



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DEMANABI**  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**Proyecto de Tesis Previo a la Obtención del Título de Ingeniero  
Agroindustrial**

**TEMA:**

Compuestos fenólicos de orégano (*Origanum vulgare*) y jengibre (*Zingiber officinale*) encapsulados y su efecto en la conservación del queso fresco.

**Autores:**

Evelyn Mishell Bailón Bermúdez

Gilson Roberto Zambrano Zamora

**Tutora:**

Ing. María Isabel Mantuano Cusme, Mg

Manta – Manabí - Ecuador

2018

**UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**TESIS DE GRADO**

Compuestos fenólicos de orégano (*Origanum vulgare*) y jengibre (*Zingiber officinale*) encapsulados y su efecto en la conservación del queso fresco.

Sometida a consideración del Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias como requisito para obtener el Título de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL.**

Aprobado por la Comisión:

-----

**Ing. María Isabel Mantuano Cusme, Mg**

**DIRECTORA DE TESIS**

-----

**Ing. Abg. Julio Ávila Roca, Mg**

**MIEMBRO**

---

**Ing. Aldo Mendoza González, Mg**

**MIEMBRO**

---

**Ing. Edison Lavayen Delgado, Mg**

**MIEMBRO**

---

La responsabilidad de la investigación, resultados y conclusiones del presente trabajo, corresponden exclusivamente a los autores.

---

*Evelyn Mishell Bailón Bermúdez*

---

*Gilson Roberto Zambrano Zamora*

## CERTIFICACIÓN

Yo, Ing. María Isabel Mantuano, catedrática de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, y directora de la presente tesis titulada: Compuestos fenólicos de orégano (*Origanum vulgare*) y jengibre (*Zingiber officinale*) encapsulados y su efecto en la conservación del queso fresco ; desarrollado por EVELYN MISHELL BAILÓN BERMÚDEZ Y GILSON ROBERTO ZAMBRANO ZAMORA ; certifico haber revisado el presente trabajo el que fue elaborado por el autor en forma sistemática y rigiéndose a las normas establecidas para la elaboración de proyecto de investigación y que revisando su contenido y forma autorizo su presentación.

---

**Ing. María Isabel Mantuano Cusme, Mg**

**Directora de tesis**

## **DECLARACIÓN DE AUTORIA**

La responsabilidad del contenido del Proyecto de trabajo de Graduación corresponde exclusivamente a, Proyecto de Trabajo de Graduación, Modalidad Tesis de Grado; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.

---

**Evelyn Mishell Bailón Bermúdez**  
**AUTORA**

---

**Gilson Roberto Zambrano Zamora**  
**AUTOR**

## **AGRADECIMIENTO**

Nuestros agradecimientos primero a Dios por ser una fuente de inspiración y superación.

A nuestros padres que nos han brindado todo el amor y dedicación para conseguir lograr los escalones que nos llevan hoy a concluir esta meta trazada, solo nos queda agradecerles por todo el apoyo en los momentos difíciles.

En especial al Ing. José Luis Coloma con quien empezamos este proyecto y finalmente a nuestra querida tutora de tesis, Ing. María Isabel Mantuano, por brindarnos la oportunidad de poder terminar este proyecto y por la paciencia brindada.

A nuestra querida Universidad laica Eloy Alfaro de Manabí, Facultad de Ciencias Agropecuarias por habernos aceptado y permitido ser parte de ella, y estudiar así como también a los docentes que nos brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir día a día.

Por ultimo pero no menos importante a nuestros compañeros de clase por todos los niveles de estudio que vencimos juntos, apoyándonos día a día a no darnos por vencido.

## DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de ser mi fortaleza.

A mi madre por brindarme su apoyo, sus consejos que me han permitido ser una persona de mejor.

A mis hermanos, a mi totito quien es la motivación de ser mejor cada día y así ser ejemplar para ella.

A mi novio por estar a mi lado en los momentos difíciles y apoyarme en el momento preciso.

A mis familiares y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

A los amigos que hice hasta ahora porque de todos aprendí una lección, a mis amigas que entre risas y lágrimas logramos llegar a la meta.

A mi mami, Ing. María Isabel por la confianza y paciencia que siempre me brindo.

¡Gracias a ustedes!

*Mishell Bailón Bermúdez*

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre y mi padre, por estar siempre apoyándome sin importar las diferencia de opiniones.

A mi esposa por estar siempre apoyándome dándome ánimos y mostrándome que siempre que hay problemas hay soluciones.

A mis hijos por darme la motivación y el ánimo de siempre seguir adelante pese a lo difícil que se pueda tornar el camino.

*Gilson Zambrano Zamora*



## RESUMEN

La microencapsulación es definida como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos, esta consiste en micropartículas conformadas por una membrana polimérica porosa contenedora de una sustancia activa. En el presente trabajo se cuantifico los compuestos fenólicos del jengibre y del orégano, posteriormente a esto se formaron las capsulas con los diferentes compuestos, las cuales fueron aplicadas en un recubrimiento para queso fresco, el mismo que fue evaluado mediante análisis físico - químicos obteniendo como mejor resultado al tratamiento A1B3 con una concentración de ácido gálico de 303,63 siendo mayor el porcentaje en el orégano extraído al 70%, en actividad antioxidante el tratamiento A2B1 jengibre extraído al 50% fue el mejor con una concentración de 31.06 micro mol/ml. En los resultados microbiológicos de aerobios mesófilos se obtuvo que en orégano el mejor tratamiento fue A1B2 con 4000,00 ufc/g reduciéndose la carga microbiana en 140,00 ufc/g en el día 6, en jengibre el mejor tratamiento fue A2B1 en los 6 días de tratamiento, en coliformes totales los valores fueron distintos, en orégano en el tratamiento A1B1 aumento de 0,00 a 1850,00 ufc/g mientras que en jengibre el tratamiento A2B1 aumento de 0,00 a 4000,00 ufc/g, encontrando que los aerobios mesófilos están dentro de los parámetros permitidos pero en coliformes totales los valores se sobrepasan.

**Palabras claves:** Compuestos fenólicos, Antioxidantes, encapsulación.

## SUMMARY

Microencapsulation is defined as a technology for packaging solid, liquid or gaseous materials, this consists of microparticles formed by a porous polymeric membrane containing an active substance. In the present work the phenolic compounds of ginger and oregano were quantified, afterwards the capsules were formed with the different compounds, which were applied in a coating for fresh cheese, the same one that was evaluated by physical - chemical analysis obtaining as best result to the A1B3 treatment with a gallic acid concentration of 303.63, the percentage in oregano extracted to 70% being higher, in antioxidant activity the A2B1 treatment extracted ginger at 50% was the best with a concentration of 31.06 micro mol / ml . In the microbiological results of mesophilic aerobes it was obtained that in oregano the best treatment was A1B2 with 4000.00 cfu / g reducing the microbial load in 140.00 cfu / g on day 6, in ginger the best treatment was A2B1 in the 6 days of treatment, in total coliforms the values were different, in oregano in the A1B1 treatment increased from 0.00 to 1850.00 cfu / g while in ginger the A2B1 treatment increased from 0.00 to 4000.00 cfu / g, finding that the mesophilic aerobes are within the allowed parameters but in total coliforms the values are exceeded.

**Keywords:** Phenolic compounds, antioxidants, encapsulation.

## INDICE

### CAPITULO I

#### INTRODUCCIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	2
1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA .....	2
1.3 OBJETIVOS.....	4
1.3.1 OBJETIVO GENERAL .....	4
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
1.4 HIPÓTESIS.....	5
1.5 JUSTIFICACION.....	6

### CAPITULO II

#### MARCO TEÓRICO

2.1 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES.....	8
2.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	8
2.3 COMPUESTOS FENÓLICOS .....	9
2.4 MICROENCAPSULACIÓN .....	9
2.4.1 Encapsulación.....	10
2.4.2 Alginato - Encapsulante .....	11
2.5 PROCESOS PARA LA GELIFICACIÓN IÓNICA.....	11
2.5.1 Gelificación Externa .....	11
2.5.2 Gelificación Interna .....	12
2.6 TÉCNICAS DE MICRO ENCAPSULACIÓN .....	12
2.6.1 Encapsulación por Extrusión.....	12
2.6.2 Encapsulación en Emulsión .....	13
2.6.3 Encapsulación Mediante Secado por Atomización .....	13
2.7 OXIDACIÓN DE LÍPIDOS.....	14
2.8 ORÉGANO.....	14
2.9 JENGIBRE .....	15
2.10 QUESO FRESCO .....	15
2.11 PAPEL DE LOS ANTIOXIDANTES EN EL ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER.....	16

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y METODOS**

3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.....	17
3.2 CARACTERÍSTICAS DEL LABORATORIO.....	17
3.3 FACTORES Y VARIABLES EN ESTUDIO.....	17
Variables en Estudio.....	18
Variables Independientes.....	18
Variables Dependientes.....	18
3.5 TRATAMIENTOS.....	18
3.7 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
3.7.1 Características de las Unidades Experimentales.....	20
3.7.2 Análisis Estadísticos.....	20
3.7.3 Materiales, Equipos e Insumos.....	21
3.8 METODOLOGÍA.....	23
3.8.1 Método para la Obtención de Compuestos Fenólicos.....	23
3.8.2 Método para Cuantificar Compuestos Fenólicos.....	23
3.8.3 Curva de Calibración con Acido Gálico.....	23
3.8.4 Metodología para Analizar la Actividad Antioxidante por el Método ABTS.....	25
3.8.5.1 Curva de Calibración con Trolox.....	25
3.8.6 Método Propuesto para la Microencapsulación.....	26
3.8.7 Método para la Elaboración del Recubrimiento.....	27
3.8.9 Método Determinación de PH.....	27
3.8.10 Análisis de Pérdida de Peso.....	27
3.8.11 Análisis Microbiológico.....	28
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>49</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1:</b> Tratamientos del estudio.....	19
<b>Tabla N° 2:</b> Esquema del análisis de varianza (Anova).....	21
<b>Tabla N° 3:</b> Cuantificación de compuestos fenólicos.....	29
<b>Tabla N° 4:</b> Actividad antioxidante.....	31
<b>Tabla N° 5:</b> Porcentaje de pérdida de peso orégano y jengibre.....	33
<b>Tabla N° 6:</b> Análisis de pH (día 0 – día 2).....	35
<b>Tabla N° 7:</b> Análisis de Aerobios Mesófilos.....	37
<b>Tabla N° 8:</b> Análisis de Coliformes Totales.....	40

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1:</b> Curva de calibración con ácido gálico.....	24
<b>Figura N° 2:</b> Curva de calibración de Trolox .....	26

## INDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación N°1: Pérdida de peso.....</b>	<b>27</b>
---	-----------

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

Las aplicaciones de la microencapsulación se dirigen principalmente a la industria, las cuales se dan en la industria textil, metalúrgica, química, alimenticia, cosméticos, farmacéutica y medicina. El termino microencapsulación se define como una tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos, gaseosos y sólidos. Las microcápsulas selladas pueden liberar sus contenidos a velocidades controladas bajo condiciones específicas, y pueden proteger el producto encapsulado de la luz y el oxígeno. La microencapsulación consiste en micropartículas conformadas por una membrana polimérica porosa contenedora de una sustancia activa (Huerta, 2010).

“La industria requiere de tecnologías que protejan los pigmentos naturales del ambiente, debido a su inestabilidad en la presencia de altas temperaturas, humedad, aire. Actualmente, una alternativa es la tecnología de la micro encapsulación” (Alexandre Luis Parize, 2008).

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo. Se estiman más de 2000 variedades de queso, entre semi-madurados y frescos, no obstante en nuestro país predomina el consumo de quesos frescos, mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos que constituyen nuestro legado gastronómico. (Gunasekaran S & Ak, 2003).

En los quesos frescos, la elevada humedad y el bajo pH, son condiciones que afectan notoriamente la textura y sabor durante la conservación, de forma que una excesiva proteólisis podría ocasionar defectos como una textura excesivamente blanda y un sabor amargo (Fox P & McSweeney P, 1996).



## **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad las tecnologías de conservación de alimentos están en una constante evolución, y los métodos tradicionales son desplazados por alternativas más seguras y eficientes. (Creus, 2004).

La fotooxidación de los productos de queso se ha convertido en un problema debido al hecho de que el envasado de productos de vinificación en materiales transparentes se utiliza con mucha frecuencia. En general, la oxidación de lípidos ha sido el foco principal debido a su alto impacto en el sabor / desabastecimiento en todos los productos lácteos. Sin embargo, el aumento de la producción y venta de productos lácteos bajos en grasa, incluidos los quesos bajos en grasa, hace que la oxidación de los aminoácidos y proteínas sea de interés debido a su mayor impacto en la formación de sabor en los productos con un contenido limitado de grasa (Dalsgaard, Kastrup, Sorensen, & Bakman, 2010).

Actualmente los consumidores exigen nuevos métodos de conservación tomando en cuenta que el uso de preservantes químicos en alimentos, que es cada vez menos recomendado debido a los posibles efectos secundarios producidos a largo plazo. El fin es obtener un producto seguro, esto ha implicado que la industria alimentaria utilice métodos innovadores y oferten alimentos seguros para el consumo diario, encaminados a la bioconservación por parte de las bacterias ácido lácticas que a través de su microbiota natural o controlada y sus compuestos antimicrobianos (Lopez & Ruiz, 2012).

## **1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA**

La investigación se desarrolló en la universidad laica Eloy Alfaro de Manabí, en el Laboratorio de Ciencias de Alimentos, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias durante el primer semestre del 2018, utilizando muestras de orégano y jengibre de origen local, y mediante métodos espectrofotométricos, el de Follin Ciocalteu y el radical ABTS para determinar el efecto que causan los

antioxidantes en la conservación del queso. Todos los recursos utilizados fueron de los investigadores.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Extraer compuestos fenólicos de orégano y jengibre y analizar su efecto en la conservación del queso.

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Conocer la concentración de compuestos fenólicos que se pueden obtener del orégano y jengibre y evaluar su capacidad antioxidante.
- Determinar el efecto antimicrobiano de los compuestos fenólicos de orégano y jengibre encapsulados en el queso fresco.
- Evaluar el efecto de un recubrimiento comestible de almidón con compuestos fenólicos de orégano y jengibre encapsulados en los parámetros fisicoquímicos del queso fresco durante su almacenamiento.

## **1.4 HIPÓTESIS**

El orégano y jengibre tiene compuestos fenólicos en alta concentración y con elevada actividad antioxidante.

Los compuestos fenólicos encapsulados de orégano y jengibre aumentan el tiempo de vida del queso fresco.

## 1.5 JUSTIFICACION

En los últimos años, la funcionalidad fisiológica de los alimentos ha recibido mucha atención debido al creciente interés en la salud humana. La acción antioxidante, es una de las importantes funciones fisiológicas de los alimentos, que protege a los organismos vivos de los daños oxidativos. Las plantas alimenticias, incluidas las frutas, los vegetales y las especias, son las principales fuentes de antioxidantes naturales para los seres humanos.

En adición, el antioxidante natural puede ser útil para retardar el deterioro oxidativo de los materiales alimenticios, especialmente aquellos con un alto contenido de lípidos. Los productos lácteos frescos, como el yogur y el queso crema, son alimentos que se innovan constantemente con respecto a nuevos sabores, textura y la adición de componentes y valor agregado, como antioxidantes naturales, ácidos grasos omega-3, pro biótico y fibras solubles.

El contenido de grasa de los productos lácteos frescos oscila entre 1% -30%, por lo que algunos productos son muy susceptibles a las reacciones de per oxidación que disminuye la vida útil, si el producto no se empaqueta o almacena en condiciones óptimas. Un número limitado de antioxidantes naturales se agregan a los alimentos que contienen grasa para evitar la ranciedad y extender la vida útil, a través de una variedad de mecanismos diferentes.

Además, los aditivos alimentarios sintéticos, como BHA, BHT y TBHQ, son antioxidantes rompedores de cadena, que impiden los procesos oxidativos de los lípidos después de interceptar los radicales que transportan la cadena y poseen algún efecto de arrastre. Varios estudios han indicado que el consumo de compuestos antioxidantes protege a las células del daño de especies reactivas del oxígeno como el oxígeno singlete, superóxido, radicales peroxilo, radicales hidroxilo y peroxinitrito.

El queso fresco es un producto muy consumido en la provincia de Manabí y en la mayoría de los casos es elaborado artesanalmente y a partir de leche fresca, por lo cual su tiempo de conservación es limitado y es posible causa de enfermedades debido principalmente a pobres condiciones higiénicas de elaboración; por lo tanto la incorporación de microcápsulas de compuestos fenólicos puede aumentar el tiempo de vida del producto y así mejorar la salud de los consumidores.

## **CAPITULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 COMPUESTOS ANTIOXIDANTES**

Varios estudios han indicado que el consumo de compuestos antioxidantes protege a las células del daño de especies reactivas del oxígeno como el oxígeno singlete, superóxido, radicales peroxilo, radicales hidroxilo y peroxinitrito. La evidencia del efecto antioxidante de las especias y hierbas en los sistemas alimentarios fue determinada inicialmente estudiando 32 especias, y entre ellas el romero y la salvia fueron considerados los más efectivos. Posteriormente, la función antioxidante también se confirmó en orégano, tomillo, jengibre, pimienta, mostaza y canela, entre otros. (Santos & Shetty, 2012).

Las plantas contienen compuestos antioxidantes como los carotenoides, tocoferoles, ascorbatos y fenoles que pueden atenuar el daño oxidativo; ya sea de manera indirecta, al activar las defensas celulares, o directa, al eliminar los radicales libres (Ogbunugafor & H.A, 2011)

#### **2.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Lo primero a destacar es que la medición de la actividad antioxidante de un alimento supone la cuantificación de “virtualmente” todas las moléculas antioxidantes presentes en este. La mayor parte de los ensayos empleados para la determinación de la actividad antioxidante de un alimento se basan en la medición de la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes para reaccionar con un radical libre determinado, o el potencial que tales compuestos tendrían para reducir un complejo formado entre iones Fe(III) y el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina). (Chipault, Mizun, Hawkins, & Lundberg, 1952).

## **2.3 COMPUESTOS FENÓLICOS**

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes actividades y estructuras químicas, lo cual englobando a más de 8.000 compuestos distintos (María Jesús Periago, 2009).

Estos compuestos tradicionalmente han sido considerados como anti nutrientes, debido al efecto adverso de uno de sus componentes mayoritarios, los taninos, sobre la digestibilidad de la proteína. Sin embargo, actualmente se ha despertado un reciente interés por estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedad cardiovascular y otras patologías de carácter inflamatorio (Isabel Martínez Valverde, 2000).

Los fenoles o compuestos fenólicos se oxidan con mucha facilidad experimentando la oxidación mucho antes que otras sustancias también muy oxidables. Esto le confiere una cualidad especialmente antioxidante a fin de contrarrestar la oxidación producida por radicales libres, productos químicos, la luz, etc. Algunos fenoles juegan también un papel fundamental en la tolerancia del estrés (María Jesús Periago, 2009).

## **2.4 MICROENCAPSULACIÓN**

“La técnica de micro encapsulación ha sido descrita como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo o heterogéneo integrado a las cápsulas con variadas aplicaciones”. (Borgogna, Bellich, Zorzini, Lapasin, & Cesaro, 2010).



Varios estudios han dado a conocer que los cultivos inmovilizados de alginato de calcio son los mejores protectores, esto ha sido evidente al incrementarse la sobrevivencia de bacterias, bajo diferentes condiciones de ensayo que cuando las bacterias fueron probadas en el estado no encapsulado (Sozer, Kokini, & Kailasapathy, 2009 ; 2006).

La microencapsulación ha sido exitosamente utilizada para mejorar la sobrevivencia de microorganismos en los productos lácteos protegiendo componentes sensibles en los alimentos (Adhikari, Mustapha, Gun, & Fernando, 2000) y algunos factores ambientales, por ejemplo calor, oxígeno y humedad asegurándolos contra la pérdida nutricional e incorporando mecanismos dentro de la formulación (Semyonov, Ramon, & Kaplun, 2010). Las microcápsulas, colaboran a que los materiales alimenticios empleados soporten las condiciones de empaque y procesamiento mejorando la estabilidad, sabor aroma, apariencia de sus productos y valor nutritivo (Weinbreck, Bodnar, & Marco, 2010).

#### **2.4.1 Encapsulación**

El concepto de encapsulación se ha fundamentado en la incorporación de una matriz polimérica, la cual forma un ambiente capaz de controlar su interacción con el exterior. La técnica de micro encapsulación ha sido descrita como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo o heterogéneo integrado a las cápsulas con variadas aplicaciones (Borgogna, Bellich, Zorzin, Lapasin, & Cesaro, 2010).

Las técnicas de microencapsulación con alginato permiten la protección de diferentes principios activos como proteínas, aminoácidos, vitaminas, extractos, sabores, aromas, microorganismos y enzimas que en contacto con el medio circundante sufren degradación y pérdida de sus propiedades nutricionales y benéficas para la salud. El alginato es un material polimérico adecuado para la microencapsulación por ser biocompatible, no tóxico y degradable (Anal, 2007).

## **2.4.2 Alginato - Encapsulante**

El alginato es un polímero utilizado como un agente encapsulante y es extraído a partir de algas; tiene como características: biocompatible, no tóxico y facilidad de solubilización (por  $\text{Ca}^{++}$  secuestrante) (Nazzaro, Fratianni, Coppola, Sada, & Orlando, 2009). Al emplear el alginato como matriz polimérica, las técnicas de micro encapsulación en aplicaciones alimentarias se reducen a: extrusión, emulsión y secado por atomización. Un ejemplo de los alginatos, es el de calcio que ha sido ampliamente utilizado para la inmovilización de bacterias ácido lácticas (BAL), lo anterior debido a la facilidad de manejo, bajo costo y naturaleza no tóxica (Sultana, Godward, Reynolds, Arumugaswamy, & Peiris, 2003).

El proceso de formación del gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna desde donde el ión calcio se difunde hasta alcanzar la cadena polimérica, como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio resultando en un material sólido con las características de un gel. El grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ión calcio y el contenido de los G-bloques (Funami, 2009).

## **2.5 PROCESOS PARA LA GELIFICACIÓN IÓNICA**

Existen dos procesos para la gelificación iónica estos son: gelificación interna y externa.

### **2.5.1 Gelificación Externa**

El proceso de gelificación externa ocurre con la difusión del ión calcio desde una fuente que rodea al hidrocoloide hacia la solución de alginato de pH neutro. La formación del gel se inicia en la interfase y avanza hacia el interior a medida que la superficie se encuentra saturada de iones calcio, de manera que el ión sodio

proveniente de la sal de alginato es desplazado por el catión divalente solubilizado en agua (Helgerud, Gåserød, Fjæreide, & Andersen, 2010).

### **2.5.2 Gelificación Interna**

El proceso de gelificación interna consiste en la liberación controlada del ión calcio desde una fuente interna de sal de calcio insoluble o parcialmente soluble dispersa en la solución de alginato de sodio (Helgerud, Gåserød, Fjæreide, & Andersen, 2010).

## **2.6 TÉCNICAS DE MICRO ENCAPSULACIÓN**

El micro encapsulación de pequeñas moléculas como enzimas hasta células y microorganismos puede realizarse por diferentes técnicas. La selección de la técnica de encapsulación adecuada se ve determinada por las propiedades físico-químicas del material soporte y la aplicación final deseada con el objeto de asegurar la biodisponibilidad de los compuestos, su funcionalidad e incluso su fácil incorporación en los alimentos sin la alteración de sus propiedades sensoriales (Pal & Paulson, 2009.).

### **2.6.1 Encapsulación por Extrusión**

La técnica consiste en la formación de gotas de la solución de alginato que contiene el componente a encapsular al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de tamaño y velocidad de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que contiene la fuente del ión divalente, quien induce la gelificación mediante el mecanismo de gelificación externa (Hanssen, 1988).

### **2.6.2 Encapsulación en Emulsión**

La técnica de encapsulación en emulsión se ha definido como el proceso de dispersión de un líquido en otro líquido inmisible donde la fase dispersa consta de la matriz que incluye el componente a encapsular. La adición de un tensioactivo mejora la formación y estabilidad de la emulsión, así como la distribución de tamaño de las gotas (PONCELET, 2006).

La principal limitación presentada por esta técnica ha sido el gran tamaño de las microcápsulas, lo cual depende del diámetro de la boquilla del dispositivo extrusor. Entre otras desventajas, la dificultad de producción a gran escala debido a que la formación de las microcápsulas se logra una a una lo cual trae como consecuencia largos tiempos de gelificación (PONCELET, 2006).

Adicionalmente, es de considerar aspectos que influyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación, a pesar de todos estos factores, la técnica de microencapsulación por extrusión ha sido empleada tradicionalmente al permitir la producción de microcápsulas con tamaños uniformes. (Hanssen, 1988).

Recientes estudios, demuestran que la aplicación de esta técnica mejora notablemente al incorporar dispositivos extrusores como boquillas múltiples y discos aspersores, inyectores con impulsos vibratorios e incluso con flujo de aire incorporado, todos diseñados bajo el mismo objetivo, la producción masiva de microcápsulas. (Hanssen, 1988).

### **2.6.3 Encapsulación Mediante Secado por Atomización**

El secado por atomización ha sido una tecnología ampliamente usada por la industria debido a su reproducibilidad y economía. El procedimiento consiste en la preparación de una emulsión o suspensión que contenga al compuesto a

encapsular y el material polimérico, el cual es pulverizado sobre un gas caliente que generalmente es aire promoviendo así la evaporación instantánea del agua, permitiendo que el principio activo presente quede atrapado dentro de una película de material encapsulante (Martín Villena MJ, 2009).

## **2.7 OXIDACIÓN DE LÍPIDOS**

La oxidación de los lípidos puede ocurrir durante la fabricación, el almacenamiento y la cocción de los alimentos, lo que lleva al desarrollo de rancidez, esta reacción se ha considerado como una causa importante de pérdida de calidad nutricional, así como una causa de preocupación por la seguridad alimentaria. Los antioxidantes pueden jugar un papel beneficioso en la protección de los lípidos de alimentos contra el estrés oxidativo causado por la fabricación y el almacenamiento. Las reacciones de oxidación de lípidos, durante la fase de terminación, producen aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos e hidrocarburo. (Bergamo E. F., 2010).

## **2.8 ORÉGANO**

En el orégano el efecto antioxidante de las plantas aromáticas se debe a la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos. (Shahidi F, 1992). El potencial antioxidante de los extractos de orégano ha sido determinado por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica, protegiendo al ADN del daño por radicales hidroxilo, con los métodos de atrapamiento de peróxido de hidrógeno, atrapamiento de HOCl y por la prueba de la rancidez. En todas estas pruebas, los extractos de orégano han mostrado ser efectivos, en algunos casos a niveles superiores a los exhibidos por el propil galato, BHT y BHA. (Martinez -Tome M, 2001).

## **2.9 JENGIBRE**

La función antioxidante del jengibre desempeña un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tiene efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica o el cáncer (Martinez - Flores S, 2002 ), debido a esto se puede considerar al jengibre como un alimento funcional. (Barberan, 2003)

Dentro de los antioxidantes presentes en el jengibre, se encuentra el grupo de los polifenoles. Estos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas de los alimentos vegetales y en los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles puede mejorar la salud. (Quinones M, 2012) Existe evidencia que indica que se puede elaborar un extracto etanólico que conserva sus principales compuestos antioxidantes, así como también que no presenta toxicidad en humanos en dosis culinarias. (Batista Carmona A, 2003 ).

## **2.10 QUESO FRESCO**

El queso es el producto obtenido por coagulación de la leche cruda o pasteurizada (entera, semidescremada y descremada), constituido esencialmente por caseína de la leche en forma de gel más o menos deshidratado (Eck, 2000) .Mediante este proceso se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche, incluidos las grasas, proteínas y otros constituyentes menores, generando un sabor especial y una consistencia solida o semisólida en el producto (Velez & Ruiz, 2009).

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formando básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albuminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema

o se mantienen en la fase acuosa retenida (Walstra P, Wouters J, & Geurts T, 2006).

## **2.11 PAPEL DE LOS ANTIOXIDANTES EN EL ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER**

Detrás de muchas enfermedades crónicas, cuya aparición es retrasada y su gravedad disminuida por el consumo de alimentos de origen vegetal se encuentran procesos de estrés oxidativo mediados por radicales libres. El estrés oxidativo conduce progresivamente a una disfunción celular que acaba con la muerte de dichas células. (Adhikari, Musrappa, Grun, & Fernando, 2000 ; 2006).

Este estrés se podría definir como un desequilibrio entre los pro-oxidantes y/o radicales libres por una parte y los sistemas antioxidantes del organismo por otra. Los estudios epidemiológicos sugieren que los antioxidantes de la dieta pueden tener un efecto beneficioso en muchas enfermedades relacionadas con el envejecimiento, Arteriosclerosis, cáncer, algunas enfermedades neurodegenerativas e incluso enfermedades respiratorias. (Barberan, 2003).

Así, hay sustancias que poseen propiedades antioxidantes y neutralizadoras de radicales libres, otras que influyen sobre los procesos de diferenciación celular, aumentan la actividad de enzimas relacionados con la detoxificación de carcinógenos (enzimas de Fase II), bloquean la formación de nitrosaminas cancerígenas, actúan sobre el metabolismo de los estrógenos, modifican el medio colónico (flora bacteriana, composición de ácidos biliares, pH, volumen fecal), preservan la integridad de las células, ayudan a mantener los mecanismos de reparación del ADN, aumentan la apoptosis (muerte controlada) de las células cancerígenas o disminuyen la proliferación celular (Barberan, 2003).

## **CAPITULO III**

### **MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 UBICACIÓN GEOGRÁFICA.**

El presente experimento se desarrolló en los Laboratorios de Investigación de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias a 0°, 57'12, 62", de latitud Sur y 80°, 44'45, 47"0, latitud Oeste, el mismo que se encuentra ubicado, en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, en la ciudad Manta.

#### **3.2 CARACTERÍSTICAS DEL LABORATORIO.**

Las características del con que cumplía el laboratorio de era de una Temperatura: 25 °C y humedad Relativa: 80%

#### **3.3 FACTORES Y VARIABLES EN ESTUDIO**

Las variables y los factores en estudio que se aplicaron en la investigación se detallan a continuación:

##### **FACTOR A.** (Tipo de especias)

- A.1. Orégano
- A2. Jengibre

##### **FACTOR B.** (Concentración de etanol)

- B1. 50%
- B2. 60%
- B3. 70%



**FACTOR D. (Tiempo de análisis)**

- D1. Día 0
- D2. Día 2
- D3. Día 4
- D4. Día 6

**Variables en Estudio****Variables Independientes**

- Tipo de especias
- Concentración de etanol
- Tiempo de análisis

**Variables Dependientes**

- Cuantificación de compuestos fenólicos (orégano y jengibre)
- Actividad antioxidante (orégano y jengibre)
- Pérdida de peso (queso)
- pH (queso)
- Crecimiento de aerobios mesófilos y coliformes totales (queso)

**3.5 Tratamientos.**

En tabla N° 1 se detallan las combinaciones de los diferentes tratamientos dadas en este estudio donde A1 es orégano, A2 es jengibre, B1 es alcohol al 50%, B2 es alcohol al 60%, B3 es alcohol al 70%, D1 es día cero, D2 es día dos, D3 es día cuatro y D4 es día seis.

**Tabla N° 1:** Tratamientos del estudio

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>ESPECIES</b>	<b>CONCENTRACION DE ETANOL</b>	<b>TIEMPO DE ANÁLISIS</b>
A1B1D1	Orégano	50%	Día cero
A1B1D2	Orégano	50%	Día dos
A1B1D3	Orégano	50%	Día cuatro
A1B1D4	Orégano	50%	Día seis
A1B2D1	Orégano	60%	Día cero
A1B2D2	Orégano	60%	Día dos
A1B2D3	Orégano	60%	Día cuatro
A1B2D4	Orégano	60%	Día seis
A1B3D1	Orégano	70%	Día cero
A1B3D2	Orégano	70%	Día dos
A1B3D3	Orégano	70%	Día cuatro
A1B3D4	Orégano	70%	Día seis
A2B1D1	Jengibre	50%	Día cero
A2B1D2	Jengibre	50%	Día dos
A2B1D3	Jengibre	50%	Día cuatro
A2B1D4	Jengibre	50%	Día seis
A2B2D1	Jengibre	60%	Día cero
A2B2D2	Jengibre	60%	Día dos
A2B2D3	Jengibre	60%	Día cuatro
A2B2D4	Jengibre	60%	Día seis
A2B3D1	Jengibre	70%	Día cero
A2B3D2	Jengibre	70%	Día dos
A2B3D3	Jengibre	70%	Día cuatro
A2B3D4	Jengibre	70%	Día seis
<b>CONTROL</b>			

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

### **3.7 DISEÑO EXPERIMENTAL.**

En la presente investigación se aplicó un diseño completamente al azar con un arreglo trifactorial  $2 \times 3 \times 4 + 1$  con tres repeticiones para cada uno de los tratamientos.

#### **3.7.1 Características de las Unidades Experimentales**

Las unidades experimentales utilizadas en esta investigación fueron cubos de queso de aproximadamente  $5 \times 5 \times 5$  cm, con un peso de 15 a 30 g cada uno, los cuales fueron recubiertos con extracto etanolito de orégano y jengibre encapsulado en diferentes concentraciones 50%,60%,70%, almacenados a temperatura ambiente y evaluado diariamente por seis días.

#### **3.7.2 Análisis Estadísticos.**

Para la confiabilidad de los resultados se aplicó un análisis de varianza (ADEVA) ( $P < 0,05$ ) de probabilidad, el cual se muestra a continuación en la tabla 2. Las medias de los tratamientos se analizaron de acuerdo a la prueba de tukey.

**Tabla N° 2:** Esquema del análisis de varianza (Anova)

<b>F. de Variación</b>		<b>G.L</b>
<b>Total</b>	$(t * r - 1)$	74
<b>Tratamientos</b>	$(t - 1)$	24
<b>Repeticiones</b>		2
<b>Factor A</b>	1	
<b>Factor B</b>	2	
<b>Factor C</b>	3	
<b>Interrelación ( A*B)</b>	2	
<b>Interrelación ( A*C)</b>	3	
<b>Interrelación ( B*C)</b>	6	
<b>Control</b>	4	
<b>Error Experimental</b>		48

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

### 3.7.3 Materiales, Equipos e Insumos

#### Materiales

- Jeringuilla de 5 mililitros
- Vaso de precipitación
- Cajas Petri
- Papel filtro estéril
- Micropipeta
- Bala magnética
- Tubo de ensayo
- Probeta
- Pipeta

## **Equipos**

- Agitador de hélice (FISHER SCIENTIFIC, BDC 2002, Canadá)
- Cámara de Flujo Laminar (BIOBASE, BBS-H1300, China)
- Balanza Analítica (SHIMADZU, TXB6201L, Japón)
- Agitador Magnetico (FISHER SCIENTIFIC, ISOTEMP 11-20049SH, China)

## **Sustancias y Reactivos**

- Carbonató de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- Ácido gálico ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$ )
- Persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ )
- ABTS 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6sulfónico)
- Hidróxido de sodio (NaOH al 0.1%)
- Fenolftaleína ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$  al 0,20%).
- Na-alginato alginato de sodio ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$ )
- Cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ )

## **Insumos**

- Aceite vegetal
- Agua destilada
- Queso fresco
- Orégano
- Jengibre

### **3.8 Metodología.**

A continuación, se detalla toda la metodología aplicada para los diferentes análisis y tratamientos dados en la investigación.

#### **3.8.1 Método para la Obtención de Compuestos Fenólicos**

Para la extracción de compuestos fenólicos se aplicó la metodología propuesta por (Santos & Shetty, 2012). Donde los compuestos fenólicos de orégano y jengibre (según sea el caso) se obtuvo por extracción etanólica. Donde diez gramos (10 g) de muestras de material seco, se extrajo con 100 ml de solvente, a temperatura ambiente, bajo agitación constante a 120 rpm durante 24 horas. Después de la extracción, las muestras se secaron al vacío y se almacena bajo refrigeración manteniéndolas alejadas de la luz.

#### **3.8.2 Método para Cuantificar Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron de acuerdo con la metodología descrita por (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos, 1999). En la cual se añadió 1 mililitro de extracto alcohólico de orégano o jengibre según sea el caso a 1 ml de etanol al 95%, 5 ml de agua destilada y 0,5 ml de reactivo Folin Ciocalteu 1N. Después de 5 minutos, se añadió 1 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5% y la mezcla de reactivos se mantuvo durante 60 min a temperatura ambiente. La cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó espectrofotométricamente midiendo la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu 1240, a 725 nm.

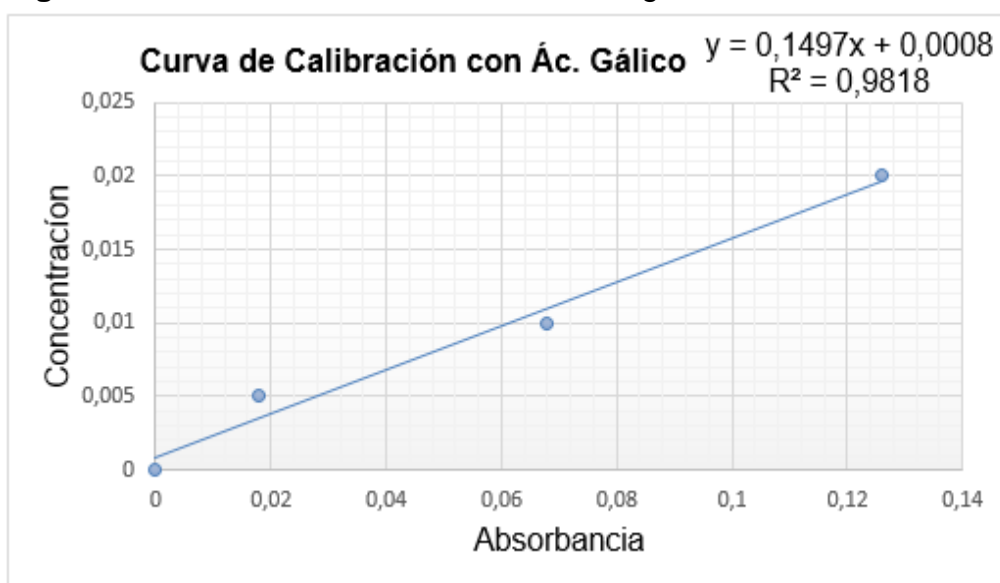
#### **3.8.3 Curva de Calibración con Acido Gálico**

Para la cuantificación de compuestos fenólicos realiza una curva de calibración usando ácido Gálico como estándar (2g de ácido gálico) los resultados obtenidos

son expresados en ácido Gálico/100 ml h<sub>2</sub>O d.), Para la calibración de la curva se debe tener una solución estándar de ácido Gálico (10ml de ácido gálico + 5 ml de etanol+ 100ml de agua destilada).

Posteriormente se realiza dos soluciones, de la primera (estándar cero) se toma 0,5 ml de Follin con 1ml de la solución de bicarbonato de sodio y se afora a 25 ml con agua destilada. Para la segunda se mezcló 0.125 ml de la solución estándar con 0.5ml de Follin y se deja reposar 5min, luego se añade 1ml de la solución de bicarbonato de sodio y se afora a 25ml (con agua destilada), estas soluciones se dejan reposar en la oscuridad durante 1 hora. Y La segunda solución se diluye a 3 concentraciones distintas (1:20, 1:10 y 1:5) y se mide la absorbancia de cada una, obteniendo los siguientes resultados:

**Figura N° 1:** Curva de calibración con ácido gálico



Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Utilizando la fórmula obtenida a partir de los datos anteriores, reemplazamos los valores de “x” (Absorbancia) y sacamos los valores de “y” (concentración) de cada muestra y repetición, obteniendo los resultados.

### **3.8.4 Metodología para Analizar la Actividad Antioxidante por el Método ABTS**

Para analizar la actividad antioxidante se toma las muestras como compuestos fenólicos totales por medio del ensayo TEAC modificado, usando la decoloración por el radical catión ABTS y expresada finalmente como mg Trolox/gr muestra

El radical ABTS se prepara mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM y ABTS 7 mM. Se diluye 0,0360234 gr de ABTS en 10 ml de agua destilada y 0,06622889 gr de persulfato de Potasio en 100ml, se mezcla a partes iguales y se deja reposar en la oscuridad por 16 horas a 20°C. La solución de ABTS obtenida es estable durante dos días y se diluye con etanol (95%) hasta obtener una absorbancia de 0,70 ( $\pm$  0,1) a 734 nm 30°C.

### **3.8.5 Absorbancia de la Actividad Antioxidante**

Para la evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de cada muestra se reemplaza los 20  $\mu$ L de la solución de Trolox por el extracto de cada tratamiento.

La absorbancia se lee en el primer minuto y a los seis minutos de haber incorporado los 20  $\mu$ L de extracto. Se obtuvieron estos resultados de absorbancia en el espectrofotómetro.

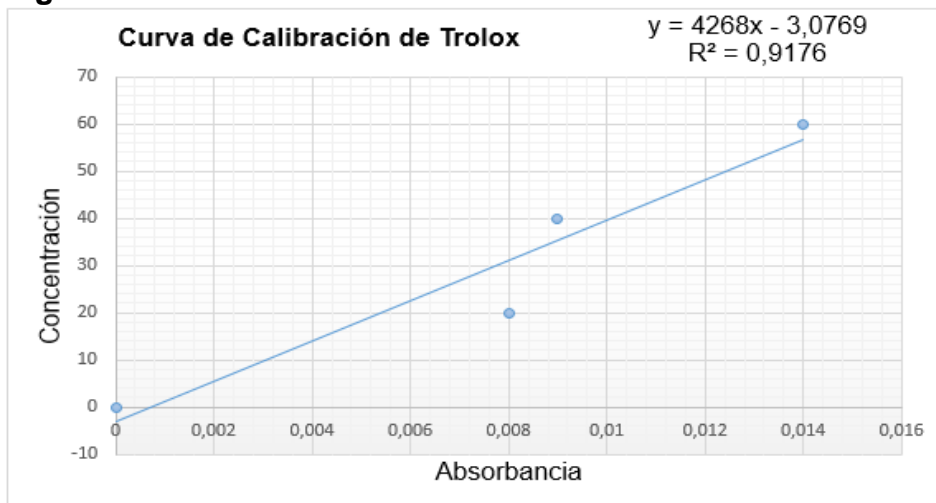
#### **3.8.5.1 Curva de Calibración con Trolox**

La curva de calibración se realiza con la dilución de Trolox. Para la solución madre se diluyere 0,01gr de Trolox en 5ml de metanol y 5ml de agua destilada. Se coloca en la celda 2ml de la solución de radical ABTS, y se registran las absorbancias iniciales, luego se añade 20  $\mu$ L de tres concentraciones (20  $\mu$ M,



40 uM, y 60 uM) de soluciones del estándar Trolox, y se toman las absorbancias a 734 nm obteniendo la siguiente gráfica:

**Figura N° 2:** Curva de calibración de Trolox



Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Utilizando la fórmula obtenida de la curva de calibración de trolox, reemplazamos los valores de “x” (Absorbancia) y sacamos los valores de “y” (concentración) de cada muestra y repetición, obteniendo los resultados.

### 3.8.6 Método Propuesto para la Microencapsulación

Para la microencapsulación de los extractos de orégano y jengibre, se experimenta con un dispositivo que tiene dos recipientes cilíndricos conectados con una válvula. La formación de la cápsula se realiza en el vaso superior mediante la adición gota a gota (1,8% p/v) de solución de Na-alginato que contiene compuestos fenólicos de orégano (*Origanum vulgare*) y en otra jengibre (*Zingiber officinale*) a una mezcla de aceite de La favorita ligth y  $\text{CaCl}_2$  0,1 M que se mantiene en agitación a 500 rpm con un agitador de hélice (Fisher Scientific BDC2002, Canadá). Una vez que se añade la solución de alginato de Na, se suspende la agitación y se abre la válvula situada entre los dos vasos, permitiendo que las cápsulas formadas se desplacen a un recipiente inferior que contenía una solución de  $\text{CaCl}_2$  0,1 M. Una vez que las cápsulas sedimentan se

dejan reposar por aproximadamente 24 horas para posteriormente recolectarlas para análisis posteriores. (Santacruz, 2011. )

### **3.8.7 Método para la Elaboración del Recubrimiento**

Los diferentes recubrimientos para las muestras de queso se la realizo de acuerdo con (Castro M., 2014 ). A la solución obtenida según el autor se la se homogeniza con un ultraturrax (Polytron, Suiza) y se añade 1 gr de los extractos de orégano y jengibre encapsulados.

### **3.8.9 Método Determinación de PH**

La determinación se realiza utilizando el equipo digital para indicación de PH. En el cual se coloca una gota de la solución y se registra el resultado. (Goyenola, 2007).

### **3.8.10 Análisis de Pérdida de Peso**

La pérdida de peso se determinó durante los 6 días de almacenamiento, para los cual se procedió al escurrido del suero de las muestras de queso sosteniéndolas por 5 seg sobre su mismo empaque, seguidamente a esto se las pesas y se determina la pérdida de peso mediante la relación del peso inicial y final de las muestras analizadas mediante la siguiente expresión:

#### **Ecuación N°1: Pérdida de peso**

$$Pp = \frac{(Peso\ inicial - Peso\ final)}{Peso\ inicial} * 100$$

### **3.8.11 Análisis Microbiológico**

- **Determinación de Coliformes Totales (AOAC 991.14)**

Esta técnica del recuento en placa placas Petrifilm EC un sistema de medio de cultivo listo para usarse, contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias, llevadas a una cámara de flujo laminar para ser sembradas y en una incubadora temperatura ambiente por  $24 \pm 2$ h.

- **Determinación de Aerobios Mesófilos (AOAC 986.33)**

Las Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios Totales (Aerobic Count, AC) son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

En la tabla N° 3 se detallan los resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos en g de ácido gálico / g de muestra, donde el tratamiento A1B3 (orégano extraído al 70% de etanol) 303,63 mg de ácido gálico/ g, fue el que tenía la mayor concentración de compuestos fenólicos, mientras que el tratamiento A1B2 (orégano extraído al 60% de etanol) 107,59 mg de ácido gálico/ g, es el que presentó la menor concentración. Habiendo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre la muestra A1B3, A2B2, A1B1 (orégano extraído al 50%, jengibre al 60% y orégano al 70% de etanol), y las muestras A2B1, A2B3, A1B2 (jengibre al 50%, jengibre al 70% y orégano al 60%) respectivamente.

**Tabla N° 3:** Cuantificación de compuestos fenólicos.

*Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=71,4061*

*Error: 677,8964 gl: 12*

<u>Muestras</u>	<u>Medias</u>	<u>n</u>	<u>E.E.</u>	
A1B3	303,63	3	15,03	A
A2B2	290,49	3	15,03	A
A1B1	267,15	3	15,03	A
A2B1	114,05	3	15,03	B
A2B3	110,44	3	15,03	B
A1B2	107,59	3	15,03	B

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según (Chun, Shetty, Vattem, & LIN, 2005) los resultados en la extracción de compuestos fenólicos en orégano se obtuvieron mediante el uso de etanol al 60% en 24 horas de la extracción. En esas condiciones, los autores encontraron 35,43 mg de ácido gálico / ml compuestos fenólicos en orégano. En la presente investigación se obtuvo cantidades superiores a la citada por el autor, la mayor concentración se obtuvo al 70% de etanol 303,63 mg de ácido gálico/ gr en la muestra de orégano y la menor concentración se obtuvo al 50% de etanol 267,15 mg de ácido gálico/ gr de muestra respectivamente.

La concentración de orégano obtenida fue notoriamente mucho más alta que la reportada en la literatura esto se puede deber al tipo de orégano y a la cantidad de disolvente que se utilizó en el experimento, (Suhaj, 2006) señala que la eficiencia de la extracción de compuestos fenólicos está influenciada por varios parámetros, como la temperatura, el tiempo de extracción, la polaridad del disolvente, entre otros, y sus efectos pueden ser independientes o interactiva. Es importante mencionar que fueron los extractos concentrados. Según los autores, extractos de hierbas comerciales carecen de uniformidad en la concentración fenólica y esto es un requisito esencial de un ingrediente para uso en alimentos funcionales.

En cuanto a la cantidad de compuestos fenolicos presente en jengibre, (Mošovská, Dominika, & Kaliňák, 2005) en sus investigaciones determinaron que la cantidad de los compuestos fenólico en el jengibre son 135.7 mg de ácido gálico/ g y 181.41 mg de ácido gálico /g en jengibre. La extracción de los compuestos fenólico se la realizo con etanol en una concentración de 80 % y 90% respectivamente. En la presente investigación los resultados que se reportan son que la mayor concentración obtenida fue al 60% de etanol con 290,49 mg de ácido gálico/ g en la muestra de jengibre mientras que la menor concentración fue la extraída al 70% con 110,44 49 mg de ácido gálico/ g de concentración de muestra.

Este valor es significativamente mayor en comparación con la investigación de (Mošovská, Dominika, & Kaliňák, 2005) según (Jaffery, y otros, 2003) declaró en su estudio, la composición y cantidad de compuestos fenólicos varían significativamente de acuerdo a diferentes factores intrínsecos y extrínsecos, incluyendo la genética de plantas y cultivares, el suelo y las condiciones de crecimiento, estado de madurez y condiciones de cosecha.

Los compuestos fenólicos representan uno de los principales grupos de metabolitos secundarios en las plantas y que están presentes en los alimentos y nutracéuticos. Estos fitoquímicos tienen una amplia gama de acciones biológicas, incluyendo la capacidad de actuar como antioxidantes, mejorar la

inflamación, modular la actividad de la enzima, y regular la expresión génica (Mckay, Che, Zampariello, & Blumberg, 2015) .

## 4.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

En la tabla N° 4 se muestra los resultados de la capacidad antioxidante de las diferentes muestras, en dos medidas diferentes, las mismas que fueron analizadas estadísticamente y no presentaron diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), sin embargo, matemáticamente la mejor actividad antioxidante la presento el tratamiento A2B1 (jengibre extraído al 50%) con una concentración de 31.06 micro mol/ml, mientras que la muestra con la concentración menor fue el tratamiento A1B2 (orégano extraído al 60% de etanol) con una concentración de 6,88 micro mol/ml.

**Tabla N° 4:** Actividad antioxidante

<b>TEST: TUKEY ALFA = 0.05</b>				
<b>Error:9,4104</b>				
<b>Muestras</b>	micro mol/ ml		Mg /ml	
<b>A1B1</b>	8,30443333	A	2,59814577	A
<b>A1B2</b>	6,88176667	A	2,15304672	A
<b>A1B3</b>	23,9537667	A	7,49423532	A
<b>A2B1</b>	31,0671	A	9,71973057	A
<b>A2B2</b>	16,8404333	A	5,26874007	A
<b>A2B3</b>	16,8404333	A	5,26874007	A

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según (Aneta Wojdyło, 2006) la actividad antioxidante en el orégano es de 19.9 micro Mol/ml. En la investigación se obtuvo una actividad mas alta en la concentración del jengibre al 50% de etanol 31,06 micro Mol/ml, mientras que la concentración menor fue de oregano al 60% de etanol con 6.88 micro Mol/ml.

Los resultados obtenidos están de cercanos con los datos de la literatura, (Lindberg, Nielsen, Bertesek, & Skibsted, 1996) informó de que la actividad antioxidante de orégano es debido a una variedad de componentes, incluyendo los compuestos hidrófilos y lipófilos. La actividad antioxidante de compuestos fenólicos es principalmente debido a sus propiedades redox que les permiten actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno, singlete atenuadores de oxígeno y metal chela-TdR (Rice-Evans, CA; Miller; Paganga, 1997).

(Mošovská, Dominika, & Kaliňák, 2005), en su investigación determinó que la actividad antioxidante del jengibre es de 4.28 mg/ml. En la presente investigación se determinó que la mayor concentración de etanol la obtuvo el 50% con 9.72 mg/ml, en la menor concentración, no hubo diferencia significativa ya que se obtuvo al 60% y 70% la misma concentración 5,26 mg/ml. Se observan diferentes resultados siendo mayor el valor de la presente investigación que los resultados de la autora citada debido a que los antioxidantes son muy sensibles a medio de reacción, es decir, agua y disolvente, pH, oxígeno, exposición a la luz.

Se sabe que la actividad antioxidante de los extractos de plantas que contienen componentes de polifenol se debe a su capacidad de ser donantes de átomos de hidrógeno o electrones y para capturar los radicales libres el análisis DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) es una de las pruebas utilizadas para probar la capacidad de los componentes del extracto de jengibre para actuar como donantes de átomos de hidrógeno (Stoilova, Keastanov, & Stoyanova, 2007). Los resultados demuestran la importancia de los compuestos fenólicos en el comportamiento antioxidante de extractos de especias y también que contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante total.

### **4.3 PÉRDIDA DE PESO**

En la tabla N° 5 se presenta los resultados del porcentaje de pérdida de peso de orégano y jengibre realizado en los 6 días de tratamiento donde se obtuvo que la muestra que mayor merma fue el tratamiento control con 54,65% mientras que

la muestra con menor merma fue A2B3 (jengibre al 70%) con 36,88%. Se demuestra que hay una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre el tratamiento control y la muestra A1B1 (orégano al 50%) por lo tanto en los demás tratamientos no existe diferencia significativa.

**Tabla N° 5:** Porcentaje de pérdida de peso orégano y jengibre

Tratamientos	Días			
	0	2	4	6
<b>A2B1</b>	0%	19,02%	41,61%	38,31%
<b>A2B2</b>	0%	19,00%	41,61%	38,09%
<b>A2B3</b>	0%	18,39%	38,10%	36,88%
<b>A1B1</b>	0%	30,49%	41,92%	42,12%
<b>A1B2</b>	0%	28,50%	39,44%	40,53%
<b>A1B3</b>	0%	26,76%	37,81%	38,18%
<b>Control</b>	0%	33,76%	50,04%	54,65%

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según Ochoa A (2013), determino que el valor de sinéresis (perdida de líquido) 9,28 % en un control el resultado fue tomado al dejar reposar el queso en su empaque durante 5 minutos. En la presente investigación se determinó que la mayor concentración la obtuvo el control con 54,65% en relación a la masa, mientras que el menor lo obtuvo el tratamiento A2B3 con 36,88%.

El valor citado por la autora es evidente menor al obtenido en la presente investigación esto se debe al tiempo al que fue sometido ya que el tiempo de dicha investigación fue de 5 minutos, mientras que el tiempo de nuestro control fue de 2 días; el queso fresco está expuesto frecuentemente a la pérdida de humedad y suero lo que cambia su textura, atributo sensoriales y rendimiento. El control de la sinéresis es un paso clave para aumentar el rendimiento y



mejorar la calidad de la cuajada durante el proceso de elaboración del queso, el drenado del suero y especial el alcance y la velocidad de la sinéresis influyen directamente en la humedad del queso y las condiciones y tiempo de elaboración determina las pérdidas de proteínas y suero afectando las propiedades químicas y organolépticas del queso (Ochoa, Hernandez, & Lopez, 2013).

El tiempo y el volumen de suero expulsado son directamente proporcional, pero se presenta mayor expulsión de suero en los primeros momentos ya que el queso merma a medida que pasa el tiempo. Uno de los fenómenos que controlan la firmeza del queso es el efecto de pérdida de humedad, que al provocar una disminución de la hidratación de las proteínas conduce a una mayor interacción de las mismas provocando el aumento de la firmeza de la matriz proteica (Adda, Gripon, & Yassal, 1982).

De acuerdo con (Ochoa, Hernandez, & Lopez, 2013), factores fisicoquímicos, ambientales y principalmente la calidad de la materia prima (leche), influyen en el tiempo de vida útil del queso. El queso fresco elaborado de manera artesanal, empacado al vacío y almacenado a 7 °C aproximadamente, presentó un tiempo de vida útil de máximo 20 días, mientras que a mayor temperatura (30 °C) su tiempo de vida útil es de 3 días.

#### **4.4 ANÁLISIS DE PH**

En la tabla N° 6 se presentan los resultados del pH, donde el tratamiento A1B1D2 (orégano extraído al 50% analizado en el día 2) 6,86 obtuvo el mayor pH, mientras que el tratamiento A2B2D6 (jengibre extraído al 60% analizados en el día 6) 5,85 con menor pH. Habiendo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre la muestra A1B1D2 (orégano extraído al 50% el día 2), A2B2D2 (jengibre al 60% el día 2), A1B1D0 (orégano al 70% de etanol el día 0), A1B3D2 (orégano al 70% de etanol el día 2), y las muestras A2B3D6 (jengibre al 70% el día 6), A1B2D6 (orégano al 60% el día 6), A2B1D6 (jengibre al 50% el día 6) y A2B2D6 (jengibre al 60% el día 6).

**Tabla N° 6:** Análisis de pH (Día 0 – Día 6)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,37955  
 Error: 0,0151 gl: 59

muestra	Medias	n	E.E.															
A1B1D2	6,86	3	0,07	A														
A1B2D2	6,80	3	0,07	A														
A1B3D2	6,73	3	0,07	A	B													
A2B1D2	6,71	3	0,07	A	B													
A2B2D2	6,71	3	0,07	A	B													
A2B2D0	6,68	3	0,07	A	B	C												
A2B1D0	6,67	3	0,07	A	B	C												
A1B1D0	6,66	3	0,07	A	B	C												
A1B1D6	6,66	3	0,07	A	B	C												
A2B3D2	6,64	3	0,07	A	B	C												
CONTROL	6,57	3	0,04	A	B	C												
A1B2D0	6,57	3	0,07	A	B	C												
A2B3D4	6,56	3	0,07	A	B	C												
A1B3D4	6,55	3	0,07	A	B	C												
A1B3D0	6,54	3	0,07	A	B	C												
A1B2D4	6,54	3	0,07	A	B	C												
A1B1D4	6,53	3	0,07	A	B	C												
A2B2D4	6,51	3	0,07	A	B	C												
A2B1D4	6,49	3	0,07	A	B	C	D											
A2B3D0	6,41	3	0,07		B	C	D	E										
A1B3D6	6,31	3	0,07			C	D	E	F									
A2B3D6	6,12	3	0,07				D	E	F	G								
A1B2D6	6,06	3	0,07					E	F	G								
A2B1D6	5,95	3	0,07						F	G								
A2B2D6	5,85	3	0,07							G								

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según, (Tunick, Van hekked, landola, & Tomasula, 2012), obtuvo para el Queso Fresco un pH de 6,39, en la primera semana de almacenamiento a 4°C. Mientras que hacia el final del tiempo de almacenamiento, el pH de los tratamientos fue disminuyendo hasta valores alrededor de 5. Los valores de la presente investigación muestran que el pH del queso es cercano obteniendo un valor mayor de 6,86 en el tratamiento A1B1D2, mientras que al pasar los días de análisis el del valor disminuyo en 5,85 en el tratamiento A2B2D6. Algunas de las causas de este descenso en el pH, se atribuyen al crecimiento de bacterias sobrevivientes a la pasteurización y/o por la contaminación cruzada en la elaboración y almacenaje del mismo. (Garcia, 2006), afirma que pH bajos de la cuajada promueve la solubilización de fosfato cálcico de la misma y acerca a las caseínas a su punto isoeléctrico por lo que se afectan considerablemente las propiedades funcionales.

(Negri, 2005), afirma que los valores de pH que toman los quesos frescos recién elaborados, se deben a las caseínas, fosfatos, sales minerales y ácidos orgánicos, sin embargo el pH puede variar además por la contaminación microbiana. Es en este punto donde la hidrólisis enzimática de la lactosa podría influir indirectamente en la variación del pH del queso fresco durante el tiempo de almacenamiento, ya que según, (Reinheimer & Zalazar, 2006), y (Vicaria, 2002), mencionan que debido a la hidrólisis se forman glucosa y galactosa, monosacáridos fácilmente digeribles por los microorganismos. Es así donde la hidrólisis puede ser beneficiosa en la elaboración de quesos madurados, ya que podría acelerar su maduración, mientras que en el caso de quesos frescos, que no llevan cultivo iniciador, podría acelerar su degradación.

## **4.5 CRECIMIENTO DE AEROBIOS MESÓFILOS Y COLIFORMES TOTALES**

### **4.5.1 Aerobios Mesófilos**

En la tabla N° 7 se presentan los resultados de aerobios mesófilos, donde el tratamiento A1B2D0 (orégano extraído al 60% analizado en el día 0) 400 ufc / g obtuvo la mayor cantidad de aerobios mesófilos, mientras que el tratamiento A1B2D2 (orégano extraído al 60% analizados en el día 2) 0,00 ufc /g con menor cantidad de aerobios mesófilos. Habiendo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre la muestra A1B1D0 (orégano extraído al 50% en el día cero), A1B3D2 (orégano extraído al 70% en el día dos), A1B3D0 (orégano extraído al 70% en el día cero), A1B1D6 (orégano extraído al 50% en el día seis), A1B1D0 (orégano extraído al 50% en el día cero), A1B1D4 (orégano extraído al 50% en el día 4), A2B3D2 (jengibre extraído al 70% en el día dos.), y las muestras A2B2D4 (jengibre extraído al 60% en el día cuatro), A1B2D6 (orégano extraído al 60% en el día seis), A2B1D4 (jengibre extraído al 50% en el día cuatro), A1B3D4 (orégano extraído al 70% en el día cuatro), A1B2D6 (orégano extraído al 60% en el día seis), A1B1D2 (orégano extraído al 50% en el día dos), A2B2D6 (jengibre extraído al 60% en el día seis), A2B3D0 (jengibre extraído al 70% en el día cero), A2B3D4 (jengibre extraído al 70% en el día cuatro), A2B1D2 jengibre extraído al 50% en el día dos), A2B1D6 (jengibre extraído al 50% en el día seis),

A2B2D2 (jengibre extraído al 60 en el día dos), A2B2D0 (jengibre extraído al 60% en el día cero), A2B1D0 (jengibre extraído al 50% el día cero), A1B2D2 (orégano extraído al 60% en el día dos.).

**Tabla N° 7:** Análisis de Aerobios Mesófilos

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2782,98335

Error: 813559,3220 gl: 59

Muestra	Medias	n	E.E.		
A1 B2D0	4000,00	3	520,76	A	
A1 B3 D2	4000,00	3	520,76	A	
A1 B3 D0	4000,00	3	520,76	A	
A1 B1D6	4000,00	3	520,76	A	
A1 B1D0	4000,00	3	520,76	A	
A1 B1D4	4000,00	3	520,76	A	
A2 B3 D2	4000,00	3	520,76	A	
A1 B2D4	2500,00	3	520,76	A	B
CONTROL	2000,00	3	260,38	A	B
A2 B2 D4	520,00	3	520,76		B
A1 B3 D6	370,00	3	520,76		B
A2 B1 D4	350,00	3	520,76		B
A1 B3 D4	230,00	3	520,76		B
A1 B2D6	140,00	3	520,76		B
A2 B3 D6	100,00	3	520,76		B
A1 B1 D2	30,00	3	520,76		B
A2 B2 D6	10,00	3	520,76		B
A2 B3 D0	0,00	3	520,76		B
A2 B3 D4	0,00	3	520,76		B
A2 B1 D2	0,00	3	520,76		B
A2 B1 D6	0,00	3	520,76		B
A2 B2 D2	0,00	3	520,76		B
A2 B2 D0	0,00	3	520,76		B
A2 B1 D0	0,00	3	520,76		B
A1 B2D2	0,00	3	520,76		B

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según (Torres, 2003) el valor de crecimiento de aerobios mesófilos permitidos en el queso es  $7 \times 10^7$  en la presente investigación se determinó que la cantidad de aerobios mesófilos A1B1D0 con 400 ufc/ g, mientras que la menor cantidad de aerobios mesófilos lo tuvo el tratamiento A1B1D4 con 0 ufc/g.

Según (Kongo, 2008) el recuento alto de este tipo de microorganismos en queseras artesanales probablemente se debe a las corrientes de aire que ingresan a la quesera por falta de barreras de protección y que podrían contener microorganismos que por sedimentación posan en las superficies de los materiales de trabajo sumando a ello la falta de ventilación adecuada en el área

de trabajo. Los recuentos de Aerobios mesófilos en el queso fresco son altos podrían reflejar la falta de higiene y desinfección durante el proceso de elaboración del producto, englobando desde la calidad microbiológica de la materia prima, el proceso de pasteurización, la manipulación del producto, los equipos y utensilios empleados y el almacenamiento.

El queso fresco es considerado un alimento de fácil alteración por su naturaleza y composición. El origen de la contaminación está principalmente en la leche cruda, esta puede estar contaminada por microorganismos patógenos, procedentes de vacas infectadas, del ambiente y equipo de ordeño contaminado, como también del personal que la manipula para, las condiciones del proceso influyen en la calidad microbiológica del queso, por lo tanto, si es deficiente la presencia de microorganismos patógenos en los quesos es recurrente. (Lanchipa & Dosa, 2003).

El queso es un alimento fermentado que durante su elaboración alcanza normalmente recuentos de bacterias fermentadoras de hasta  $10^9$  UFC/g, necesarias para la transformación de la leche en queso. Esto podría restarle importancia al elevado recuento de microorganismos encontrados. Sin embargo, los recuentos de hasta  $7 \times 10^7$  UFC/g de bacterias aerobias mesófilos encontrados en algunas muestras podrían indicar que durante la manipulación de la materia prima o su procesamiento no se han observado las medidas sanitarias de rigor. Una carga microbiana elevada puede afectar a la calidad del producto, ya que la presencia de estos microorganismos se asocia con el deterioro precoz de los quesos o con fermentaciones anormales. Además, debe tenerse en cuenta que entre las bacterias aerobias mesófilos pueden encontrarse muchas especies patógenas (Microbiological, 1984).

#### 4.5.2 Coliformes Totales

En la tabla N° 8 se presentan los resultados de aerobios mesófilos, donde el tratamiento A2B2D4 (jengibre extraído al 60% analizado en el día 4) 400 ufc / g obtuvo la mayor cantidad de coliformes totales, mientras que el tratamiento A2B1D0 (jengibre extraído al 50% analizados en el día 0) 0,00 con menor cantidad de coliformes totales. Habiendo diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre la muestra A1B3D0 (orégano extraído al 70% en el día 0), A1B3D2 (orégano al 70% en el día 0), A1B1D0 (orégano al 50% en el día 0), A1B3D0 (orégano al 70% en el día 0), A1B3D4 (orégano al 70% en el día 4), A1B3D6 (orégano al 70% en el día 6), A2B1D4 (jengibre al 50% en el día 4), A2B3D4 (jengibre al 70% en el día 4), A2B3D6 (jengibre al 70% en el día 6), A2B2D6 (jengibre al 60% en el día 6), A2B1D6 (jengibre al 50% en el día 6), A1B2D2 (orégano al 60% en el día 2), A1B2D6 (orégano al 60% en el día 6), A1B2D0 (orégano al 60% en el día 0), A2B3D2 (jengibre al 70% en el día 2), A1B2D4 (orégano al 60% en el día 4), y las muestras A1B1D4 (orégano al 50% en el día 4), A2B3D0 (jengibre al 70% en el día 0), A2B2D0 (jengibre al 60% el día 0), A1B1D2 (orégano al 50% el día 2), A2B1D2 (jengibre al 50% en el día 2), A2B2D2 (jengibre al 60% en el día 2), A2B1D0 (jengibre al 50% en el día 2).

**Tabla N° 8:** Análisis de Coliformes Totales

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2597,8142

Error: 708898,7288 gl: 59

Muestra	Medias	n	E.E.		
A1 B2D0	4000,00	3	486,11	A	
A1 B2D2	4000,00	3	486,11	A	
A1 B3 D0	4000,00	3	486,11	A	
A1 B3 D2	4000,00	3	486,11	A	
A2 B3 D2	4000,00	3	486,11	A	
A1 B3 D4	4000,00	3	486,11	A	
A1 B2D6	4000,00	3	486,11	A	
A2 B2 D4	4000,00	3	486,11	A	
A2 B2 D6	4000,00	3	486,11	A	
A2 B1 D4	4000,00	3	486,11	A	
A2 B3 D4	4000,00	3	486,11	A	
A2 B1 D6	4000,00	3	486,11	A	
A2 B3 D6	4000,00	3	486,11	A	
A1 B2D4	4000,00	3	486,11	A	
A1 B3 D6	4000,00	3	486,11	A	
CONTROL	2142,50	3	243,05	A	B
A1 B1D6	1850,00	3	486,11	A	B
A2 B3 D0	550,00	3	486,11		B
A1 B1D4	550,00	3	486,11		B
A2 B2 D0	280,00	3	486,11		B
A1 B1 D2	220,00	3	486,11		B
A2 B1 D2	50,00	3	486,11		B
A2 B2 D2	40,00	3	486,11		B
A2 B1 D0	0,00	3	486,11		B
A1 B1D0	0,00	3	486,11		B

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Según (Torres, 2003) el valor de crecimiento de coliformes totales permitidos en el queso es  $1 \times 10^3$  en la presente investigación se determinó que la cantidad de coliformes totales A2B2D4 con 400 ufc/ g, mientras que la menor cantidad de coliformes totales lo tuvo el tratamiento A2B2D0 con 0 ufc/g.

Se dice que el crecimiento de microorganismos originan alteraciones en el queso, ya sea, en su aspecto o propiedades organolépticas; la alteración bacteriana ocurre con mayor frecuencia durante su proceso de elaboración y comúnmente se presenta una hinchazón que es producida cuando la leche está contaminada por coliformes, por la mala higiene durante el ordeño o indeseables condiciones durante el procesamiento del queso. (Bibek & Arun, 2009).

La presencia de antibióticos en leche y una acidificación lenta, potencian el crecimiento de Coliformes, por falta de acidez. La hinchazón también se produce por un mal manejo de fermentos en el caso de los quesos que utilizan bacterias

mesófilos aromatizantes y que a través de la lactosa y ácido cítrico forman gas para dar la presencia de ojos; al producirse en desequilibrio de bacterias se da un exceso de gas lo que la hinchazón temprana en el queso (Vasquez, 2013).

Las bacterias Coliformes producen ácido láctico y ácido acético, bióxido de carbono e hidrógeno a partir de la lactosa. En base a la formación de estos gases, se puede determinar la presencia de bacterias Coliformes. La presencia de estas indica además la existencia de bacterias patógenas. (Meyer, 1987)



## V. CONCLUSIONES

Se determinó que con la concentración de etanol a 60% se obtiene mayor extracción de compuestos fenólicos de jengibres y con una concentración de etanol al 70% se obtiene mayor extracción en orégano, la capacidad antioxidante mayor fue de 31,06 micro mol/ml en el tratamiento A2B1 jengibre extraído al 50% y 23,45 micro mol/ml en el tratamiento A1B3 orégano extraído al 70%.

En el efecto antimicrobiano de aerobios mesófilos se hallaron los siguientes valores en orégano el mejor tratamiento fue A1B2 con 4000,00 ufc/g reduciéndose la carga microbiana en 140,00 ufc/g en el día 6, en jengibre el mejor tratamiento fue A2B1 en los 6 días de tratamiento, en coliformes totales los valores fueron distintos aumentando al pasar de los días de tratamiento en orégano en el tratamiento A1B1 aumento de 0,00 a 1850,00 ufc/g mientras que en jengibre el tratamiento A2B1 aumento de 0,00 a 4000,00 ufc/g, encontrándose aerobios dentro de los parámetros permitidos pero sobrepasando los valores en coliformes totales.

En los parámetros fisicoquímicos se determinó como mejor tratamiento A2B3 jengibre al 70% debido a que fue el que presentó una retención de 36,88%, en los 6 días de evaluación, mientras que los tratamientos A1B1D2 y A2B2D6 mostraron un pH de 6,86 desde el día 0 al día 2 ya en el día 4 y 6 llegó a 5,85 esto se atribuye al crecimiento de bacterias sobrevivientes a la pasteurización y/o por la contaminación cruzada en la elaboración y almacenaje del mismo.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Aplicar las extracciones de orégano y jengibre a productos con baja cantidad de humedad.

Realizar extracción de compuestos fenólicos en las diferentes especias del Ecuador.

Realizar los análisis de actividad antioxidante al mismo tiempo para así reducir la pérdida de recursos químicos como es la solución ABTS y per sulfato de potasio ya que dicha solución solo es estable por dos 48 horas y rinde para varios tratamientos.

Tener precaución con los cartuchos al momento del tomo de muestra en el espectrofotómetro.

Realizar extracciones de compuestos fenólicos al 60% de etanol en jengibre y al 70% etanol en orégano.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Adda, J., Gripon, J., & Yassal, L. (1982). The chemistry of flavour and texture generation in cheese . *Food chemistry* , 115-12.
- Adhikari, k., Mustapha, L., Gun, A., & Fernando, L. (2000). Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. *Journal of food microbiology* , 1946-1951.
- Alexandre Luis Parize, T. C. (08 de 07 de 2008). *Microencapsulation of the natural urucum pigment with chitosan by spray drying in different solvents. African Journal of Biotechnology* . Obtenido de [http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379773001\\_Parize%20et%20al.pdf](http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1379773001_Parize%20et%20al.pdf)
- Anal, A. a. (2007). *Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery: a review. Trends in Food Science and Technology*.
- Aneta Wojdyła a, J. O. (7 de 02 de 2007). *Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs*. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038#>
- Barberan, F. T. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *ANS*, 41-53.
- Batista Carmona A, P. A. (2003 ). Caracterización de los compuestos pungentes en la tintura de jengibre al 50% . *Cubana Plant Med* .
- Bergamo, E. F. (2010). *Food Chemistry and Toxicology*. 69-72.
- Bibek, R., & Arun, B. (2009). *Fundamento de la microbiología de los alimentos* . Lima : Cuarta edición , Litigrafica Ingramex .
- Borgogna, M., Bellich, B., Zorzín, L., Lapasin, R., & Cesaro, A. (2010). FOOD MICROENCAPSULATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS RHEOLOGICAL AND THERMAL CHARACTERISATION OF NON-CONVENTIONAL GELLING SYSTEM . *Food chemistry* 122(2) , 416-423.
- Castro M., R. C. (2014 ). UTILIZACIÓN DE RECUBRIMIENTO COMESTIBLES A BASE DE QUITOSANO Y ALOE VERA EN PAPAYA (Carica papaya) . *Alimentos , Ciencia e Ingeniería* , 5-12.
- Chipault, J., Mizun, G., Hawkins, J., & Lundberg, W. (1952). The antioxidant properties of natural spices . *Food Research* , 46-55.
- Chun, S., Shetty, K., Vatter, D., & LIN. (2005 ). ioxidantes Y. fenólicos de orégano clonal ( *Origanum vulgare*) con actividad antimicrobiana contra *Helicobacter pylori*. *PROCESO DE BIOQUIMICA* , 809-816.
- Creus, E. G. (6 de 6 de 2004). *ÁMBITO FARMACÉUTICO Nutrición*. Obtenido de *Compuestos fenólicos* : [www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508-S30](http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13063508-S30)

- Dalsgaard, Kastrup, T., Sorensen, J., & Bakman, M. (26 de Abril de 2010). *Light-induced protein and lipid oxidation in cheese: Dependence on fat content and packaging conditions*. Brabrand, Aarhus, Dinamarca.
- Eck, A. (2000). What is a cheese ? *Cheesemaking : From Science to Quality Assurance* , 661-662.
- Fox P, F., & McSweeney P, I. (1996). Proteolysis in cheese during ripening. *Food reviews internacional*, 457-509.
- Funami, T. F. (14 de 02 de 2009). *Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca<sup>2+</sup> binding*. Obtenido de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301638778>
- Garcia, B. (2006). Caracterización Físico-química de diversos tipos de quesos. *TESIS PARA OBTENR EL TITULO DE INGENIERO aGROINDUSTRIAL*. Universidad autonoma del estado de Hidalgo: p, 98.
- Gunasekaran S & Ak, M. M. (2003). Cheese Rheology and Texture. *CRC Press, Nueva York ,EE UU.*, 437.
- Hanssen, G. A. (1988). *Enteric viruses and coliphages in Latin America*. Obtenido de <http://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1002/tox.2540030506>
- Helgerud, T., Gåserød, O., Fjæreide, T., & Andersen, P. O. (2010). *In Food stabilizers, thickeners and gelling agents*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Huerta, R. A. (16 de 06 de 2010). *bacterias acido laticas: papel funcional en los alimentos*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>
- Isabel Martínez Valverde, M. J. (03 de 2000). *significado nutricional de los compuestos fenolicos de las dieta*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/262551532\\_Significado\\_nutricional\\_de\\_los\\_compuestos\\_fenolicos\\_de\\_la\\_dieta](https://www.researchgate.net/publication/262551532_Significado_nutricional_de_los_compuestos_fenolicos_de_la_dieta)
- Jaffery, E., AF, B., AC, K., AS, K., N, M., BP, K., & JA, J. (2003). Factores de cosecha. *Food compost anal* 16, 323-330.
- Kapoor, C. K. (15 de 09 de 2001). Obtenido de <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x#>
- Kongo, M. (2008). "Monitoring and Identification of Bacteria Associated with Safety Concerns in the Manufacture of Saõ Jorge, a Portuguese Traditional Cheese from Raw Cow's Milk". *Journal of food protection* , 986-882.
- Lanchipa, L., & Dosa, y. (2003). *Evaluación de la Carga Microbiana Patógena en la Elaboración del Queso Fresco en el Distrito de*. Distrito de tacna: Peru
- Lindberg, H., Nielsen, B., Bertesek, G., & Skibsted, L. (1996). Una comparación entre ensayos basados en ESR SPIN captura de animales y medición

- electroquímica de consumo de oxígeno. . *Screening de la actividad antioxidante de especias* , 331-337.
- Lopez, C. R., & Ruiz, J. V. (2012). Temas selectos de ingeniería de Alimentos . *quesos frescos: metodos de determinacion y factores que afectan su calidad*. Puebla , Mexico.
- María Jesús Periago, J. G.-A. (11 de 18 de 2009). *Bioactive compounds, folates and antioxidant properties of tomatoes (Lycopersicum esculentum) during vine ripening*. Obtenido de <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/09637480701833457>
- Martín Villena MJ, M. H. (18 de 06 de 2009). *Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos*. Obtenido de [farmacia.ugr.es/ars/pdf/452.pdf](http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/452.pdf)
- Martinez - Flores S, G. -G. (2002 ). Los Flavonoides, propiedades y acciones antioxidantes . *Nutr Hosp*, 271-278.
- Martinez -Tome M, J. A. (2001). Antioxidant properties of mediterranean spices compared with common food additives . *Food Protect* , 1412-1419.
- Mckay, D., Che, C., Zampariello, C., & Blumberg, J. (2015). Características químicas, físicas y sensoriales de de un queso de cabra adaptado del tipo “Crottin de Chavignol”. *Agronomía Mesoamericana. Food Chem* 168, 233-240.
- Meyer, M. (1987). *Elaboración de productos lácteos*. Mexico: 5 ed.
- Microbiological, I. C. (1984). *Técnicas de analisis microbiologico*. Zaragoza : Acribia .
- Mošovská, S., Dominika, N., & Kaliňák, M. (2005). *La acividad antioxidante de extracto de jengibre y la identificacion de sus componentes activos*. Bratislava, Eslovaquia: Departamento de espectoscopia de RMN.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated lactobacillus acidiphilus and survivak under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of functional foods*, 319-323.
- Negri, L. (2005). *Manual de referencias técnicas para el logro de leche de calidad*. INTA. 2da Edicion, 161 p.
- Ochoa, A., Hernandez, J., & Lopez, E. (2013). Rendimiento, firmeza y acepyacion sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *universidad y ciencia* , 29(3): 277-286.
- Ogbunugafor, & H.A. (2011). Physico-chemical and antioxidant properties of Moringa oleifera seed oil. *Pakistan journal of nutrition*, 409.
- Pal, K., & Paulson, A. T. (2009.). *Biopolymers in controlled-release delivery systems. In Modern biopolymer science. Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application*. London-Burlington San Diego : Academic Press.

- Poncelet, D. (25 de 02 de 2006). *Production of Alginate Beads by Emulsification/Internal Gelation*. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03824.x>
- Quinones M, M. M. (2012). Los polifenoles , compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular . *NUTR HOSP* , 76-89.
- Reinheimer, J., & Zalazar, C. (2006). *Avances en microbiología bioquímica y Argentina* : Ediciones UNL. Argentina. 339 p.
- Rice-Evans, CA; Miller; Paganga. (1997). Propiedades antioxidantes de los compuestos fenolicos. *Trends in plant sciencie*, 4:304-309.
- RIO, J. T. (2013). DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH Y ABTS. PEREIRA.
- Santacruz, S. S. ( 2011. ). *Desarrollo de nuevo producto filetes de pescado dorado marinados, apanados, fritos y congelados: "Filetes de dorado fritos"*. Obtenido de <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/707>
- Santos, R. D., & Shetty, K. (Abril de 2012). CIÊNCIAS DE ALIMENTOS. *Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread*. Londrina , Brasil .
- Shahidi F, J. P. (1992). Phenolic Antioxidants. *Food Sci Nutr*, 67- 103.
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela.Raventos. (1999). Análisis de RM de los fenoles totales y otros sustratos de oxidación y antioxidantes por medio de reactivo Folin- Ciocalteu. . *Methods in enzymology* , 152-179.
- Sozer, N., Kokini, J., & Kailasapathy, K. 2. (2009 ; 2006). Nanotechnology and its applications in the food secotr. *Trends in biotechnology* 27(2), 82-89.
- Stoilova, I., Keastanov, A., & Stoyanova, a. (2007). *Food chem*, 764-770.
- Suhaj, M. (2006). antioxidantes , Especies y su actividad antirradical. *Diario de composicion y analisis de alimentos* , 531-537.
- Sultana, A., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., & Peiris, P. (2003). International journal of food microbiology. *Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simmulated gastrointestinal conditions and in yogurt*, 47-55.
- Torres, R. L. (03 de 14 de 2003). *Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de Lactobacilluspp*. Obtenido de [file:///C:/Users/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge\\_8wekyb3d8bbwe/TempState/Downloads/a02v14n3%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/AppData/Local/Packages/Microsoft.MicrosoftEdge_8wekyb3d8bbwe/TempState/Downloads/a02v14n3%20(1).pdf)
- Tunick, M., Van hekked, D., landola, S., & Tomasula, P. (2012). Characterization of Queso Fresco during Storage at 4 and 10°C. *Journal of food research*, (1): 308-319.
- Vasquez, G. (2013). *ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO DE COLIFORMES*. Cuenca .

- Velez & Ruiz, J. (2009). *Rheology and Texture of Cheese*. Nueva York , EE,UU: Nova Science Publishers.
- Vicaria, J. (2002). Estudio cinético de la hidrólisis de lactosa mediante un reactor de. *tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias* , 262 p.
- Walstra P, Wouters J, T., & Geurts T, J. (2006). CRC Press. En *Dairy Science and Technology* (págs. 140-155). Nueva York , EE.UU .
- Watkinson, P., Coker, C., Crawford, R., Dodds, C., Jonston, K., & Mckenna, A. (2001). Effect of cheese ph and ripening time on model cheese texttural properties and proteolysis. *international dairy journal*, 455-464.
- Weinbreck, F., Bodnar, I., & Marco, M. (2010). *International Journal of food microbiology*, 364-367.

# ANEXOS



### **Anexo 1. Secado de muestra oregano y jengibre**



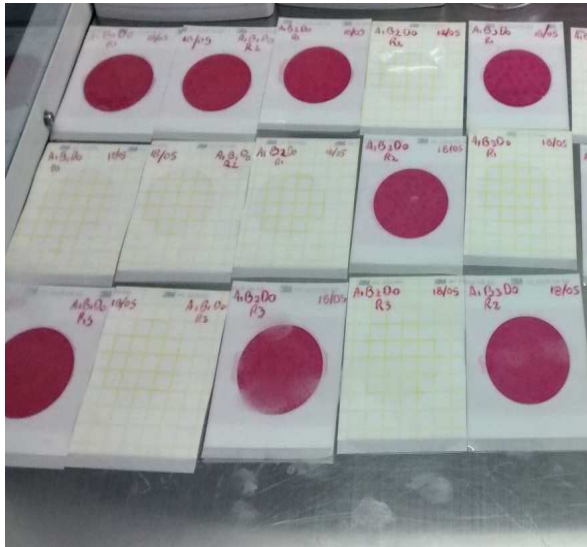
### **Anexo 2. Extracion de compuestos fenolicos de oregano y jengibre**



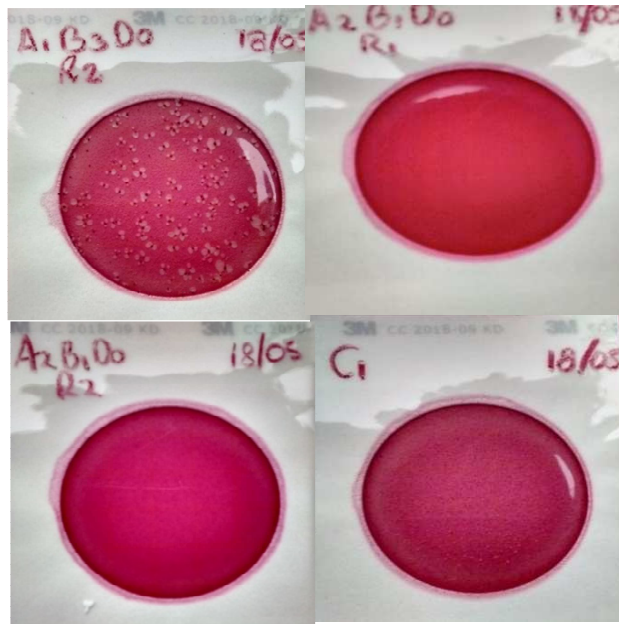
### Anexo 3. Analisis de pH



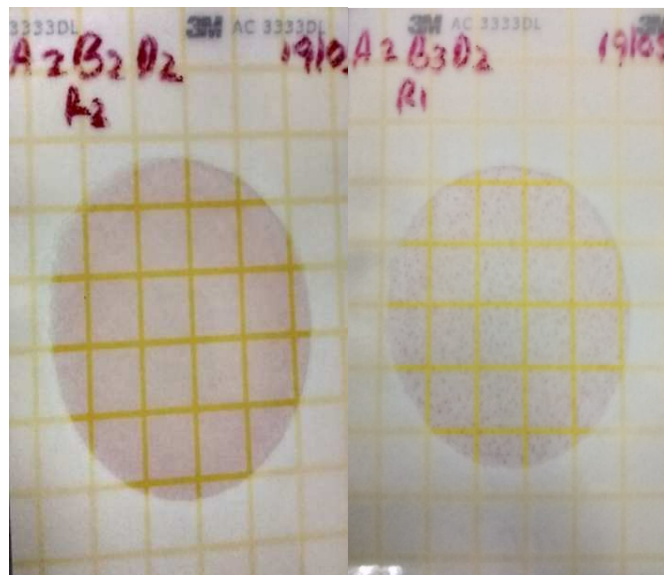
### Anexo 4. Siembra de muestras en petrifill de mesófilos y coliformes totales



**Anexo 5. Resultados de coliformes totales**



**Anexo 6. Resultado de aerobios mesófilos**



## Anexo 7: Tablas de pérdida de peso del día 0 al día 6

Pérdida de peso (Día 2)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,68901

Error: 7,6060 gl: 14

muestra	Medias	n	E.E.	
CONTROL	33,76	3	1,59	A
A1B1	30,10	3	1,59	A B
A1B3	29,68	3	1,59	A B
A2B2	28,92	3	1,59	A B
A1B2	27,98	3	1,59	A B
A2B3	26,17	3	1,59	A B
A2B1	25,78	3	1,59	B

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Pérdida de peso (Día 4)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,70702

Error: 2,8504 gl: 14

muestra	Medias	n	E.E.	
CONTROL	50,04	3	0,97	A
A1B1	41,92	3	0,97	B
A2B2	41,61	3	0,97	B
A2B1	41,61	3	0,97	B
A1B2	39,44	3	0,97	B
A2B3	38,10	3	0,97	B
A1B3	37,81	3	0,97	B

Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

Pérdida de peso (Día 6)

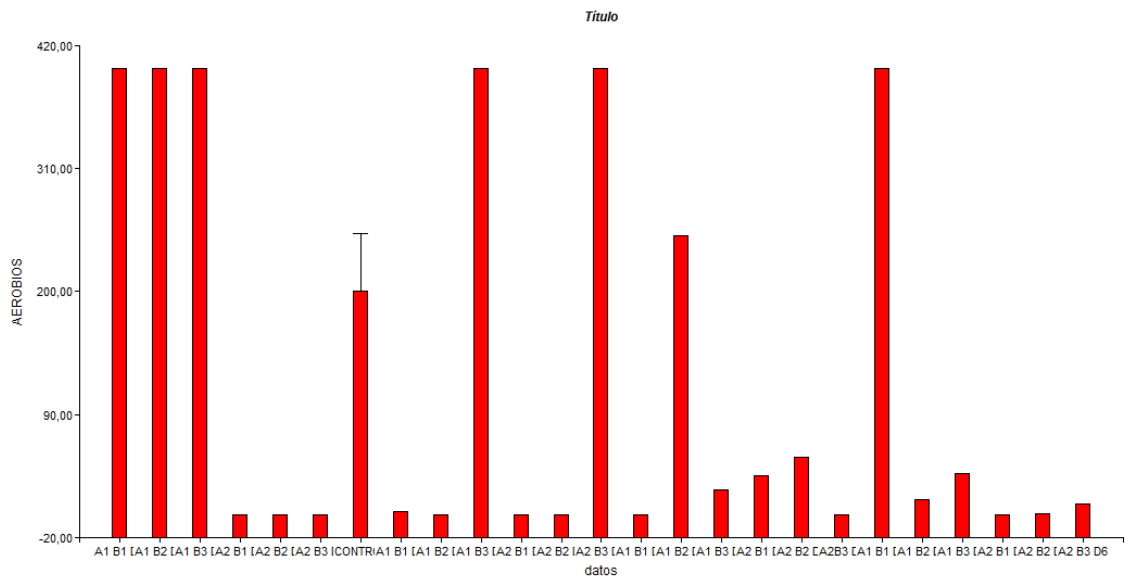
Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,35782

Error: 17,9246 gl: 13

muestra	Medias	n	E.E.	
CONTROL	54,65	3	2,44	A
A1B1	42,13	2	2,99	B
A1B2	40,53	3	2,44	B
A2B1	38,31	3	2,44	B
A1B3	38,18	3	2,44	B
A2B2	38,09	3	2,44	B
A2B3	36,88	3	2,44	B

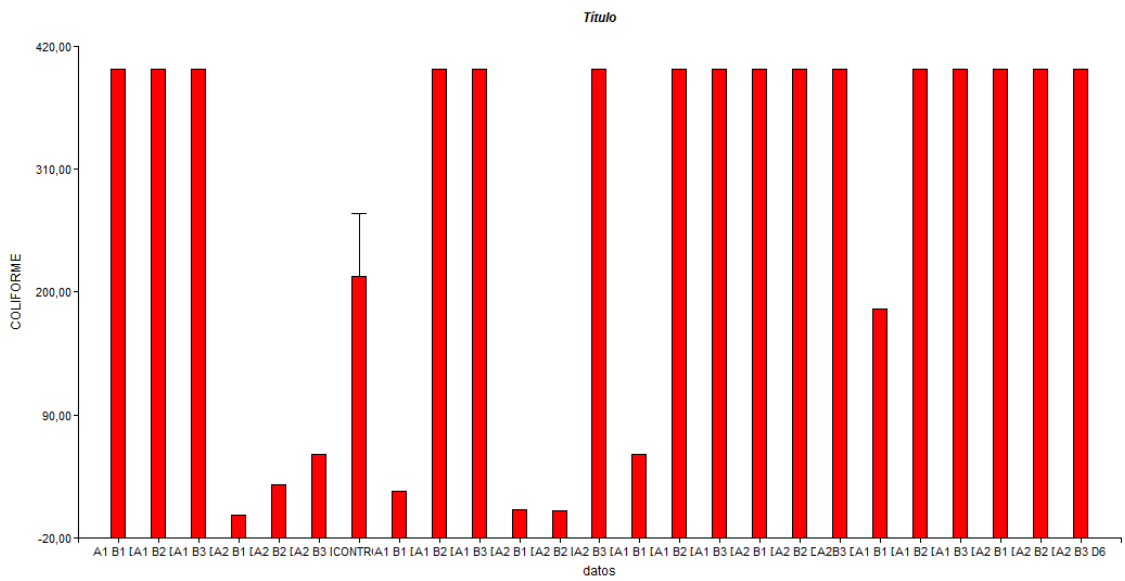
Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

### Anexo 8: Resultados de aerobios mesófilos



Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018

### Anexo 9: Resultados de coliformes totales



Elaborado por: Bailón M y Zambrano G. 2018