohack.php?language=es&pagename=Universidad_T%C3%A9cnica_de_Manab%C3%AD¶ms=-1.04416667_N_-80.45583333_E_type:edu.

Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Márquez, M., & Ramos., E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y perspectiva*.

Wanden, C. (2015). Calidad, innovación y desarrollo tecnológico en nutrición enteral en el siglo xxi. *Nutrición hospitalaria*, 67-75.

Weng, S. (2017). Los aceites esenciales (AA. EE.) son mezclas complejas de sustancias químicas biosintetizadas. Universidad de Oviedo. Oviedo - España.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de análisis sensoriales



TEST DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE QUESO FRESCO

Fecha:

Frente a usted tiene 9 muestras de queso fresco, con código de tres dígitos. La escala a utilizar es de 1 a 5 puntos (5= me gusta mucho; 4 = me gusta; 3= ni me gusta; ni me disgusta; 2 = casi no me gusta; 1 = no me gusta), para medir las características sensoriales que encuentre en cada una de estas merque con una X, según lo que usted considere mejor

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

CÓDIGO					
PARAMETROS EVALUADOS	PUNTUACIÓN				
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta Ni me disgusta	Casi no me gusta	No me gusta
Olor					
Sabor					
Textura					

Anexo 2. Tabulación de la encuesta del parámetro olor

PANELISTAS	OLOR								
	401	402	403	404	405	406	407	408	409
1	4	3	2	4	4	4	5	4	4
2	2	2	4	3	3	4	5	3	5
3	4	3	2	4	4	3	2	3	4
4	4	4	5	4	5	1	4	4	2
5	4	4	4	5	4	2	3	5	4
6	4	2	3	4	4	3	3	2	3
7	4	4	2	4	5	4	4	4	3
8	3	2	3	3	3	2	2	2	4
9	4	3	2	4	2	5	5	4	4
10	4	4	4	2	4	3	5	2	5
11	2	2	1	4	2	2	5	2	5
12	5	5	2	3	1	1	4	3	2
13	4	4	2	4	5	4	5	3	2
14	4	3	5	4	4	3	5	4	3
15	3	5	4	3	3	4	3	3	4
16	4	5	3	4	3	2	4	1	2
17	4	4	4	3	4	4	3	2	4
18	2	2	1	5	3	2	3	3	3
19	4	4	4	5	4	4	4	5	4
20	5	4	2	4	5	5	4	4	2
21	3	3	1	3	3	4	3	3	4
22	4	4	2	5	2	1	4	4	2
23	4	3	4	4	4	3	2	5	4
24	3	2	4	5	4	2	4	4	1
25	2	2	5	2	3	4	3	2	3
26	4	4	3	4	1	5	4	4	2
27	4	3	5	2	1	3	5	2	4
28	3	2	2	4	2	1	4	4	3
29	5	3	4	3	3	2	2	2	1
30	4	3	5	4	1	5	4	3	2

Anexo 3. Tabulación de la encuesta del parámetro sabor

PANELISTAS	SABOR								
	401	402	403	404	405	406	407	408	409
1	5	5	5	4	4	4	5	1	4
2	4	3	5	5	2	5	5	4	4
3	4	4	4	4	3	5	4	3	2
4	5	5	5	5	2	4	4	4	4
5	2	4	2	3	4	4	3	3	3
6	4	4	5	3	2	3	4	4	4
7	3	2	1	3	2	1	3	2	1
8	4	2	4	5	4	5	4	5	4
9	4	3	3	3	3	4	4	3	3
10	4	4	3	5	2	5	2	4	4
11	4	2	3	4	5	2	4	4	2
12	4	2	3	5	5	4	5	3	5
13	5	2	2	4	5	3	1	3	4
14	4	2	3	2	3	2	4	4	3
15	3	3	3	4	2	1	2	3	2
16	4	2	1	3	5	2	4	1	3
17	1	3	3	4	5	3	4	4	2
18	2	3	4	5	4	5	4	5	3
19	5	5	5	4	2	4	5	2	4
20	4	3	5	1	4	1	5	5	2
21	2	4	4	4	3	2	4	3	5
22	5	5	1	5	5	4	5	4	4
23	5	5	4	5	4	2	4	1	3
24	4	4	2	3	3	4	2	3	4
25	4	2	5	2	2	3	4	4	2
26	3	1	1	3	2	1	3	2	1
27	4	2	3	5	1	4	5	3	5
28	2	5	2	2	3	3	3	3	5
29	4	2	3	4	2	2	4	4	3
30	3	3	3	3	3	1	2	2	2

Anexo 4. Tabulación de la encuesta del parámetro textura.

PANELISTAS	TEXTURA								
	401	402	403	404	405	406	407	408	409
1	5	5	5	3	3	3	3	1	5
2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
3	5	5	5	5	5	2	5	2	1
4	5	2	3	5	2	4	4	4	4
5	3	3	3	4	4	3	3	3	3
6	5	2	5	5	5	3	5	5	1
7	4	1	2	5	4	2	4	2	2
8	4	4	5	5	3	4	4	5	4
9	3	3	3	3	2	2	4	4	5
10	4	5	4	5	4	5	4	3	3
11	4	4	4	5	3	4	5	4	4
12	3	3	3	3	4	2	4	1	4
13	5	2	3	5	5	5	5	5	5
14	4	5	4	5	4	3	4	5	3
15	4	2	2	5	1	3	4	3	4
16	3	3	3	3	2	4	3	4	2
17	5	2	2	5	4	2	4	2	4
18	3	3	3	4	1	3	3	3	3
19	5	5	3	5	5	4	5	5	2
20	4	5	4	3	1	5	4	3	5
21	4	3	2	1	4	2	4	2	2
22	3	3	3	3	2	4	5	4	5
23	4	4	5	5	2	2	4	5	3
24	5	1	2	5	4	4	4	1	4
25	3	3	3	4	3	3	3	3	3
26	5	2	1	5	5	2	5	2	2
27	4	1	4	5	4	3	4	2	1
28	4	4	1	2	3	2	4	4	2
29	3	3	3	3	2	4	4	4	2
30	2	2	1	2	4	4	5	2	2

Anexo 5. Resultados de la prueba de Wilcoxon para el parámetro de textura.

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
2. textura - 1. textura	Rangos negativos	10 ^a	8,35	83,50
	Rangos positivos	3 ^b	2,50	7,50
	Empates	17 ^c		
	Total	30		
3. textura - 1. textura	Rangos negativos	11 ^d	7,91	87,00
	Rangos positivos	2 ^e	2,00	4,00
	Empates	17 ^f		
	Total	30		
4. textura - 1. textura	Rangos negativos	4 ^g	12,13	48,50
	Rangos positivos	11 ^h	6,50	71,50
	Empates	15 ⁱ		
	Total	30		
5. textura - 1. textura	Rangos negativos	15 ^j	9,70	145,50
	Rangos positivos	3 ^k	8,50	25,50
	Empates	12 ^l		
	Total	30		
6. textura - 1. textura	Rangos negativos	17 ^m	13,18	224,00
	Rangos positivos	6 ⁿ	8,67	52,00
	Empates	7 ^o		
	Total	30		
7. textura - 1. textura	Rangos negativos	4 ^p	5,13	20,50
	Rangos positivos	6 ^q	5,75	34,50
	Empates	20 ^r		
	Total	30		
8. textura - 1. textura	Rangos negativos	13 ^s	12,92	168,00
	Rangos positivos	7 ^t	6,00	42,00

	Empates	10 ^u		
	Total	30		
9. textura - 1. textura	Rangos negativos	16 ^v	10,81	173,00
	Rangos positivos	4 ^w	9,25	37,00
	Empates	10 ^x		
	Total	30		
3. textura - 2. textura	Rangos negativos	8 ^y	8,38	67,00
	Rangos positivos	8 ^z	8,63	69,00
	Empates	14 ^{aa}		
	Total	30		
4. textura - 2. textura	Rangos negativos	4 ^{ab}	8,50	34,00
	Rangos positivos	15 ^{ac}	10,40	156,00
	Empates	11 ^{ad}		
	Total	30		
5. textura - 2. textura	Rangos negativos	14 ^{ae}	10,21	143,00
	Rangos positivos	11 ^{af}	16,55	182,00
	Empates	5 ^{ag}		
	Total	30		
6. textura - 2. textura	Rangos negativos	9 ^{ah}	10,78	97,00
	Rangos positivos	11 ^{ai}	10,27	113,00
	Empates	10 ^{aj}		
	Total	30		
7. textura - 2. textura	Rangos negativos	4 ^{ak}	6,13	24,50
	Rangos positivos	16 ^{al}	11,59	185,50
	Empates	10 ^{am}		
	Total	30		
8. textura - 2. textura	Rangos negativos	6 ^{an}	12,83	77,00
	Rangos positivos	12 ^{ao}	7,83	94,00
	Empates	12 ^{ap}		
	Total	30		

9. textura - 2. textura	Rangos negativos	10 ^{aq}	9,05	90,50
	Rangos positivos	9 ^{ar}	11,06	99,50
	Empates	11 ^{as}		
	Total	30		
4. textura - 3. textura	Rangos negativos	3 ^{at}	8,50	25,50
	Rangos positivos	17 ^{au}	10,85	184,50
	Empates	10 ^{av}		
	Total	30		
5. textura - 3. textura	Rangos negativos	12 ^{aw}	10,04	120,50
	Rangos positivos	11 ^{ax}	14,14	155,50
	Empates	7 ^{ay}		
	Total	30		
6. textura - 3. textura	Rangos negativos	9 ^{az}	13,00	117,00
	Rangos positivos	13 ^{ba}	10,46	136,00
	Empates	8 ^{bb}		
	Total	30		
7. textura - 3. textura	Rangos negativos	3 ^{bc}	6,67	20,00
	Rangos positivos	16 ^{bd}	10,63	170,00
	Empates	11 ^{be}		
	Total	30		
8. textura - 3. textura	Rangos negativos	7 ^{bf}	12,14	85,00
	Rangos positivos	12 ^{bg}	8,75	105,00
	Empates	11 ^{bh}		
	Total	30		
9. textura - 3. textura	Rangos negativos	10 ^{bi}	11,80	118,00
	Rangos positivos	12 ^{bj}	11,25	135,00
	Empates	8 ^{bk}		
	Total	30		
5. textura - 4. textura	Rangos negativos	18 ^{bl}	11,33	204,00
	Rangos positivos	4 ^{bm}	12,25	49,00

	Empates	8 ^{bn}		
	Total	30		
6. textura - 4. textura	Rangos negativos	19 ^{bo}	13,68	260,00
	Rangos positivos	6 ^{bp}	10,83	65,00
	Empates	5 ^{bq}		
	Total	30		
7. textura - 4. textura	Rangos negativos	13 ^{br}	9,00	117,00
	Rangos positivos	8 ^{bs}	14,25	114,00
	Empates	9 ^{bt}		
	Total	30		
8. textura - 4. textura	Rangos negativos	15 ^{bu}	12,70	190,50
	Rangos positivos	6 ^{bv}	6,75	40,50
	Empates	9 ^{bw}		
	Total	30		
9. textura - 4. textura	Rangos negativos	20 ^{bx}	13,45	269,00
	Rangos positivos	6 ^{by}	13,67	82,00
	Empates	4 ^{bz}		
	Total	30		
6. textura - 5. textura	Rangos negativos	12 ^{ca}	11,13	133,50
	Rangos positivos	10 ^{cb}	11,95	119,50
	Empates	8 ^{cc}		
	Total	30		
7. textura - 5. textura	Rangos negativos	1 ^{cd}	3,00	3,00
	Rangos positivos	13 ^{ce}	7,85	102,00
	Empates	16 ^{cf}		
	Total	30		
8. textura - 5. textura	Rangos negativos	12 ^{cg}	14,67	176,00
	Rangos positivos	13 ^{ch}	11,46	149,00
	Empates	5 ^{ci}		
	Total	30		

9. textura - 5. textura	Rangos negativos	12 ^{ci}	11,58	139,00
	Rangos positivos	10 ^{ck}	11,40	114,00
	Empates	8 ^{cl}		
	Total	30		
7. textura - 6. textura	Rangos negativos	3 ^{cm}	5,50	16,50
	Rangos positivos	17 ^{cn}	11,38	193,50
	Empates	10 ^{co}		
	Total	30		
8. textura - 6. textura	Rangos negativos	7 ^{cp}	7,50	52,50
	Rangos positivos	7 ^{cq}	7,50	52,50
	Empates	16 ^{cr}		
	Total	30		
9. textura - 6. textura	Rangos negativos	8 ^{cs}	8,63	69,00
	Rangos positivos	7 ^{ct}	7,29	51,00
	Empates	15 ^{cu}		
	Total	30		
8. textura - 7. textura	Rangos negativos	15 ^{cv}	11,33	170,00
	Rangos positivos	4 ^{cw}	5,00	20,00
	Empates	11 ^{cx}		
	Total	30		
9. textura - 7. textura	Rangos negativos	15 ^{cy}	10,20	153,00
	Rangos positivos	3 ^{cz}	6,00	18,00
	Empates	12 ^{da}		
	Total	30		
9. textura - 8. textura	Rangos negativos	10 ^{db}	9,30	93,00
	Rangos positivos	8 ^{dc}	9,75	78,00
	Empates	12 ^{dd}		
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a

	2. textura - 1. textura	3. textura - 1. textura	4. textura - 1. textura	5. textura - 1. textura	6. textura - 1. textura	7. textura - 1. textura	8. textura - 1. textura
Z	-2,711 ^b	-2,939 ^b	-,695 ^c	-2,689 ^b	-2,682 ^b	-,741 ^c	-2,402 ^b
Sig. asintótica(bilateral)	,007	,003	,487	,007	,007	,458	,016

Estadísticos de prueba ^a							
	9. textura - 1. textura	3. textura - 2. textura	4. textura - 2. textura	5. textura - 2. textura	6. textura - 2. textura	7. textura - 2. textura	8. textura - 2. textura
Z	-2,582 ^b	-,054 ^c	-2,476 ^c	-,535 ^c	-,305 ^c	-3,048 ^c	-,378 ^c
Sig. asintótica(bilateral)	,010	,957	,013	,593	,761	,002	,705

Estadísticos de prueba ^a							
	9. textura - 2. textura	4. textura - 3. textura	5. textura - 3. textura	6. textura - 3. textura	7. textura - 3. textura	8. textura - 3. textura	9. textura - 3. textura
Z	-,184 ^c	-3,032 ^c	-,541 ^c	-,321 ^c	-3,074 ^c	-,415 ^c	-,282 ^c
Sig. asintótica(bilateral)	,854	,002	,588	,748	,002	,678	,778

Estadísticos de prueba ^a							
	5. textura - 4. textura	6. textura - 4. textura	7. textura - 4. textura	8. textura - 4. textura	9. textura - 4. textura	6. textura - 5. textura	7. textura - 5. textura
Z	-2,582 ^b	-2,686 ^b	-,056 ^b	-2,648 ^b	-2,417 ^b	-,232 ^b	-3,154 ^c
Sig. asintótica(bilateral)	,010	,007	,956	,008	,016	,817	,002

Estadísticos de prueba ^a							
	8. textura - 5. textura	9. textura - 5. textura	7. textura - 6. textura	8. textura - 6. textura	9. textura - 6. textura	8. textura - 7. textura	9. textura - 7. textura
Z	-,374 ^b	-,409 ^b	-3,378 ^c	,000 ^a	-,530 ^b	-3,068 ^b	-2,970 ^b
Sig. asintótica(bilateral)	,709	,682	,001	1,000	,596	,002	,003

Estadísticos de prueba ^a	
	9. textura - 8. textura
Z	-,330 ^b
Sig. asintótica(bilateral)	,741

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
b. Se basa en rangos positivos.
c. Se basa en rangos negativos.
d. La suma de rangos negativos es igual a la suma de rangos positivos.

Anexo 6. Certificado del Laboratorio de Ecotoxicología.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS MATEMÁTICAS, FÍSICAS Y QUÍMICAS
LABORATORIO DE ECOTOXICOLOGÍA
CERTIFICADO

Por medio de la presente, certifico que la Ing. Stephany Judith Bermello Ochoa con CI: 1313636720, hizo uso de las instalaciones y equipos del laboratorio de ecotoxicología, necesarios para el desarrollo de su investigación del proyecto de titulación de la maestría de agroindustria.

Dando constancia de que los equipos y materiales empleados estaban calibrados para su uso. Además se supervisó que los ensayos se realicen de manera adecuada y correcta, respaldando los resultados obtenidos en cada ensayo realizado por la estudiante.

Ing. Ulbio E. Alcívar Cedeño, Ph.D.
C.I.: 1310425895
LABORATORIO DE ECOTOXICOLOGÍA - FCMFQ