



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO

TEMA

“Evaluación del poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) en *salmonella spp* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación del queso fresco”

AUTORAS

ESCUDERO JAMI BERCY ELICETH

PARRAGA GONZALEZ MAYRA ALEXANDRA

TUTOR

ING. SAYONARA REYNA ARIAS MG. SC

MANTA - MANABÍ - ECUADOR

2019

UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DE GRADO

“EVALUACIÓN DEL PODER INHIBITORIO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum kunth*) EN *SALMONELLA SPP* APLICADOS EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA 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 el tribunal:

Ing. María Isabel Mantuano Cusme, Mg.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Cristhian Rivadeneira Mg. Sc

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Aldo Mendoza González, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad de CIENCIAS AGROPECUARIAS de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, certifico:

Haber dirigido y revisado el trabajo de titulación, cumpliendo el total de 400 horas, bajo la modalidad de tesis, cuyo tema del proyecto es “**Evaluación del poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) En *Salmonella spp* Aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación del queso fresco**”, el mismo que ha sido desarrollado de acuerdo a los lineamientos internos de la modalidad en mención y en apego al cumplimiento de los requisitos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico, por tal motivo CERTIFICO, que el mencionado proyecto reúne los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometido a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

La autoría del tema desarrollado, corresponde a la señorita **Bercy Eliceth Escudero Jami**, y señora **Mayra Alexandra Párraga González**, estudiante de la carrera de **Ingeniería Agroindustrial**, período académico 2018-2019, quienes se encuentran aptas para la sustentación de su trabajo de titulación.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Manta, 8 de Junio de 2019.

Lo certifico,

Ing. KATHYA SAYONARA REYNA ARIAS Mgs. Sc.
Docente Tutor(a)

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotras las alumnas egresadas BERCY ELICETH ESCUDERO JAMI con C.I. 172422512-1 y MAYRA ALEXANDRA PARRAGA GONZALEZ con C.I. 1313469833 de la facultad de Agroindustrias, declaramos de forma libre y voluntaria que el trabajo, **Evaluación del poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) en salmonella spp aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación del queso fresco**, y las expresiones vertidas son autoría de los abajo firmantes y que se han realizado las correspondientes investigaciones en base a la bibliografía datos en internet y revistas científicas. En consecuencia, asumimos la responsabilidad de la originalidad de la misma que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se han respetado las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

BERCY ESCUDERO JAMI

MAYRA PARRAGA GONZALEZ

AGRADECIMIENTO

A nuestros Padres y hermanos por su amor incondicional por apoyarnos y confiar en nosotros en cada momento y a pesar de los sacrificios y adversidades dieron todo para que culmináramos con éxitos nuestros estudios.

A la Ing. Sayonara Reyna Arias Mg., nuestra tutora y amiga, por guiarnos en esta investigación, por brindar su apoyo absoluto y por ser ejemplo a seguir en nuestra carrera.

A todo el personal que labora en esta institución gracias por su orientación apoyo y colaboración y a todos aquellos que lograron que se cumplieran los objetivos de nuestra tesis.

Y nuestros agradecimientos imperecederos a las personas que nos dieron la vida, que siempre y en todo momento han estado con nosotras apoyándonos, formándonos y enseñándonos a diferenciar lo bueno y lo malo de la vida; Clelia Jami, Nevinson Escudero, Anita Zapata, Alfonso Andino, Alexander Uvillús; María González, Alex Quiroz, Julio Párraga y a mi querida hija Keysha Peñafiel,

Mil Gracias a todos.

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedicamos a nuestras familias que gracias a su apoyo pudimos culminar nuestra carrera.

A nuestros padres por su apoyo incondicional para cumplir con los objetivos trazados como persona y estudiantes.

A nuestros hermanos por estar siempre apoyándonos.

A nuestra tutora la Ing. Sayonara Reyna Arias Mg., por la oportunidad que nos brindó y los consejos para seguir adelante con nuestras metas.

ÍNDICE

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN.....	1
1.-MARCO TEÓRICO.....	3
1.2.- QUESO	3
1.2.2.-Bacterias Patógenas en el Queso Fresco	4
1.3.- MORTIÑO	6
1.3.1.-Propiedades Nutricionales del Mortiño	6
1.4.- COMPUESTOS FENOLICOS	7
1.4.1.-Compuestos Activos del Mortiño	8
1.5.- ENCAPSULACIÓN DE LOS ALIMENTOS	9
1.6.- RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES EN ALIMENTOS.....	9
1.6.1.-Beneficios de los Recubrimientos Comestibles.....	10
1.6.2.-Polisacáridos Formadores de Recubrimientos Comestibles	11
1.7.-PROBLEMA	11
1.8.- JUSTIFICACIÓN	12
1.9.-HIPÓTESIS	14
1.10.- OBJETIVOS	14
CAPITULO II	15
2.1.-METODOLOGÍA.....	15
2.1.1.- FACTOR DE ESTUDIO.....	15
2.1.2.-Diseño Experimental N. °1.....	15
2.1.3.- Diseño Experimental N. °2.....	16
2.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16
2.2.1.-Tipo de Diseño	16
2.2.2.-Análisis Estadístico.....	17
2.3.- TRATAMIENTOS	17
2.4.-PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	19
2.5.- MÉTODOS DE ANÁLISIS	19
2.5.1.-Extracción de los Compuestos Fenólicos del Mortiño	19
2.5.2.-Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales del Mortiño	19
2.5.3.-Dilución de Compuestos Fenólicos	20
2.5.4.-Encapsulación de Compuestos Fenólicos del Mortiño	20
2.5.5.-Determinación de la Eficiencia de Encapsulación	20

2.5.6.-Actividad Antibacteriana de Compuestos Fenólicos del Mortiño en <i>Salmonella spp</i> (método de difusión de discos en agar)	20
2.5.7.-Inducción del Queso Fresco en <i>Salmonella spp</i>	21
2.6.-APLICACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE	21
2.6.1.-Elaboración del Recubrimiento.....	21
2.6.2.-Aplicación del recubrimiento por método de inmersión en los quesos Frescos.....	21
2.7.-Análisis Físico–Químico	21
2.7.1.-Determinación del pH.....	21
2.7.2.-Determinación de Acidez por Titulación	22
2.7.3.-Pérdida de Peso.....	22
2.7.4.-Determinación de Textura Instrumental.....	22
2.7.5.-Determinación de Color.....	22
2.8.-Análisis Microbiológicos	23
2.8.1.-Análisis de <i>Salmonella spp</i>	23
CAPITULO III	24
3.1- RESULTADOS Y DISCUSIONES	24
CAPITULO IV	37
4.1- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	37
CAPITULO V	40
BIBLIOGRAFÍA.....	40
ANEXO	63

ÍNDICE DE TABLA

Tabla Nº1. Composición proximal y análisis fisicoquímico del queso fresco	4
Tabla Nº 2. Propiedades nutricionales del mortño	7
Tabla Nº 3. Análisis de varianza (ANOVA) del diseño experimental Nº1	18
Tabla Nº 4. Análisis de varianza (ANOVA) del diseño experimental Nº2	18
Tabla Nº 5. Tratamientos de estudio del diseño experimental 1	19
Tabla Nº 6. Tratamientos de estudio del diseño experimental 2.	19
Tabla Nº 7. Valores para la curva de calibración.	20
Tabla Nº8. Resultados de los análisis de salmonella spp al día 0, 2, 4, 6 y 8 de la investigación.	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico Nº 1. Curva de calibración del ácido gálico	25
Gráfico Nº 2. Resultados generales del poder inhibitorio de las concentraciones libres y encapsuladas de compuesto fenólico de mortño frente a salmonella spp.	28
Gráfico Nº 3. Resultados obtenidos de pH en el queso fresco.	29
Gráfico Nº 4. Resultados obtenidos de acidez en el queso fresco con recubrimiento comestible y compuestos fenólicos al 0,6%.....	30
Gráfico Nº 5. Resultados obtenidos de pérdida de peso de queso fresco.	32
Gráfico Nº 6. Resultados obtenidos del color del queso fresco.	33
Gráfico Nº 7. Resultados obtenidos de los parámetros de textura del queso fresco Dureza y Adhesividad.....	34

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) en *salmonella spp* aplicados en recubrimiento comestible (RC) para la conservación del queso fresco”, el mismo que se direcciona en el proceso de extraer y aplicar los compuestos fenólicos de mortiño en un RC para conservar queso fresco, evaluando las características físico químicas y la reducción de *salmonella spp* Seleccionando como mejor tratamiento en el primer diseño, A2B1 sin encapsular con un halo de inhibición de 49,66 mm en 24 horas, se aplicó al RC conformado por quitosano, almidón de yuca, gelatina y compuestos fenólicos del mortiño. Siendo el mejor tratamiento del segundo diseño A2B2C1 (1,5% gelatina, 2% quitosano, 2% almidón de yuca y 2% compuestos fenólicos) al 0.6% de concentración, iniciando con 10^3 ufc/ml de *salmonella spp* inoculada y terminando con $8,510^2$ ufc, comparando con los tratamientos control y control quitosano que fueron incontables. Los análisis fisicoquímicos mostraron características similares a la de un queso fresco sin recubrimiento, pH de 5,88, acidez titulable de 0,020%, pérdida de peso 26,23%, la textura y color no presentaron diferencias significativas.

Palabras claves: mortiño, compuesto fenólico, recubrimiento comestible, encapsulación, queso fresco.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to evaluate the inhibitory power of the mortiño phenolic compounds (*Vaccinium floribundum* kunth) in salmonella spp. Applied edible eniquaster (RC) for the conservation of fresh cheese, the same that is addressed in the process of extraction and application of phenolic mortiño compounds in a RC to preserve the fresh, evaluate the physical characteristics and reduction of salmonella. Selecting the best treatment in the first design, A2B1 without encapsulating with an inhibition halo of 49.66 mm in 24 hours, was applied to the RC formed by chitosan, cassava starch, gelatin and phenolic mortiño compounds. Being the best treatment of the second A2B2C1 design (1.5% of gelatin, 2% of chitosan, 2% of cassava starch and 2% of phenolic compounds) at 0.6% concentration, starting with 10^3 cfu / ml of salmonella spp inoculated and ending with $8.5 \cdot 10^2$ cfu, comparing with chitosan control and control treatments that were countless. The physical analysis of 5.88, the titratable acidity of 0.020%, the weight loss of 26.23%, the texture and the color do not have significant differences.

Keywords: mortiño, phenolic compound, edible coating, encapsulation, fresh cheese.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen varias tecnologías para prolongar la vida útil de los alimentos mínimamente procesados y procesados como es el caso del queso fresco, entre estas tecnologías destaca el desarrollo y uso de los recubrimientos comestibles, los cuales tienen la capacidad de controlar la transferencia de agua y gases como el oxígeno y dióxido de carbono, controlando la tasa de crecimiento microbiano con el objetivo de conservar las características de los alimentos. (Alchipiz *et al.* 2013).

Hoy en día, entre los alimentos que más consumen las personas tenemos principalmente a los de origen agrícola como la leche bovina la cual está constituida por agua (80%), proteínas, lactosa, enzimas, grasa, vitaminas, y sales minerales (Valencia *et al.* 2015), estimado como un alimento de primera necesidad, por su alto valor nutricional. Y debido a sus constituyentes se lo ha considerado como un alimento básico e indispensable en la dieta de niños, ancianos, enfermos, y en general de toda la población, sin embargo, el hombre la ha aprovechado para su alimentación, empleándola directamente o transformándola para la obtención de productos derivados de la misma como el queso, yogurt y mantequilla, entre otros con el fin de mantener sus cualidades y así poder aprovecharlas de una mejor manera. (Gómez & Mejía 2005)

Debido al valor nutricional que posee la leche hace que este sea un alimento muy perecible por lo que en la presente investigación se propone utilizar compuestos fenólicos por sus destacables propiedades antioxidantes y antimicrobianas que constituyen unos de los grandes grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal que se encuentra en mayor cantidad en el Mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*).

En el Ecuador el mortiño se considera una planta silvestre que crece en las partes altas de la cordillera de los Andes, este presenta varias posibilidades agroindustriales una de ellas es el uso como componente activo en

recubrimientos comestibles para conservar el queso fresco manabita con la función de inhibir microorganismos patógenos como la *salmonella spp* (Aguilar *et al.* 2009). En el Ecuador, específicamente en la región costa existe diversos problemas por la ingesta de alimentos contaminados con esta bacteria, generalmente se da por el consumo de queso fresco, ya que estos se encuentran expuestos al medio ambiente al momento de ser comercializados causando daños a la salud del consumidor (Dávila 2006).

1.-MARCO TEÓRICO

1.2.- QUESO

El queso es un 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 sólida o semisólida en el producto obtenido (Vélez y Ruiz (2009)

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual, por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, 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 *et al.* 2006).

El queso fresco es una conserva, de color blanco y sabor salado, que se obtiene por pasteurización de la leche entera de ordeño reciente, cuajando (adicionando cuajo), acidificando (con fermentos bacterianos) y desuerando la leche. Además, se agrega sal para el sabor y cloruro de calcio (opcional) para favorecer el proceso de coagulación. El cuajo es una sustancia que tiene la propiedad de cuajar la caseína contenida en la leche, facilitando la concentración de sólidos y produciendo lo que se conoce como suero de leche. Los cultivos bacterianos, son cultivos de bacterias útiles para la producción del queso y pueden ser acidificantes o aromatizantes (Santos 2001).

La vida de anaquel en el queso fresco puede durar hasta 2 semanas, dependiendo del empaque y las condiciones de conservación en refrigeración. Puede considerarse un queso tanto de clima templado como tropical; en este caso, se elabora con leche de ganado de doble propósito, de sistema de leche extensivo (Meyer 2000).

Composición Nutricional. - El contenido de agua en quesos frescos es relativamente alto, cercano a un 54% en peso (**Tabla N°1.**). En cuanto a la composición bromatológica básica, es difícil fijarla con precisión ya que existen múltiples factores que afectan, por ejemplo: el grado de descremado de la leche, la acidez original y la maduración de esta, la variación estacional de sus componentes caseína y grasa (Alais 1985; Van Hekken y Farkye, 2003; Garcia 2006).

Tabla N°1. Composición proximal y análisis fisicoquímico del queso fresco
COMPOSICIÓN Y ANALISIS

FÍSICOQUÍMICOS	(%)
Grasa	24,08
Proteína	18,82
Humedad	53,2
Ceniza	3,1
Acidez	0,65
pH	6,6

(Alais 1985; Van Hekken & Farkye, 2003; Garcia 2006).

1.2.2.-Bacterias Patógenas en el Queso Fresco

Las condiciones de refrigeración, del queso fresco son muy importante. Debe mantenerse de forma constante la cadena del frío, puesto que rupturas de la misma inducirán a la multiplicación de bacterias de riesgo. Como son las Brucella y Mycobacterium, propios de la materia prima, es decir, de la leche cruda si los animales están enfermos o son portadores. Son los responsables de las fiebres de malta y de la tuberculosis, respectivamente. Clostridium botulinum. Propia de las superficies, así como de los suelos, polvo e incluso algunas materias fecales contaminadas (I.C.M.S.F. 1998).

Salmonella. Microorganismo de origen fecal procedente de animales o de personas portadoras. Staphylococcus aureus. De origen propio de la piel de animales y personas, pero también abundante en agua y algunas superficies

contaminadas con materiales o restos animales contaminados. *Listeria monocytogenes*. Microorganismo que podemos encontrar en cualquier parte, aunque sus condiciones más favorables de crecimiento son productos anaerobios y refrigerados. En ellos su velocidad de crecimiento puede ser especialmente alta. *Escherichia coli*. Al igual que *Salmonella*, es un contaminante fecal (I.C.M.S.F. 1998).

Salmonella spp.- La *salmonella* es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Su tamaño oscila de 0,3 a 1 μm x 1,0 a 6,0 μm . Son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *S. gallinarum* y *S. pullorum* (Linder 1995).

En el ámbito mundial, está asociada con mucha frecuencia a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos (Mead *et al.* 1999).

Clasificación. - En la actualidad el género *Salmonella* consta de sólo dos especies, *S. entérica* y *S. bongori*; la primera está dividida a su vez en seis subespecies: *S. entérica subespecie entérica*, *S. entérica subespecie salamae*, *S. entérica subespecie arizonae*, *S. entérica subespecie diarizonae*, *S. entérica subespecie 188 houtebaey* *S. entérica subespecie indica* (Popoff y Le Minor 1992). *Salmonella spp* es el grupo más complejo de todas las entero bacterias con más de dos mil cuatrocientos serotipos descritos en el esquema Kauffman White, determinados por la composición de los antígenos somáticos (O), flagelares (H), o de superficie Vi(k). *S. entérica subespecie entérica* comprende el 99% de los serotipos aislados de muestras clínicas (Popoff y Le Minor 1992).

Patogenia. - La dosis infectante generalmente es muy alta, normalmente superior a 10^5 ufc, dependiendo de las características del germen y del huésped (Pons 1976; Milgrom y Flanagan 1987). Las salmonelas penetran por vía oral al ingerir alimentos contaminados. Se multiplican ampliamente en las partes altas del intestino delgado, invadiendo posteriormente intestino grueso, ciego y apéndice, sobre todo en los recodos del colon, donde proliferan abundantemente (Pons 1976).

1.3.- MORTIÑO

El mortiño es muy común en los Andes y crece de forma silvestre en las montañas, pero no hay cultivos comerciales de este. El fruto que se vende en los mercados locales o que se utiliza en reposterías se obtiene de plantas silvestres. En Ecuador es conocido más comúnmente por ser usado en noviembre en la preparación de la colada morada, bebida típica del día de los difuntos. La fruta es de fácil uso, ya que no necesita ser pelada, y puede ser consumida también en fresco o preparada dentro de diversos platos (Asturizaga *et al.* 2006).

El mortiño pertenece al Reino Plantae, Filo Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Ericales, Familia Ericaceae, Nombre Científico *Vaccinium floribundum*, Sinonimia *Vaccinium mortinia* (Freire 2004). Es un arbusto ramificado cuya altura llega hasta 2,5 m, de hojas muy pequeñas, flores de menos de 1 cm. El fruto es una baya esférica de 5 a 8 mm de diámetro de color azul y azul oscuro, liso, a veces glauca (Jorgensen *et al.* 1995)

1.3.1.-Propiedades Nutricionales del Mortiño.

La nutricionista Robalino (2010), directora del Centro de Asesoría Nutricional, indicó que el mortiño tiene un alto contenido de fósforo, fibra, calcio y vitaminas B1 y C (**tabla N°2**). La especialista explicó que el fósforo es un mineral que ayuda a mejorar la memoria. Además, sirve para la formación y la fijación de calcio de los huesos.

Ciertos autores consideran a estos ingredientes como “nutracéuticos”, término que está acuñado en simonía de los “ingredientes”, sin embargo, organismos de control como el FDA de los Estados Unidos considera o define a estas sustancias como “suplementos dietéticos” no obstante estos ingredientes pueden ser comercializados solos o incorporados. Dichos principios son sustancias que han demostrado una acción farmacológica o que contribuyen a la salud y el buen funcionamiento del organismo (Santamarín 2012).

Tabla Nº 2. Propiedades nutricionales del mortiño

Nutrientes	Cantidad
Energía	75
Proteína (g)	0.80
Grasa total (g)	0.80
Glúcido	18.10
Fibra (g)	2.90
Calcio (mg)	26
Hierro (mg)	0.90
Vitamina A (mg)	1.67
Vitamina C (mg)	11

Robalino (2010)

En el mercado ecuatoriano podemos encontrar una amplia gama de productos como el yogurt con fibra, aceite con β -carotenos etc. Además, algunos de estos compuestos químicos se los ha utilizado como aditivos alimentarios y colorantes ya que son sustancias coloreadas por que contienen antocianócidos (Santamarín 2012).

1.4.- COMPUESTOS FENOLICOS

El término “compuestos fenólicos” abarca a todas aquellas sustancias que tienen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, incorporado a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles. Los compuestos fenólicos son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstos ya que se encuentran presentes en el mundo vegetal (González 1993).

Los compuestos fenólicos son los compuestos bioactivos antioxidantes más exuberantes en la dieta alimentaria. Poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados a partir de los cuales realizan su acción antioxidante. A la vez son efectivos donantes de hidrógenos, principalmente los flavonoides.

Los grupos fenólicos más abundantes son del tipo catequinas, antocianinas y taninos (Sotelo *et al.* 2015).

Además, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales. Desde el punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Sotelo *et al.* 2015).

1.4.1.-Compuestos Activos del Mortiño.

El género *Vaccinium* contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos entre ellos se puede mencionar los flavonoides, taninos y antocianinas además de poseer un alto contenido de vitaminas (Santamaría *et al.*, 2012). Lo cual contribuye en su alta capacidad antioxidante, poseyendo un alto contenido de compuestos fenólicos, es así como se ha llegado a clasificarla por subproductos llegando a tener varias clases de polifenoles: ácidos fenólicos, glucósidos de flavonoides, antocianinas y proantocianidinas (Raghavan y Richards 2007).

Dentro de la fotoquímica se ha demostrado que las bayas poseen un alto contenido de polifenoles de gran importancia gracias a sus beneficios para la salud humana (Montoya y Ospina *et al.* 2009). Se ha identificado en frutos rojos una gran capacidad antioxidante y presencia de antocianinas con potencial a la prevención de daño oxidativo (Prencipe *et al.* 2014). Dichos compuestos fenólicos, como los son los polifenoles, flavonoides y antocianinas presentan actividad quimiopreventiva y antimicrobiano como una alternativa al uso de fármacos medicamento para tratar de reducir el riesgo de cáncer como también para reducir microorganismos patógenos (Johnson 2005).

Entre las bayas con estos beneficios se encuentra la especie *Vaccinium floribundum kunth*, común mente conocido como mortiño, nativo de Sudamérica como un arbusto silvestre, cuyo fruto es de gran importancia dentro de la

Serranía Ecuatoriana por su valor nutricional. Es consumido como una fruta fresca o ya sea en productos procesados, además es aprovechado por comunidades locales en tratamientos naturales antiinflamatorios y antimicrobianos (Scheckinger *et al.* 2010)

1.5.- ENCAPSULACIÓN DE LOS ALIMENTOS

La encapsulación es la tecnología mediante el cual se logra limitar compuestos activos dentro de una matriz polimérica. Esta técnica crea un microambiente en la cápsula capaz de examinar las interacciones entre el interior y el exterior (Borgogna,*et al.* 2010). La encapsulación se la puede definir según Boh *et al.* (2008); Gouin (2004), como una de las técnicas más usadas en la mejora de alimentos funcionales y nutraceúticos. Algunos de los propósitos de aplicar una técnica de encapsulación en la industria de alimentos son (Champagne *et al.* 2007; Onwulata 2012).

- Preservar el compuesto activo de la degradación producida por el ambiente (calor, aire, luz, humedad, etc.) □ Disimular sabores desagradables.
- Separar componentes con el fin de que éstos no reaccionen.

1.6.- RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES EN ALIMENTOS

Un recubrimiento comestible es una capa fina de material comestible, dispuesta sobre el alimento a modo de recubrimiento, formada por sustancias poliméricas naturales, de composición heterogénea, estas sustancias aportan algunos nutrientes tales como proteínas, almidones hidrolizados, gomas, pectinas, entre otros. El recubrimiento forma parte integral del alimento y es consumido como tal, se aplica por atomización, espuma, brocha o inmersión (Márquez *et al.* 2017).

Teniendo en cuenta que los recubrimientos comestibles van a ser ingeridos por el consumidor junto a los alimentos, los materiales que pueden ser utilizados en su formación deben reunir las siguientes características: a) compuestos considerados GRAS (Generalmente Reconocidos como Seguros); b) estables en

condiciones de alta humedad; c) buena barrera al oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua, aunque deben permitir un mínimo de 1-3% de oxígeno entorno al producto para evitar los efectos negativos de la anaerobiosis; d) buenas propiedades mecánicas y de adhesión al alimento cortado; e) sensorialmente aceptables, es decir, que no transfieran sabores y olores extraños, que mejoren la resistencia mecánica del producto y que sean translucidos para no modificar el color original de los alimentos; f) estables desde un punto de vista físicoquímico y microbiológico; g) coste económico razonable (Olivas y Barbosa 2005; Dahall 2013).

1.6.1.-Beneficios de los Recubrimientos Comestibles.

El uso de recubrimientos comestibles se considera una tecnología respetuosa con el medio ambiente por varios aspectos fundamentales. En primer lugar, reduce la utilización del envasado tradicional con films plásticos. Además, los recubrimientos comestibles son biopolímeros naturales y biodegradables, es decir, que pueden ser obtenidos a partir de recursos naturales o extraídos a partir de los subproductos de las industrias agroalimentarias. Además, los RC y las PC pueden ser envases activos cuando se incorpora en su matriz polimérica aditivos naturales con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (antipardieamiento) (Valencia *et al.* 2011).

Los componentes ampliamente investigados para la formación de recubrimientos comestibles son almidón y sus derivados, quitosano, alginatos, carragenina, celulosa y sus derivados, pectinas, y varias gomas (Pavón y Valencia 2016; Azarakhsh *et al.* 2014; Lacroix y Vu 2014; Vu *et al.* 2011; Simões *et al.* 2009; Eissa 2007; Rojas *et al.* 2007).

Los lípidos, ceras y resinas son componentes reconocidos por sus propiedades protectoras frente la deshidratación de los productos hortofrutícolas, así como por proporcionar brillo, mejorar la apariencia y reducir la senescencia (Morillon *et al.* 2002). Sin embargo, al ser compuestos hidrofóbicos, no se adhieren bien a la superficie de los productos. Además, las formulaciones lipídicas forman láminas gruesas y quebradizas, por lo que es recomendable emplearlas con la

incorporación de componentes proteicos o polisacáridos con el objetivo de generar interacciones sinérgicas que den como resultado recubrimiento comestible compuestos de mejores características (Dea *et al.* 2012).

1.6.2.-Polisacáridos Formadores de Recubrimientos Comestibles.

Quitosano. - El quitosano es grandemente utilizado como RC, por ser un polisacárido de alto peso molecular, normalmente obtenido por acetilación alcalina de la quitina derivada de crustáceos, este tipo de recubrimiento es práctico en mejorar la calidad de frutas, productos lácteos y alargar la vida útil ya que presenta una alta permeabilidad selectiva frente a los gases, una ligera resistencia al vapor de agua, además de tener propiedades antifúngicas. (Quintero *et al.* 2010).

Almidón de Yuca. - Uno de los materiales crudo generalmente más usado por la agricultura es el almidón ya que es económico, fácil de encontrar y fácil de manipular. Los recubrimientos elaborados con este material llamado amilosa en los últimos años se ha extendido por presentar baja permeabilidad al oxígeno y es el responsable de la formación de 17 recubrimiento en el almidón y su uso (Rojas *et al.* 2009).

Gelatina. - Según Saxena *et al.* (2009), la gelatina es una proteína fibrosa que tiene diferentes aplicaciones en la industria farmacéutica y alimenticia especialmente, debido a que posee propiedades químicas y físicas; tiene un alto potencial en formar geles térmicamente reversibles Simón *et al.* (2002) se puede ser utilizar como agente emulsificante, estabilizante, o para mejorar características como textura y capacidad de retención de agua.

1.7.-PROBLEMA

El amplio mercado de productos lácteos está en crecimiento por su alto aporte de nutrientes, los cuales son necesarios para la alimentación humana. Estos nutrimentos suelen alterarse por contaminantes que se encuentran en nuestro entorno, desde el momento que se inicia el proceso (ordeño) y elaboración se

observa que las condiciones de infraestructura y manipulación no son totalmente adecuadas afectando la salud del consumidor y destruyendo la parte nutricional del mismo (Dávila 2006).

En la Provincia de Manabí la elaboración del queso se debe al gran porcentaje de leche que se produce, el queso artesanal o queso criollo tiene un alto consumo a nivel Provincial, según datos de Rubén Párraga presidente de la producción de ganaderos de Manabí (Corpogam), en la Provincia de Manabí se produce cerca de 901.766 litros de los cuales el 60% se destina a la producción de queso, el porcentaje restante a empresas para su procesamiento y otras partes se venden a público que consume este alimento (Darío 2017).

El problema más común de la contaminación son las bacterias patógenas en donde se observa que en la Provincia de Manabí presenta 28 casos de contaminación de *salmonella spp* en quesos frescos, las condiciones antes mencionadas permiten el desarrollo de muchos microorganismos propios y ajenos a la leche, también provenientes de la contaminación ambiental (García y Requelme 2011).

Lo cual, motiva a analizar el uso de métodos que ayuden a la inhibición del crecimiento microbiano en el queso fresco, por lo que se propone aplicar compuestos fenólicos del mortiño con y sin encapsular que reduzca los microorganismos presentes con la *salmonella spp* en el queso fresco sin afectar sus características físico químicas (García & Requelme 2011).

1.8.- JUSTIFICACIÓN

Si bien son incuestionables las cualidades nutritivas que poseen la leche y los productos lácteos, no es menos cierto que, desde su síntesis en la glándula mamaria hasta su llegada al consumidor, estas cualidades están sometidas a un gran número de riesgos que hacen peligrar la composición original. Los factores de calidad e inocuidad de la leche y sus productos en la actualidad están asociados con la contaminación y multiplicación de microorganismos patógenos,

alteración físico-química de sus componentes, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas.

Todos éstos, ya sea en forma aislada o en conjunto, conspiran en forma negativa sobre la calidad higiénica y nutricional del producto y, consecuentemente, actúan en contra de la salud pública y económica del país. Por esta razón es necesario operar nuevas tecnologías alimentarias, para que complementen los métodos de conservación como son los recubrimientos comestibles inhibiendo el crecimiento de los microorganismos patógenos que afectan a los alimentos.

En esta investigación se planteó una formulación del recubrimiento comestible aplicando compuestos fenólicos del mortiño (*vaccinium floribundum kunth*), con y sin encapsular el cual tiene propiedades antimicrobianas y antioxidante ayudando a controlar microorganismos patógenos presentes en los alimentos como es la salmonella.

Es necesario realizar esta investigación desde el punto de vista científico, ajustándose a los principios y métodos de la ciencia ya que se aplica un ingrediente bioactivo mediante el empleo de nanotecnología como la encapsulación de compuestos fenólicos favoreciendo su protección frente a situaciones extremas (calor, humedad) que comprometen su estabilidad y facilita su liberación controlada.

Son indiscutibles las propiedades que tiene el mortiño como medicina ya que al ser consumido crudo o cocido ayuda a restablecer los niveles normales de azúcar en la sangre y trata problemas de hipoglicemia, gripe y diabetes. También sirve para problemas digestivos, vasculares, por esta razón se ha tomado en cuenta al mortiño por todas las propiedades que presenta.

Enmarcado el proyecto en la línea de investigación de la carrera de Ingeniería Agroindustrial en Desarrollo e Innovación de Procesos y Productos provenientes del sector agropecuario identificado en las cadenas productivas.

1.9.-HIPÓTESIS

Los compuestos fenólicos del mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) aplicados al recubrimiento comestible lograrán inhibir el crecimiento de la *salmonella spp* en 8 días y mantendrán las características físico químicas en el queso fresco.

1.10.- OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*vaccinium floribundum kunth*) en *salmonella spp* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación del queso fresco.

Objetivos Específicos

- Cuantificar los compuestos fenólicos del mortiño (*vaccinium floribundum kunth*).
- Determinar la efectividad de los compuestos fenólicos del mortiño con y sin encapsulación en diferentes concentraciones de forma in vitro.
- Seleccionar el tratamiento con mayor halo de inhibición y agregar a los recubrimientos comestibles para quesos frescos.
- Realizar análisis físico químico y microbiológico durante 8 días a los quesos frescos.

CAPÍTULO II

2.1.-METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de análisis de alimentos, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicado en la ciudad de Manta, Av. Circunvalación - Vía a San Mateo (Latitud 0°57' S y de Longitud 80°42 W y Altitud aproximada de 20 m.s.n.m) en el periodo 2018-2019.

2.1.1.- FACTOR DE ESTUDIO

Para la investigación del estudio se utilizaron dos diseños completamente al azar con un arreglo de diseño Bifactorial.

2.1.2.-Diseño Experimental N. °1

Variables Independientes.

A: Concentración Compuesto Fenólicos del Mortiño.

- A1 – 0,4%
- A2 – 0,6%
- A3 – 0,8%
- A4 –1%

B: Encapsulación de los Compuestos Fenólicos del Mortiño.

- B1 - Si
- B2 - No

Variables Dependiente

- Poder inhibitorio de los compuestos fenólicos contra *salmonella spp.*
- Viabilidad de la encapsulación de los compuestos fenólicos.

2.1.3.- Diseño Experimental N. °2

Variables Independientes

C: Mezclas de los Recubrimientos Comestibles.

- C1- 1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico.
- C2- 2% Gelatina,1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico

Variable Dependiente

- pH
- Acidez por titulación
- Pérdida de peso
- Textura instrumental
- Color
- *Salmonella spp*

2.2.- DISEÑO EXPERIMENTAL

2.2.1.-Tipo de Diseño.

En esta investigación se aplicó dos diseños completamente al azar con un arreglo de diseño Bifactorial, con tres replicas por cada tratamiento, en el primer diseño se determinó el poder inhibitorio de los compuestos fenólicos de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) encapsulados y libres frente a *salmonella spp*, escogiendo el mejor tratamiento y en el segundo diseño se procedió a elaborar el recubrimiento comestible con quitosano, almidón de yuca y gelatina, sumergiendo los quesos frescos ya inoculados con *salmonella spp*, para determinar los cambios de las propiedades físico químicas y microbiológicas (*salmonella spp*) durante 8 días.

2.2.2.-Análisis Estadístico.

Se realizó dos análisis de varianza ANOVA y la prueba mínima de comparación de acuerdo a Tukey al 5%. Todos los datos fueron analizados por triplicado y los resultados fueron procesados por el programa Infostat 2016 como se observa en las siguientes tablas.

Tabla N°3. Análisis de varianza (ANOVA) del diseño experimental N°1

Fuente de variación		G.L
Total	(t*r-1)	23
Tratamientos	(t-1)	7
Repetición	r-1	2
Factor A	FA-1	3
Factor B	FB-1	1
Internación (AxB)	(FAxFB)	1
Error experimental	(t-1) (r-1)	14

Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

Tabla N° 4. Análisis de varianza (ANOVA) del diseño experimental N°2

Fuente de variación		G. L
Total	(t*r-1)	5
Tratamientos	(t-1)	1
Repetición	r-1	2
Factor A	FA-1	1
Control	C-1	2
Error experimental	(t-1) (r-1)	2

Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

$$\text{Coeficiente de variación (\%)} CV = \frac{\overline{\text{CM ERROR}_x}}{\sqrt{\text{CM ERROR}_x}} * 100$$

2.3.- TRATAMIENTOS

En la **tabla N°5.** Se presenta los tratamientos del primer diseño experimental, resultado de las combinaciones de los factores de estudio tales como; A:

Concentración compuesto fenólicos y B: Encapsulación de compuestos fenólicos.

Tabla Nº 5. Tratamientos de estudio del diseño experimental 1

N	Codificación	Encapsulación de compuestos fenólicos	Concentración de compuestos fenólicos del mortño
1	A1B1	Si	0,4%
2	A2B1	Si	0,6%
3	A3B1	Si	0,8%
4	A4B1	Si	1%
5	A1B2	No	0,4%
6	A2B2	No	0,6%
7	A3B2	No	0,8%
8	A4B2	No	1%

Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

En la **tabla Nº6.** Se muestran los tratamientos del segundo diseño experimental, combinando los factores de estudio tales como: A: concentración de compuestos fenólicos del mortño, B: encapsulación de compuestos fenólicos y C: recubrimiento comestible.

Tabla Nº 6. Tratamientos de estudio del diseño experimental 2.

N	Codificación	Concentración de compuestos fenólicos del mortño	Encapsulación	Recubrimiento comestible
1	A2B2C1	0,6 %	NO	C1: 1.5% Gelatina,2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico
2	A2B2C2	0,6 %	NO	C2: 2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.
3	Control	NO	NO	NO
4	Control Quitosano	NO	NO	Gelatina,2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2%

Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

2.4.-PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El mortiño se obtuvo de la Provincia de Pichincha Cantón Quito El Pedregal, los compuestos fenólicos del mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) fueron extraídos por el método Folin-Ciocalteu propuesto por Mahmood *et al.* (2011) con y sin encapsulación en diferentes concentraciones y aplicados en discos, para evaluar su poder inhibitorio frente a la *salmonella spp* después de 24 horas.

Considerando el tratamiento con mayor significancia en el primer diseño, se agregó a los recubrimientos conformado por quitosano, gelatina y almidón de yuca, el cual fue aplicado en queso fresco con una presentación de (5x5 cm) 100g de peso, posteriormente fueron empacados en fundas ziploc y almacenados a $\pm 4^{\circ}\text{C}$ por 8 días. A los cuales se les evaluó el efecto inhibitorio en *salmonella spp* y análisis físicos químicos en intervalos de 2 días.

2.5- MÉTODOS DE ANÁLISIS

2.5.1.-Extracción de los Compuestos Fenólicos del Mortiño.

Se realizó de acuerdo el método propuesto por Mahmood *et al.* (2011). Se lavó el mortiño posteriormente se llevó a la estufa (Precisión, modelo 45EG, Estados Unidos) a 40°C durante 2 días (humedad constante de aproximadamente el 3%) El ácido gálico se utilizó como un compuesto estándar y los compuestos fenólicos se expresaron como mg.

2.5.2.-Cuantificación de Compuestos Fenólicos Totales del Mortiño.

Se realizó de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu propuesto por Mahmood *et al.* (2011). Se tomó 0.1 g de mortiño en polvo previamente aislada la cual se mezcló con 5 mL de etanol (95%) y se aforo a 100 mL con agua destilada. obteniendo una solución stock con una concentración de 1 mg/mL de muestra. Los resultados obtenidos se expresaron en mgGAE (equivalentes de ácido gálico) /100g de mortiño (b.s).

2.5.3.-Dilución de Compuestos Fenólicos.

La dilución de los compuestos fenólicos consistió en diluir 0,4ml, 0,6ml,0,8m y 1ml de compuestos fenólicos en 100mlde agua destilada método propuesto por (Santacruz y Castro 2018).

2.5.4.-Encapsulación de Compuestos Fenólicos del Mortiño.

La encapsulación se realizó en un derivado experimental, compuesto por dos recipientes cilíndricos conectados con una válvula. El método es una combinación de gelificación iónica y emulsificación (Vemmer *et al.* 2013).

2.5.5.-Determinación de la Eficiencia de Encapsulación.

La eficiencia de encapsulación se calculó de acuerdo con Zou *et al.* (2011); Cai *et al.* (2014) centrifugando a 6000 rpm (Hermle Labortechnik GmbH, Germany) La cantidad de compuestos fenólicos libres se determinaron a partir de una curva estándar y la eficiencia de carga se calculó empleando la Ecuación 1.

$$\%EE = \frac{CFT - CFL}{CFT} \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

Dónde: CFT = Compuestos fenólicos totales. CFL = Compuestos fenólicos libres.

2.5.6.-Actividad Antibacteriana de Compuestos Fenólicos del Mortiño en *Salmonella spp* (método de difusión de discos en agar).

Se determinó de acuerdo con CLSI (2009) y se llevó a cabo en la cepa de *Salmonella spp*.

Las zonas de inhibición del crecimiento de *salmonella spp* se midieron después de 24 horas por triplicado. La migración de compuestos fenólicos se analizó desde entorno a la cápsula tomando una muestra de la zona de inhibición y utilizando como inóculo en placa de agar MRS. El crecimiento microbiano se

verificará con una incubación a 37 °C durante 2 días propuesto por Santacruz y Castro (2018).

2.5.7.-Inducción del Queso Fresco en *Salmonella spp.*

Las muestras de queso (5x5 cm) fueron sumergidas por 10 segundos en una solución stock que contenía 500ml de suero fisiológico y 1ml de *salmonella spp* dejándolos reposar 10 minutos, este procedimiento fue realizado por duplicado. Obteniendo una muestra totalmente contaminada.

2.6.-APLICACIÓN DEL RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

2.6.1.-Elaboración del Recubrimiento.

La elaboración del recubrimiento comestible consistió en colocar el 1 % y 2% de quitosano y compuesto fenólico del mortño en 480ml de agua destilada en agitación constante por 15 minutos. Transcurrido ese tiempo se procedió a añadir 1,5% gelatina y el 2% almidón de yuca manteniendo en agitación por 30 minutos hasta disolver todos los componentes (Pérez y Báez 2003).

2.6.2.-Aplicación del recubrimiento por método de inmersión en los quesos Frescos.

Los quesos se sumergieron por 5 segundos en la solución tratando de que esta se disperse por todo el queso, dejándolo reposar por 10 minutos a temperatura ambiente, luego se volvió a sumergir para su recubrimiento total y se dejó reposar el mismo tiempo propuesto. (Pérez y Báez 2003).

2.7.-Análisis Físico–Químico

2.7.1.-Determinación del pH

Para el análisis de pH se utilizó como referencia la norma **INEN 389:86**.

2.7.2.-Determinación de Acidez por Titulación

Para la determinación de acidez se tomó como referencia la siguiente norma según la norma **INEN 381:86**

$$\text{Acidez} = \frac{\text{ml}^* \text{ N } * \text{ aq. ac.}}{\text{ml Muestra}} \times 100$$

2.7.3.-Pérdida de Peso

La pérdida de peso se la realizó por diferencia de formula.

$\text{PP} = P1 - P2 = \text{g}$

2.7.4.-Determinación de Textura Instrumental.

Para el Análisis de Perfil de Textura (TPA), se aplicó un texturometro SHIMADZU Compact tablectop. Testing Machine EZTest, modelo EZ-LX/EZ-SX los parámetros instrumentales para la textura (dureza y adhesividad) se definieron según Valencia (2007).

2.7.5.-Determinación de Color.

La determinación de color de los quesos se realizó con un colorímetro Chroma Meter modelo CR-400/410, el iluminante D65 y un ángulo de observación de 10°. Para cada muestra se obtuvieron las variables L*, a* y b*, del sistema de color de espacio polar CIE. El parámetro L* indica variación en la luminosidad (variando desde 0% para negro y 100 % para blanco), a* indica del mismo modo variación entre el verde (-a) y rojo (+a), b* señala variación entre el azul (-b) y el amarillo (+b). Se evaluó por triplicado aleatorio las muestras de quesos (Pinho *et al.* 2004)

2.8.-Análisis Microbiológicos

2.8.1.-Análisis de *Salmonella spp*

Para la realización del análisis microbiológico se tomó como referencia el método y ensayo normalizado como Salmonella: **(ISO 6579, 2002)**.

Fórmula para el conteo de colonias

$$UFC = \frac{N. Col \times F. D}{M}$$

CAPÍTULO III

3.1- RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.2.-CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DEL MORTIÑO.

Dentro de la investigación el primer procedimiento a realizar fue la extracción de compuestos fenólicos de mortiño con etanol. Se procedió a medir la absorbancia teniendo como resultado de 0,042 mg/ml estando dentro de los parámetros establecidos de la curva de calibración del ácido gálico. Obteniendo un concentrado de compuesto fenólicos de 38,35 mgEGA/100g.

Tabla Nº 7. Valores para la curva de calibración.

Absorbancia	Concentración ácido gálico mg/ml
0	0
0,018	0,005
0,068	0,01
0,126	0,02

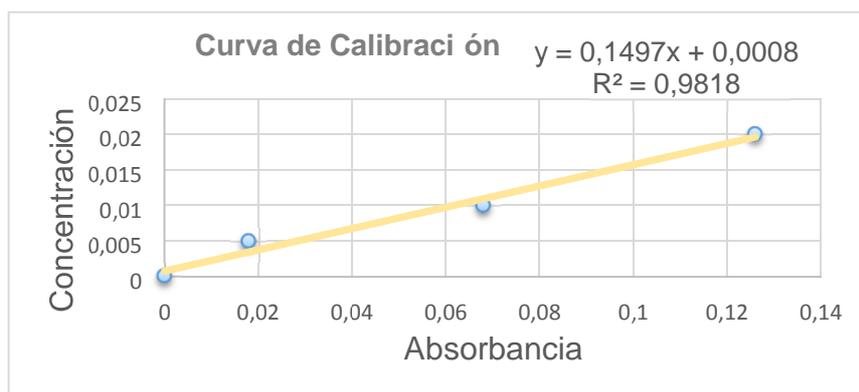


Gráfico Nº 1. Curva de calibración del ácido gálico

Según estudios realizados por otros autores la uva blanca (5,3 mg EGA/g muestras y en las semillas de la uva blanca un 19,2 mg EGA/g muestras); en la piel de la uva morada un 2,1 mg EGA/g muestras (Morales, 2005), en la cascara

de ajo 2,97 mg EGA/g muestras (Kallel y Driss 2014), la cascarilla del café con 6,63 mg EGA/g muestras, y de la naranja con 27,8 mg EGA/g de muestra (Franco y Suárez 2014), la moringa de 18,86 mg EGA/ g muestra(Guevara & Rovira 2012) y también de algunas plantas como la *Clusia multiflora* con un 9,47 mg EGA/g muestras,*Vismia Laevis* con un 5,82 mg EGA/g muestras (Tovar 2013).

La extracción de compuestos fenólicos de mortiño se realizó con un solvente capaz de extraer estos tipos de compuestos, ya que el agua solo es capaz de extraer sustancias con las cuales pueden hacer puentes de hidrógenos y los éteres solo extraen sustancias apolares puede extraer sustancias parcialmente hidrófobas que pueden tener actividad bactericida (Bernard *et al.* 1996). De acuerdo a los antecedentes presentados los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales que actúan como agentes protectores frente a patógenos (Cai *et al* 2006).

3.3.-EFECTIVIDAD DE ENCAPSULACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL MORTIÑO.

Los tratamientos encapsulados con diferentes concentraciones de compuestos fenólicos de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) presentaron una efectividad de liberación del 99,9%.

El porcentaje de liberación de los compuestos fenólicos en alcohol etílico coincide con los autores Sánchez *et al.* (2018) que realizó la eficiencia de encapsulación con compuestos fenólicos provenientes de cascarilla de arroz que fue de 91% Kuck y Zapata (2016) encapsularon extractos fenólicos provenientes de piel de uva (*Vitis labrusca var. Bordo*) utilizando goma arábica y una temperatura de entrada de 140°C, garantizando así una retención de fenoles (81.4 a 95.3 %).

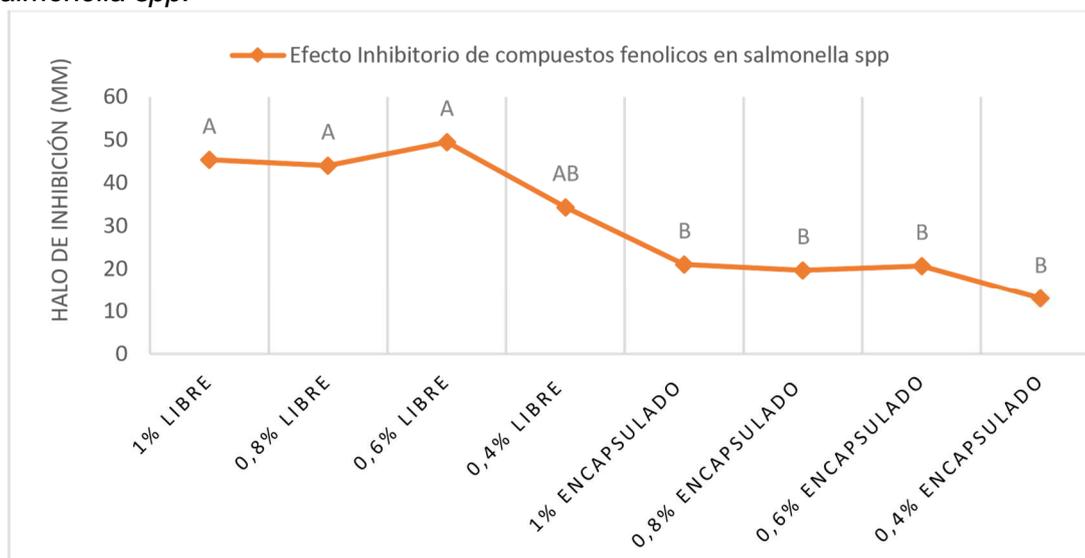
El alto porcentaje de liberación de compuestos fenólicos es debido a que el material encapsulante posee gran afinidad con el alcohol etílico. Esto genera migración rápida del extracto desde el interior de las capsula hacia el medio acuoso. Sánchez *et al.* (2018)

3.4.-DETERMINACIÓN DEL PODER INHIBITORIO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL MORTIÑO LIBRES Y ENCAPSULADOS FRENTE A LA BACTERIA *SALMONELLA SPP*

En el **Gráfico N°2.** muestran los resultados estadísticos obtenidos en cuanto al efecto inhibitorio de los compuestos fenólicos del mortino libres y encapsulados, frente a *salmonella spp* donde se puede observar que existe diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos libres y encapsulados siendo los tratamientos libres con mayor resultado en el efecto inhibitorio de las diferentes concentraciones.

Dando como mejor tratamiento el A2B2 (sin encapsulación del compuesto fenólico al 0,6% de concentración) del cual presenta un mayor halo de inhibición de 49,67 mm; siguiéndolos A4B2 (sin encapsulación del compuesto fenólico al 1% de concentración) 45,33 mm; A3B2 (sin encapsulación del compuesto fenólico al 0,8% de concentración) 44mm y A1B2 (sin encapsulación del compuesto fenólico al 0,4% de concentración) 34,33 mm respectivamente, se puede observar en términos generales que a medida que el compuesto fenólico adquiere diferentes diluciones disminuye la efectividad, por lo tanto existe un efecto en la concentración. En cuanto al encapsulado el tratamiento A4B1 (encapsulación del compuesto fenólico al 1% de concentración) fue el que presento mayor halo de inhibición 21 mm siendo el A1B1 (encapsulación del compuesto fenólico al 0,4% de concentración) con el menor poder inhibitorio 13 mm.

Gráfico N° 2. Resultados generales del poder inhibitorio de las concentraciones libres y encapsuladas de compuesto fenólico de mortiño frente a *salmonella spp.*



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

Los resultados coinciden con las investigaciones de LEE *et al.* (2006); Burt (2003) en donde se estudiaron la actividad de extractos vegetales frente a cepas de *Salmonella spp* en 22 especies de hierbas medicinales, fueron probadas contra tres serotipos de *Salmonella spp* en donde nueve presentaron actividad antibacteriana contra las cepas de *Salmonella spp*, obteniendo halos de inhibición de 8 a 19 mm.

La encapsulación protegió a los componentes bioactivos de forma que estos sean biológicamente activos al momento de inhibir patógenos en beneficio del consumidor (Parra 2010).

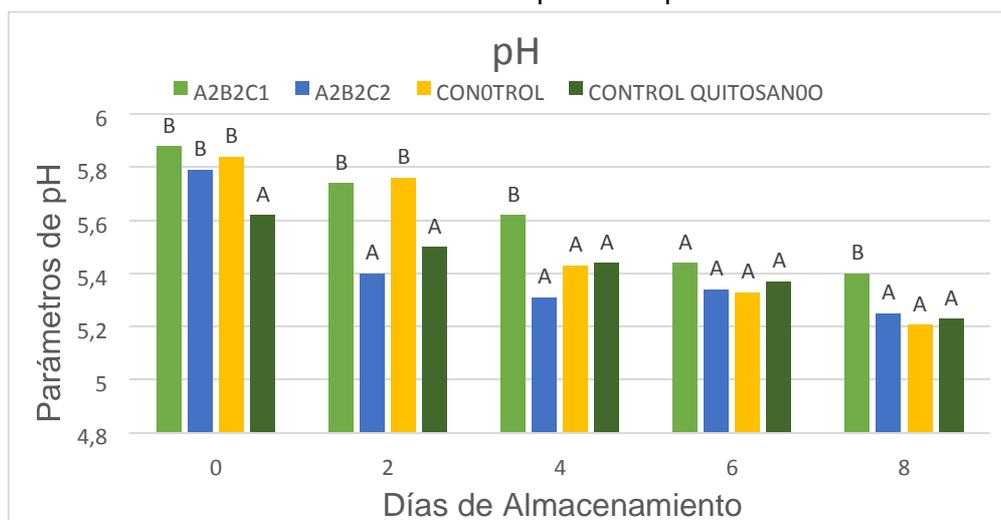
3. 5.-RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DEL QUESO FRESCO CON RECUBRIMIENTO.

3.5.1.-pH

En el **gráfico N°3.** Se observan que los valores obtenidos de pH, muestran diferencia entre tratamientos y los días de estudio presentando un descenso del pH en los tratamientos, control y control quitosano. El mayor rango de pH lo muestra el A2B2C1 (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2%

compuesto fenólico) con 5,88 en el día 0, finalizando con 5,4 en el día 8 mientras que en el rango inferior se encuentra el A2B2C2 (2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.) con 5,79 en el día 0, concluyendo con 5,25 durante los días de estudio, analizando los tratamientos control y control quitosano el que tuvo el descenso notable fue el control quitosano (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca) iniciando 5,62 y finalizando con 5,23.

Gráfico N° 3. Resultados obtenidos de pH en el queso fresco.



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

El pH encontrado en los quesos con recubrimiento estudiados es favorable debido a que se convierte en un inhibidor natural en el crecimiento microbiano, evitando que bacterias proliferen a velocidad exponencial y al mismo tiempo tampoco permanezca en un pH tan bajo que permita la penetración de levaduras estando en concordancia con estudios señalados por Fuentes (2003) quien evaluó los parámetros microbiológicos que afectan la calidad del queso y su periodo de vida útil en almacenamiento, encontrando que el pH es un parámetro determinante en la estabilidad del queso. La disminución del pH con respecto al tiempo es un factor que garantiza una ralentización del crecimiento de microorganismos patógenos (INFOAGRO 2013).

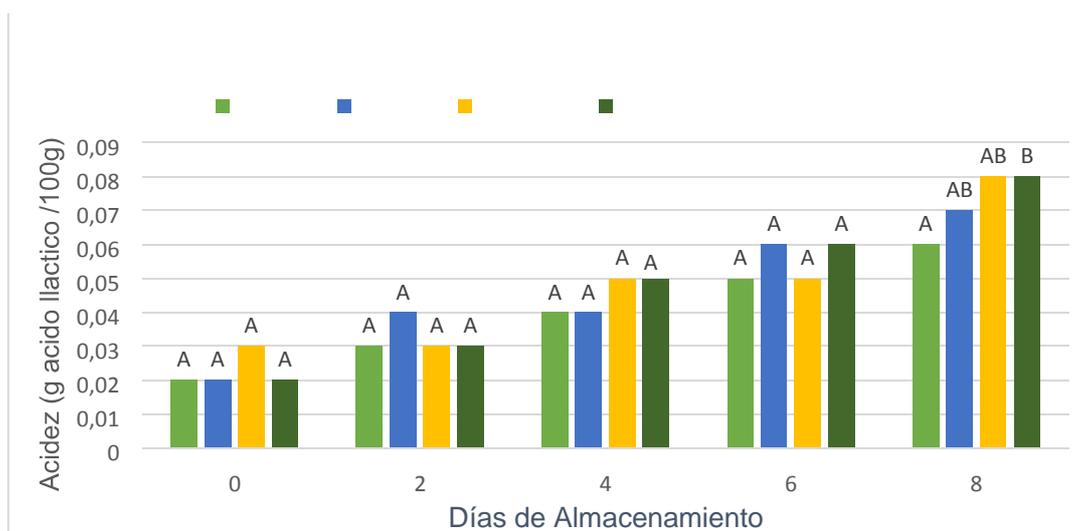
Las unidades experimentales de pH cumplen con lo referente en la norma NTE INEN (1528: 2012), y a los estudios demostrados por autores como Fuentes

(2003) y Vélez (2012) indicando que este descenso de pH es debido a la aplicación del recubrimiento comestible ya que el comportamiento del pH cambia bruscamente por los ingredientes que conforman el recubrimiento como también es una característica normal del comportamiento del queso fresco al paso del tiempo.

3.5.2.-Acidez

En el **gráfico N° 4**. Se muestran los resultados del porcentaje de acidez titulable encontrado en cada uno de las unidades experimentales mostrando diferencia mínima estadísticamente ($p < 0.05$), como se puede observar el día 0 los tratamientos A2B2C1 (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2% Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico), A2B2C2 (2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.), control quitosano (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2% Almidón de Yuca) y control (sin recubrimiento) inician con 0,02% reflejando una mínima diferencia con el tratamiento control que fue de 0,03% a partir del día 2 aumenta la acidez titulable, característica normal de los quesos fresco con recubrimiento finalizando los tratamientos con A2B2C1 0,06 ; A2B2C2 0,07, control y control quitosano 0,08%.

Gráfico N° 4. Resultados obtenidos de acidez en el queso fresco con recubrimiento



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019
comestible y compuestos fenólicos al 0,6%.

ACIDEZ

A2B2C1 A2B2C2 CONTROL CONTROL QUITOSANO

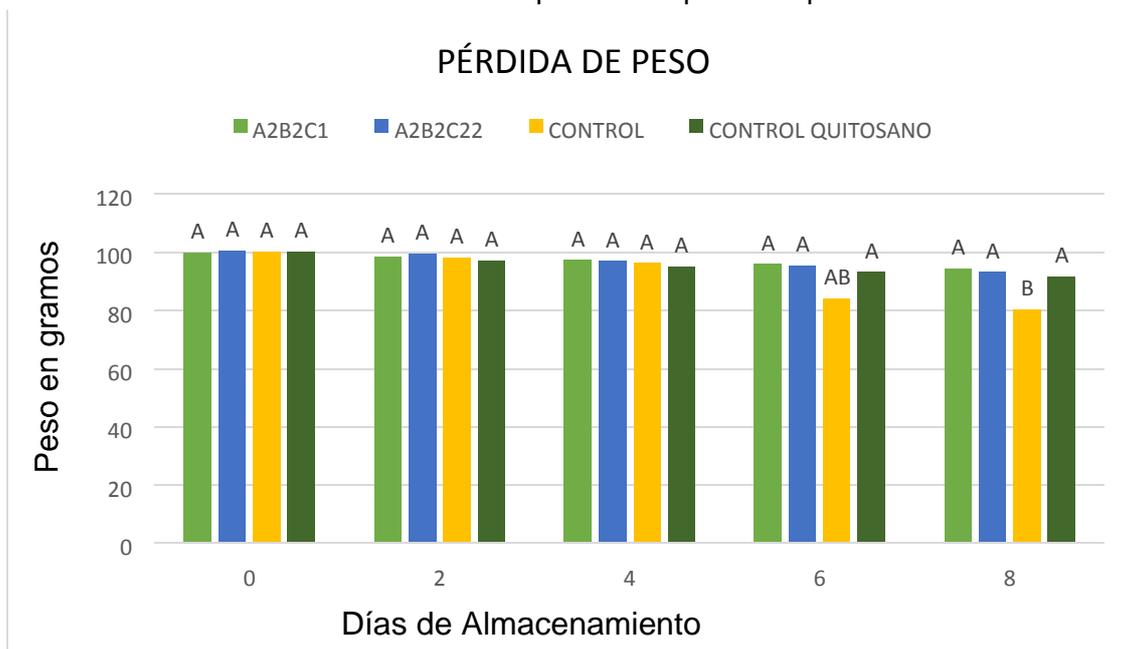
Analizando el uso del recubrimiento comestible y la formulación del mismo que posee diferentes porcentajes de quitosano y compuestos fenólicos estos comparten una aproximación estadística, por ello se puede expresar que la concentración de quitosano y compuestos fenólicos del mortño incorporadas en los quesos no influye en la acidez de forma directa.

La acidez en el queso fresco es otro factor que no solo tiene incidencia sobre el sabor, sino también directamente en los cambios que experimenta la red de proteína (cuajada) del queso, teniendo esta una relación directa en los fenómenos de la sinéresis (es decir a mayor acidez, mayor sinéresis) (Pinho *et al.* 2004). El aumento del porcentaje de acidez titulable es el resultado de la eliminación ácido láctico del queso fresco durante el almacenamiento (Robles 2015).

3.5.3.-Pérdida de Peso

En el **Gráfico N°5**. Se observa los resultados obtenidos de la reducción de peso del queso con recubrimiento comestibles con compuestos fenólicos del mortño entre tratamientos y días. La pérdida de agua de los tratamientos, se presentó en el día 4 A2B2C1 (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico) fue el que presentó el menor contenido de pérdida de agua del 5,47% en los 8 días de almacenamiento y el A2B2C2 (2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.) tuvo una pérdida de 6,8%, el control (sin recubrimiento) tuvo mayor pérdida de agua de 19,57% y control quitosano (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca) fue de 8,3%.

Gráfico N° 5. Resultados obtenidos de pérdida de peso de queso fresco.



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

Los resultados de pérdida de peso coinciden con los obtenidos de los autores Heredia *et al.* (1999) y Báez *et al.* (2002) quienes, encontraron que el uso de cubiertas cerosas reduce la pérdida de peso. Se observó una pérdida de agua típica del queso y conforme al aumento de los días esta fue desprendiendo mayor cantidad de agua, tal como han reportado algunos autores como Van Hekken *et al.* (2005); García, (2006); Castañeda (2002), haciendo una observación de la pérdida de agua en otros tipos de queso como el de Cabra, oveja Cottage Gouda. Debido a que el agua que se encuentra en la superficie del alimento se pierde con mayor facilidad comparada con el agua que se encuentra ligada al centro de la matriz. Según Watkinson *et al.* (2001).

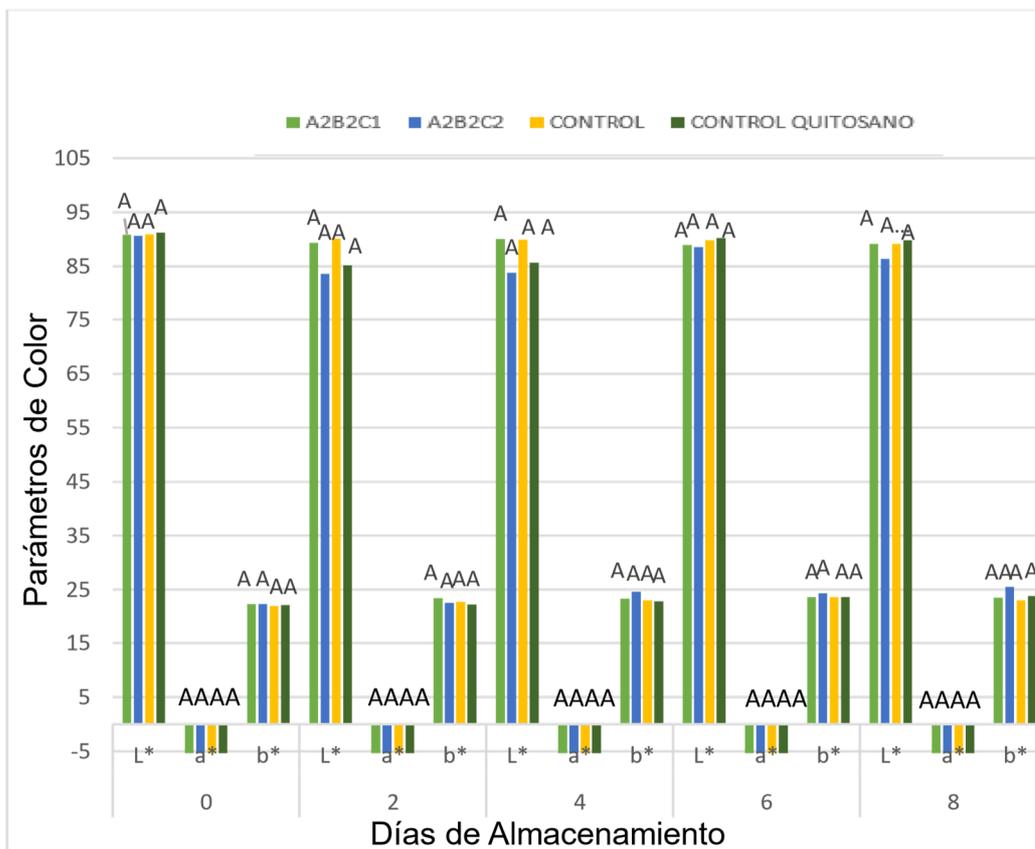
3.5.4.-Color

En el **Gráfico N°6.** Muestra que no existieron diferencias significativas entre tratamientos, para el valor L^* tiene una ligera disminución sin diferencia significativa entre tratamientos y días de estudio (0, 2, 4, 6 y 8 días). A pesar de que los recubrimientos elaborados con el compuesto fenólico del mortiño no son

totalmente transparentes no hubo diferencias, el valor L* va disminuyendo con el tiempo por lo que se vuelve menos brillante, esto debido a la pérdida de humedad ya que estas variables presentan una correlación alta positiva de 91.04%.

Los resultados obtenidos en color mostraron que no existen diferencias significativas entre tratamientos para los valores a*, pero si hubo una ligero disminución con respecto al tiempo en los días 6 que baja hasta -5,4 mientras que en el día 8 sube hasta -6 aumentando levemente entre días **Gráfico N°6**. Con respecto al valor b* que no hubo diferencia significativa entre tratamientos, pero sí hubo una leve diferencia con respecto al tiempo para el tratamiento A2B2C2 a medida que el tiempo va transcurriendo, los recubrimientos tienden a amarillarse más rápido, observando en los tratamientos una disminución de color del 4% en el queso fresco.

Gráfico N° 6. Resultados obtenidos del color del queso fresco.



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019
COLOR

El valor L^* en los recubrimientos comestibles a base de compuestos fenólicos se va reduciendo gradualmente provocando una pérdida de brillo en los días de almacenamiento, la pérdida de humedad es la principal causa de la reducción de brillo en los recubrimientos. El brillo es un fenómeno de la superficie que puede ser afectado por la desigualdad del recubrimiento, el ángulo de la luz, las propiedades intrínsecas (índice de refracción) de un material (Trezza y Krochta 2000).

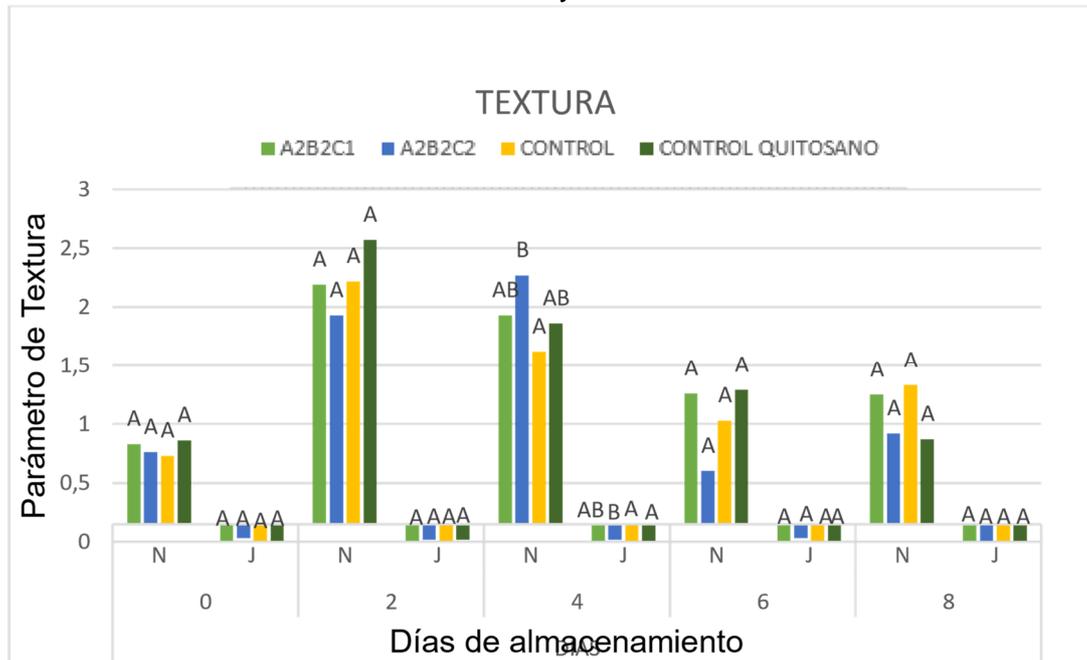
En cuanto al valor a^* los resultados no muestran diferencia significativa, pero si una ligera disminución en el día 6 mientras que el día 8 sube. Este comportamiento es similar al obtenido utilizando empaque al vacío durante el almacenamiento del queso Cheddar (Salazar 2006). Con respecto al valor b^* que no hubo diferencia significativa entre tratamientos, pero sí hubo una leve diferencia con respecto al tiempo ya que de acuerdo a la concentración de la solución de un recubrimiento será la cantidad de material absorbido para formar la capa deseada y protectora en la superficie del alimento (Hershko *et al.* 1998). Por esta razón al tener menor concentración del recubrimiento el deterioro de color es mayor. (Trezza y Krochta 2000).

3.5.5.-Textura

En el **Gráfico N°7**. Muestra que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos pero si al pasar de los días, empezando en día cero con una dureza de 0.9 N, día 2 con un promedio de 2.5 N, a partir de este día la dureza empieza a bajar día 4 un aproximado de 2.1N los días 6 y 8 no tienen una mayor discrepancia obteniendo un valor de 1.3N, sin embargo realizando una comparación entre el día 0 y día 8 la dureza tiende a incrementarse el 51,75%.

La adhesividad es la fuerza que se requiere para separar la superficie del queso de otra superficie el **Gráfico N°7**. El que indica que no existe diferencia significativa entre tratamientos en los días 0, 2, 4, 6 y 8 los tratamientos se mantuvieron en un valor de 0,01J.

Gráfico N° 7. Resultados obtenidos de los parámetros de textura del queso fresco Dureza y Adhesividad



Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

La textura del queso es uno de los atributos más importantes que determinan la identidad del producto (Buffa 2001). Dentro de la presente investigación es importante considerar este parámetro para determinar la calidad del queso. Con estos resultados se concluye que el queso fresco con recubrimiento y sin recubrimiento gana dureza existiendo dos fenómenos opuestos que controlan la firmeza del queso, el primero consiste en la acción de las diferentes enzimas proteolíticas sobre la matriz proteica, principalmente sobre la caseína, que da como resultado una disminución de la firmeza y en consecuencia modificaciones en algunas propiedades como el color, la elasticidad y textura del queso. (Lawrence *et al.* 1987; Lucey *et al.* (2003)

El segundo es el efecto de la 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 *et al.* 1982; Walstra, 1990). Con respecto a la adhesividad, no existen diferencias significativas a lo largo de la maduración (Fresno y Álvarez, 2012; García *et al.* 2016)

3. 6.- RESULTADO MICROBIOLÓGICOS

3.6.1.-*Salmonella spp*

Los quesos fueron inoculados en *salmonella spp* para determinar la inhibición, se aplicó el recubrimiento comestible conformado por quitosano, almidón de yuca, gelatina y compuestos fenólicos del mortiño almacenados a 4°C para su posterior análisis microbiológico en los días 0, 2, 4, 6 y 8, los análisis fueron realizados siguiendo los métodos propuestos por (ISO 6579 2002) para salmonella. Los resultados se acogieron a la norma (NTE INEN 1528 2012) para el recuento microbiano en queso fresco, la norma plantea un límite mínimo aceptable para la buena calidad en quesos frescos no maduros. Los resultados fueron expresados en UFC/g y se expresan a continuación el **Tabla N°8**.

En el día 0 los tratamientos iniciaron con 10^3 (ufc/g), los quesos tuvieron una reducción de la carga microbiana con relación al control y control quitosano en todos los tratamientos, mostrando efectividad del recubrimiento en los días 2, 4, 6 y 8 a pesar que los recuentos encontrados pasan los límites establecidos por la norma (INEN 1528 2012) la cual establece el índice máximo de salmonella en ausencia.

En cuanto a la carga microbiana entre los días 2, 4, 6 y 8 en los tratamientos se evidencia que el único tratamiento en mantenerse con rangos bajos fue el A2B2C1 $8,5 \times 10^2$ ufc ya que hubo una reducción desde el día 2 hasta el día 8 en relación a los demás tratamientos por que los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales que actúan como agentes protectores frente a patógenos.

Tabla N°8. Resultados de los análisis de salmonella spp al día 0, 2, 4, 6 y 8 de la investigación.

DIAS (ufc/g)	A2B2C1	A2B2C2	CONTROL QUITOSANO	CONTROL
0	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
2	2,1x10 ²	2,8x10 ²	5x10 ²	Incontables
4	2,8x10 ²	49,8 x10 ²	55,6x10 ³	Incontables
6	4,5x10 ²	62,5x10 ²	82,4x10 ³	Incontables
8	8,5x10 ²	93,8x10 ²	96,4x10 ²	Incontables

Autores: Escudero, B.; Párraga, M.2019

Es importante considerar el crecimiento de UFC/g en el tratamiento A2B2C1 (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico) que fue menor a comparación de los demás tratamientos A2B2C2 (2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.) Control quitosano ((1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca) y control (sin recubrimiento) esto se da por la incorporación de los compuestos fenólicos del mortiño al recubrimiento comestibles que se caracteriza por poseer propiedades antimicrobianas (Vásquez y Marreros 2001), otros autores obtuvieron resultados similares al utilizar compuestos fenólicos extraídos de diferentes plantas en el procesamientos de alimentos (Orégano, laurel, tomillo, ajo, entre otros), como también el estudio realizado a través de los resultados microbiológicos frente a *salmonella spp* obtenidos del recubrimiento comestible a diferentes concentraciones de quitosano y aceites esenciales de semillas de apio y hierba de té de limón que también hubo un lento crecimientos microbiano (Del Cid 2017).

CAPÍTULO IV

4.1- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

La extracción de los compuestos fenólicos realizada mediante etanol tiene una concentración de 38,35 mg EAG/100g.de la muestra.

El mejor tratamiento de inhibición fue con una concentración de compuestos fenólicos libres de 0,6% sin encapsular con un halo de 49,66 mm frente a la bacteria patógena *salmonella spp*, en relación a los encapsulados fue el tratamiento con concentración de 1% en donde obtuvo un halo de inhibición de 21 mm, presentando una eficiencia de 99,9%.

El mejor tratamiento de recubrimiento comestible aplicado al queso fresco frente a *salmonella spp* estuvo conformado de 2% quitosano, 2% almidón de yuca, 1,5% gelatina y 2% compuesto fenólico de mortiño al 0,6% de concentración, el mismo que no proporciona resultados significativos ($p < 0.05$), en cuanto a las propiedades físico-químicos (pH, acidez, textura, color) con respecto a los quesos tratados con el recubrimiento comestible manteniendo las características deseadas en un queso fresco.

De acuerdo a los resultados microbiológicos se puede concluir que la utilización del recubrimiento comestible retarda el crecimiento de *salmonella spp* obteniendo en el A2B2C1 (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca, 2% compuesto fenólico) 85,22 ufc comparando los tratamiento A2B2C2 (2% Gelatina, 1% Quitosano, 1.5% Almidón de Yuca, 1% compuesto fenólico.) control quitosano (1.5% Gelatina, 2% Quitosano, 2%Almidón de Yuca) y control (sin recubrimiento) presentaron mayor crecimiento $93,8 \times 10^2$ ufc, $96,4 \times 10^2$ ufc, incontables, respectivamente.

De acuerdo a la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación al aplicar el recubrimiento comestible de compuesto fenólicos del mortiño, logró

inhibir el crecimiento de *salmonella spp* microbiano durante 8 días y mantener las características físico químicas en el queso fresco.

Recomendaciones

Incrementar el porcentaje de compuesto fenólico del mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) en la formulación del recubrimiento comestible para tener mejores resultados microbiológicos.

Proponer otro método de encapsulación debido a que en el laboratorio solo existe un equipo y este proceso demora 24 horas en maceración por cada concentración

Dentro de los parámetros de textura es recomendable realizar los análisis de masticabilidad, y cohesividad, para determinar la calidad de queso fresco.

Evaluar las características sensoriales de color, olor, sabor y texturas en queso fresco, con un panel de jueces previamente entrenados

CAPÍTULO V

BIBLIOGRAFÍA

1. Adda, J; Gripon, J. & Vassal, L. (1982). The chemistry of flavour and texture generation in cheese. *Food Chemistry*. Vol. 9. N°1-2. pp. 115-129.
2. Alais, C (1985). *Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera*. Cuarta edición. Editorial Reverte S.A. Barcelona, España. 873 pp.
3. Aguilar, Z; Ulloa, C. & Hidalgo, P. (2009). *Guía de plantas útiles de los páramos de Zuleta, Ecuador*. Eco Ciencia, Proyecto páramo andino. Ministerio de Medio Ambiente. Norte del Ecuador. pp 1-99.
4. Alchipiz, S; Eugenia, A; Mosquera, S; Hoyos, J. & Navia, D. (2013). Efecto del recubriendo a base de almidón sobre la maduración de la guayaba. *Rev. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. N° 2. pp. 92 – 100.
5. Alba Regina Del Cid Juárez (2017) Centro Universitario de Sur Occidente CUNSUROC. Universidad de San Carlos de Guatemala. Comparación de la vida útil de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales pág. 55.
6. Angulo, M; Armenta, E; García, R; Carrillo, J; Salazar, E. & Valdéz, J. (2009). Extractos De Semilla De *Swietenia Humilis* Zucc. Con Actividad Antifúngica En *Rhizopus Stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Rev. Mexicana De Fitopatología*. Vol. 27. N° 2. pp. 84-92.
7. Armero, E. & Collar, C. (1997). Texture properties of formulated wheat doughs. Relationships with dough and bread technological quality. *Lebensm Unters Forsch*. Vol. 204. N° 2. pp. 136–145.
8. Asturizaga, S; Ollagaard, B. & Balslev, H (2006). Frutos comestibles. *Botanica Economica de los Andes Centrales*, pasg. 329-346.
9. áez, R; Saucedo, C; Pérez, B; Bringas, E. & Mendoza, A. (2002). Efecto de la aplicación de cera comestible y agua caliente sobre la conservación de melón reticulado. *Rev. Fitotecnia Mexicana*. Vol. 25. N° 004. pp. 375 - 379.
10. Azarakhsh, N; Osman, A; Mohd, H; Ping, Ch. & Mohd, N. (2014). Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh- cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*. Vol. 88. pp. 1-7.

11. Bernard, D; Dulbeco, R; Eisen, H. & Ginsberg, H. (1996). Tratado de Microbiología. Masson. Edición: 4ª. Barcelona, España. p. 456.
12. Boh, B. & Sumiga, B. (2008). Microencapsulation technology and its applications in building construction materials. RMZ – Materials and Geoenvironment. Vol. 55. N° 3. pp. 329- 344.
13. Borgogna, M; Bellich, B; Zorzini, L; Lapasin, R. & Cesàro, A. (2010). Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. Food Chemistry. Vol. 122. N° 2. pp. 416- 423.
14. Bourne, M. (2002) Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. 2da Edición. Academic Press. San Diego California, EE.UU. pp. 427.
15. Bryan, A; Youngster, I. & McAdam A. (2015). Shiga Toxin Producing Escherichia coli. Clin Lab Med. Vol. 35. N° 2. pp 247-72.
16. Buffa, M; Trujillo, A; Pavia, M. & Guamis, B. (2001). Changes in textural, microstructural and color characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure treated goat's milk. International Dairy Journal. Vol. 11, pp. 927- 934.
17. Burt, R (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against Echerichia Coli O157:H7. Lett Applied Microbiol 36:162-167.
18. Cai Y; Sun, M; Xing, J; Luo, Q. & Corke H. (2006) Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Science. Vol. 78. N° 25. pp. 2872 – 2888.
19. Cai, S; Zhao, M; Fang, Y; Nishinari, K; Phillips, O. & Jiang, F. (2014). Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus CGMCC1. 2686 via emulsification/internal gelation of alginate using Ca-EDTA and CaCO₃ as calcium sources. Food hydrocolloids. Vol. 39. pp 295-300.
20. Castañeda, R. (2002). La reología en la tipificación y la caracterización de quesos. En Tecnología Láctea Latinoamericana. Vol. 20. N° 26. pp. 48-53.
21. Champagne, C. & Fustier, P. (2007). Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. Current Opinion in Biotechnology. Vol. 18. N° 2. pp 184-190.
22. CLSI. (2009)). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline-Second Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI document M44–A2.

23. Dahall, R. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Crit Rev. Food Sci Nutr.* Vol. 53. pp. 435-4..
24. Dávila, J. (2006). Diseño de un Plan HACCP para el Proceso de Elaboración de Queso Tipo Gouda en una Empresa de Productos Lácteos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* Vol. 56. N°1.
25. Darío. (2017). El Diario Manabita de La producción de lácteos se tecnifica: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/24278-la-produccion-delacteos-se-tecnifica>
26. Dea, S; Ghidelli, C; Pérez M. & Plotto, A. 2012. Coating for minimally processed fruits and vegetables. p.244- 269. In Baldwin, E.A., Hagenmaier, R. D. and Bai, J. (Eds.). *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality.* (2nd. Ed.). CRC Press. Boca Raton, FL.
27. Del cid, J (2017). Comparacion de la vida util de un queso fresco procesado sin conservadores y quesos Frescos con recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales. Trabajo de Titulacion. Universidad de San Carlos de Guatemala. Mzatenango- Suchitepequez. (En linea)mx. Consultado el 15 de junio del 2019. Disponible en:
28. Eck, A. & Gillis J. (2000). *Cheesemaking: From Science to Quality Assurance.* Lavoisier Publishing. pp. 661-662.
29. Eissa, H. (2007). Effect of Chitosan Coating on shelf life and Quality of Freshcut mushroom. *Journal of Food Quality.* Vol. 30. N° 5. pp 623-645.
30. Fuentes, L. (2003). Estudio de parámetros microbiológicos que afectan la calidad del queso tipo Gouda. Tesis de grado. Universidad Austral De Chile. Escuela de Ingeniería en Alimentos. Santiago-Chile. pp. 1-92
31. Freire, A. (2004). Botánica sistemática ecuatoriana. *Missouri Botanical Garden. Rev. Research.* pp 1-131.
32. Fresno, M. & Alvarez, S. (2012). Chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Majorero goat cheese. *Int. J. Dairy Technol.* Vol. 65. pp. 393-400.
33. García, I. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de queso elaborados en el valle de Tulancingo Hgo con el fin de proponer normas de calidad. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Tulancingo, Hgo. México. pp. 98.
34. Garcia, N & Requelme, N (2011). Buenas practicas de de ordeño y calidad higienica de la leche y sus derivados en el Ecuador. *La granja,* 46.

35. García, V; Rovira, S; Bouteio, K; Ferrandini, E. & López, M. (2016). Physicochemical, microbiological, textural and sensory changes during the ripening of pasteurised goat milk cheese made with plant coagulant (*Cynara scolymus*). *International Journal of Dairy Technology*. Vol. 69. pp. 96-102.
36. González, H. (1993). *Compuestos fenólicos presentes en el mundo*. Ed. Casa de la Cultura Ecuatoriana Benjamín Carrión, Núcleo de Bolívar, Guaranda.
37. Gouin, S (2004). Microencapsulation industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*. 15: 330-347.
38. Gómez, D. & Mejía, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Línea de investigación: Biotecnología Pecuaria, Semillero de Investigación SISMO. Vol. 2. N°1. pp. 38-42.
39. Guevara, J. & Rovira, M. (2012). Caracterización de tres extractos de Moringa oleífera y evaluación de sus condiciones de infusión en sus características fisicoquímicas. Proyecto de graduación para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana-Zamorano Honduras. pp. 1-28.
40. Hershko, V. (1998). Relationships between hydrocolloid coating and mushroom structure. *Journal of Food Science*. Vol. 61. pp. 769-777.
41. Heredia, J; Contreras, L. & Siller, J. (1999). Efectos del uso de ceras comestibles sobre la maduración pos cosecha en papaya cv. Maradol. p216. En: VIII Congreso de Horticultura, Manzanillo, Colima. México.
42. Hunterlab. (2008). CIE L* C* h color scale. Applications Note8. Vol.11. pp. 14.
43. I.C.M.S.F. (1998). *Microorganismos de los alimentos: Características de los patógenos microbianos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza. Vol. 5. pp. 612.
44. INEN 1528. (2012). Norma general para quesos frescos no maduros. *Requisitos generales aplicados a los quesos frescos*. Quito, Pichincha, Ecuador.
45. INEN. (2017). Norma general para quesos frescos no maduros. *Normas INEN*.
46. ISO 6579. (2002). Directiva general concerniente a los métodos de investigación de Salmonella. Métodos de Análisis Microbiológico. normas iso, une. usa: standar internacional.

47. Infoagro. (2013). pH, curso especialista en fruticultura, on line http://www.infoagro.com/abonos/pH_suelo.htm.
48. Johnson, I. (2005) Propiedades antitumorales de los antioxidantes. Zaragoza, España: Acribia S.A. pp. 97-111.
49. Jorgensen, P; Ulloa, C; Madsen, J. & Valencia, R. (1995). A floristic analysis of the high Andes of Ecuador. S.P. Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forest. Botanical Garden. pp. 221–237.
50. Kallel, F. & Driss. (2014). Garlic (*Allium sativum* L. husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties. *Industrial Crops and Products*. Vol. 62. pp. 34–41.
51. Kethireddipalli, P; Hill, R. & Dalgleish, G. (2010). Protein interactions in heat-treated milk and effect on rennet coagulation. *International Dairy Journal*. Vol. 20. N°12. pp. 838-843.
52. Kuck, L. & Zapata, N. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*. Vol. 194. pp. 569-576
53. Krochta, J. & Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. *Food Technology*. Vol. 51. pp. 61-74.
54. Lacroix, M. & Vu, K. (2014). Edible Coating and Film Materials: Proteins. *Innovations in Food Packaging (Second Edition)* p. 277-304.
55. Lawrence, R; Creamer, L. & Gilles, J. (1987). Symposium: cheese ripening technology. Texture development cheese ripening. *Journal of Dairy Science*. Vol. 70. N° 8. pp. 1748-1760.
56. Lee, M; Kwon, H; Kwon, D; Park, H; Sohn, D; Kim, Y; Eo, S; Kang, H; Kim, S. & Lee, J. (2006). Antibacterial activity of medicinal herb extracts against *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 111. N° 3. pp. 270-275.
57. Linder, E. (1995). Toxicología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza España. pp 53-65.
58. Lucey, J; Johnson, M. & Horne, D. (2003) Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*. Vol. 86. pp. 2725-2743.

59. Mahmood A., Ngah., Omar, M. (2011). Phytochemicals constituent and antioxidant activities in *Musa x paradisiaca* flower. *European Journal of Scientific Research*, 66 331-318.
60. Márquez, D; Di Pierro, P; Mariniello, L; Esposito, M; Giosafatto, C. & Porta, R (2017). Fresh cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT- Food Science and Technology*. 75: 124-130.
61. Mead, S; Dietz, McCaig, L; Bresee, C. & Griffin, R. (1999). Food-Related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*. Vol. 5. pp 607-25.
62. Meyer, M. (2000). *Elaboracion de productos lácteos*. Editorial Trillas Mexico.
63. Mendoza, C. (2015). Casos de salmonella ssp que se registran en Manta. (en línea) <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/350107-028-casos-desalmonelosis-se-registran-en-manta/>.
64. Milgrom, F. & Flanagan, T. (1987). "Medical Microbiology" In Milgrom and Flanagan. Churchill Livingstone, New York. Vol. 1. Pp 302-305.
65. Montoya, C; Ochoa, C; Sánchez, N; Mediana, C; Lobo, M; Galeano, P; Mosquera, A; Tamayo, A; Lopera, Y. & Royano, B. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium floribundum* SW). *Boletín latino americano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*. Vol. 8 N°6. pp. 519-528.
66. Morillon, V; Debeaufort, F; Blond, G; Capelle, M. & Voilley, A. (2002). Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: a review. *Crit. Rev. Sci. Nutr*. Vol. 42. pp. 67–89.
67. Moraes, M; Øllgaard, B; Peter, L; Borchsenius, F. & Balslev, H. (2006). *Botánica Económica de los Andes Centrales*. Universidad Mayores de San Andres. La Paz- Bolivia. pp. 1-557.
68. Natàlia Gimferrer Morató, Análisis de contaminantes en quesos. (2013). Análisis de contaminates en queso. <http://www.consumer.es/seguridadalimentaria/ciencia-y-tecnologia/2013/04/01/216275.php> Análisis de contaminantes en quesos.
69. Olivas, G. & Barbosa, G. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Crit Rev Food Sci Nutr*. Vol. 45. pp. 657-670.
70. Navarro, P. (2010). *Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación*. Tesis doctoral. Departamento de tecnología de alimentos. Universidad politécnica de valencia. Valencia España. pp. 1-219.

71. Parra, H. (2010). Food microencapsulation: a review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 63(2), 5669-5684.
72. Pavón, D. & Valencia, S. (2016). Efecto de recubrimientos comestibles compuestos a base de goma tara en la calidad postcosecha de frutilla (*Fragaria ananassa*). *Rev. Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. Vol. 1. N° 1. pp. 65-70.
73. Pérez, B. & Báez, R. (2003) Utilización de ceras comestibles en la conservación de queso fresco. *Alimentaria: Rev. Tecnología e higiene de los alimentos*. N° 345. pp. 59-65.
74. Pinto, M; Villena, J. & Jofre, H. (1984). Contribución al estudio de la composición de la leche de cabra Anglo-Nubian. *Agro-Sur*. Vol. 12. N° 2. pp. 163-173.
75. Pinho, O; Mendes, E; Alves, M. & Ferreira, I. (2004). Chemical physical, and sensorial characteristics of "Terrincho" ewe cheese: changes during ripening and intravarietal comparison. *Journal of Dairy Science*. Vol. 87. N° 2. pp. 249-257.
76. Pons, P. (1976). Gastroenteritis por Salmonella. En *Tratado de Patología y Clínica Médica*. Editorial Salvat. Vol. 6. pp 292-295.
77. Popoff, M. & Le Minor L. (1992). Antigenic formulas of the Salmonella serovars. *Institute Pasteur. Dr. Roux. París, Francia*.
78. Posada, M. (2003). Los antioxidantes de los alimentos y su relación con las enfermedades crónicas.
79. Prencipe, F; Bruni, R; Guerrini, A; Rossi, D; Benvenuti, E. & Pellati, F. (2014). Metabolite profiling of polyphenols in *Vaccinium* berries and determination of their chemopreventive properties. *Revista de Análisis Farmacéutico y Biomédico*. Vol. 89. pp. 257-267.
80. Quintero, J; Falguera, V. & Muñoz, J. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Rev. Tumbaga*. Vol. 5. pp. 93-118.
81. Raghavan, S. & Richards, M. (2007). Comparison of solvent and microwave extracts of cranberry press cake on the inhibition of lipid oxidation in mechanically separated turkey. *Food chemistry*. Vol. 102. N° 3. 818-826.

82. Ramírez, C. Vélez, J. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de ingenierías de alimentos*. Vol. 6. N° 2. pp. 131-148.
83. Robles. (2015). *Principios básicos para la elaboración de queso*.
84. Rojas,A; Raybaudi, R; Soliva, C; Avena R. J; McHugh, T. & Martín, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest biology and Technology*. Vol. 45. N° 2. pp. 254-264.
85. Rojas, M; Soliva, R. & Martín, O. (2009). Recubrimientos comestibles para Incorporar ingredientes activos a las frutas recién cortadas: una revisión. *Tendencias en Ciencia de los Alimentos y Tecnología*. Vol. 20. pp. 438-447.
86. Robalino, L. (2010). *Diario el comercio*. (en línea) <https://www.elcomercio.com/search/el/13698>.
87. Salazar, R. (2006). Evaluación de tres atmósferas modificadas con N2 y CO2 en el empaque para queso Cheddar en la empresa Universitaria de Industrias Lácteas de Zamorano. Proyecto de Graduación. Escuela Agrícola Panamericana. Valle del Yeguáre-Honduras. p. 40.
88. Sánchez, D; Vargas, M; Ortega, R. & Piñeros, Y. (2018) Extraction and encapsulation of phenolic compounds from rice husk. *Rev. Colombiana de Ciencias Químico – Farmacéuticas*. vol.47. N° 3. pp. 410-423.
89. Santamarín, P; Coronel, D; Verdugo, K; Paredes, M; Yugsi, E. & Huachi, L. (2012). Estudio etnobotanico del mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*) como alimneto ancestral y potencial alimento funcional. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol.16. N°2. pp. 87-95.
90. Santamarín, P. (2012). Estudio Etnobotanico del mortiño como alimento ascenral y potencial alimento funcional. *La Granja*. Vol. 16. N°2.
91. Santacruz, S. & Castro, M. (2018). Viability of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* incorporated to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 93. pp 570-572.
92. Santos, A. (2001). *Leche y sus derivados*. Editorial Trillas. Mexico, Págs.172 y 173.
93. Saxena, A; Tripathi, B; Kumar, M. & Shahi, V. (2009). Membrane-Based Techniques for the Separation and Purification of Proteins: An Overview, *Adv Colloid Interfac*. Vol. 145. N°1-2. pp. 1-22.

94. Simon, A; Vandanjon, L; Levesque, G. & Bourseau, P. (2002). Concentration and Desalination of Fish Gelatin by Ultrafiltration and Continuous Diafiltration Processes, *Desalination*. Vol. 144. N°1-3. pp. 313-318.
95. Simões, A; Tudela, J; Allende, A; Puschmann, R. & Gil, M. (2009). Edible coatings containing chitosan and moderate modified atmospheres maintain quality and enhance phytochemicals of carrot sticks. *Postharvest Biology and Technology*. Vol. 51. N°3. pp. 364-370.
96. Schreckinger, M; Lotton, J; Ann, M. & Gonzalez, E. (2010). Berries from South America: A Comprehensive Review on Chemistry, Health Potential, and Commercialization. *Journal Of Medical Food*. Vol. 13. N°2. pp. 233-246.
97. Sotelo, L; Alvis, A. & Arrázola, G. (2015). Evaluation of epicatechin, theobromine and caffeine in cacao husks (*Theobroma cacao* L.), determination of the antioxidant capacity. *Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas*. Vol. 9. N°1. pp.124-134.
98. Tapia, M; Rojas, M; Rodríguez, F; Ramírez, J; Carmona, A. & Martín, O. (2007). Alginate-and gellan based edible films for probiotic coatings on freshcut fruits. *Journal Of Food Science*. Vol. 72. N°4. pp.190-196.
99. Tovar, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion Cafétera. Tesis de químico industrial. Escuela De Tecnología Química. Colombia. pp. 1-133.
100. Trezza, A. & Krochta, M. (2000). Color Stability of Edible Coatings During Prolonged Storage. *Journal of Food Science*. Vol. 65. No. 7. pp. 1166-1169.
101. Trezza, A; Krochta, M. (2001). Specular Reflection, Gloss, Roughness and Surface Heterogeneity of Biopolymer Coatings. *Food Science and Technology*, University of California. Vol.79. 2221-2229.
102. Van, D. & Farkye, N. (2003). Hispanic Cheeses: The quest for queso. *Food Technology*. 57: 32-38.
103. Van, D; Tunick, M. & Park, Y. (2005). Effect of Frozen Storage on the Proteolytic and Rheological Properties of Soft Caprine Milk Cheese. *Journal of Dairy Science*. Vol. 88. N°6. pp. 1966-1972.
104. Valencia, F. (2007). Efectos de sustitutos de grasa en propiedades sensoriales y texturales del queso crema. *Rev. Lasallista de investigación*. Vol 4. N°1. pp. 20-26.

105. Valencia, S; Palou, L., Del Rio, M. & Perez, M. (2011). Antimicrobial Edible Films and Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Crit Rev. Food Sci Nutr.* Vol. 51. N°9. pp. 872-900.
106. Valencia, K; Mora; J; Brambila, J; Martínez, M. & Vaquera, H. (2015). Factores que determinan el consumo de leche en el distrito federal. *Rev. Científica, FCV-LUZ.* Vol. 25. N°1. pp. 74-80.
107. Vásquez, O; Alva, O. & Marreros, J. (2001). Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Rev. Amazónica de Investigación Alimentaria.* Vol.1, N° 1. pp. 38-42.
108. Vasco, C; Riihinen, K; Ruales, J. & Kamal, A. (2009). Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*vaccinium floribundum*). *J. Agric. Food Chem.* Vol. 57. N°. 18. pp. 8274-8281.
109. Vemmer, M. & Patel, A. (2013). Review of encapsulation methods for microbial biological control agents. *Biological Control.* Vol. 67. N°3. pp. 380389.
110. Vélez, J & Ruiz, F. (2009). Rheology and Texture of Cheese. En : SosaMorales, M.E. y Velez, J & Ruiz, F. (Eds). *Food Processing and Engineering Topics.*Ed. Nova Science Publishers. Nueva York. EE.UU. pp 87-122
111. Vu, K; Hollingsworth, R; Leroux, E; Salmieri, S. & Lacroix, M. (2011). Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. *Food Research International.* Vol. 44. N°1. pp. 198-203.
112. Walstra, P. (1990). On the stability of casein micelles *Journal of Dairy Science.* Vol. 73, N° 8. pp. 1965–1979.
113. Walstra, P, Wouters, J.T.M & Geurts, T.J. (2006). *Dairy Science and Technology.* CRC Press. Nueva York, EE.UU.140-155 pp.
114. Watkinson P, Coker, C, Crawford, R, Dodds, C, Johnston, K, Mckenna, A. & White, N. (2001). Effect of cheese Ph and ripening time on model cheese textural properties and proteolysis. *International Dairy Journal.* 11: 455-464.
115. Yáñez, J; Salazar, J; Chaires, L; Jiménez, J; Márquez, M. & Ramos, E. (2002), Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Vol. 21. pp. 313-319.

116. Zou, Q; Zhao, J; Liu, X; Tian, F; Zhang, H; Zhang, H. & Chen, W. (2011). Microencapsulation of Bifidobacterium bifidum F-35 in reinforced alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation. International journal of food science & technology. Vol. 46. N°8. pp 1672-1678.
117. Zúñiga, M. (2005). Caracterización de fibra dietaría en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva. Tesis de grado. Universidad de Chile. Escuela de Agronomía. Santiago-Chile. pp. 1-68.

ANEXO

Anexo Nº.1 Encapsulación de compuestos fenólicos de mortiño



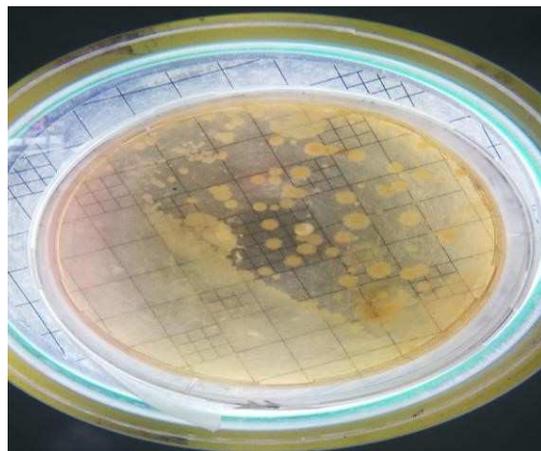
(Vaccinium floribundum kunth)
Anexo Nº.2 Inoculación de los quesos frescos con *salmonella spp*



Anexo Nº.4 Inmersión del queso fresco en las diferentes concentraciones del recubrimiento comestible



Anexo Nº.3 Inmersión del queso fresco en las diferentes concentraciones del recubrimiento comestible



Anexo N°5. Análisis de varianza del poder inhibitorio de las concentraciones libres y encapsuladas de compuesto fenólico de mortiño frente a *salmonella spp* .

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
REPETICIONES	24	0,80	0,71	26,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4179,63	7	597,09	9,21	0,0001
TRATAMIENTO	4179,63	7	597,09	9,21	0,0001
Error	1037,33	16	64,83		
Total	5216,96	23			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=22.76143

Error: 64.8333 gl: 16

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
A2B2	49,67	3	4,65 A
A4B2	45,33	3	4,65 A
A3B2	44,00	3	4,65 A
A1B2	34,33	3	4,65 A B
A4B1	21,00	3	4,65 B
A2B1	20,67	3	4,65 B
A3B1	19,67	3	4,65 B
A1B1	13,00	3	4,65 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Anexo N°6. Análisis de varianza de pH en el queso fresco durante los días de almacenamiento.

DIA 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 0	12	0,89	0,85	0,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,11	3	0,04	22,46	0,0003
TRATAMIENTOS	0,11	3	0,04	22,46	0,0003
Error	0,01	8	1,7E-03		
Total	0,13	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10648

Error: 0,0017 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
CONTROL QUITOSANO	5,62	3	0,02 A
T2	5,79	3	0,02 B
CONTROL	5,84	3	0,02 B
T1	5,88	3	0,02 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 2	12	0,93	0,90	0,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,22	3	0,07	33,91	0,0001
TRATAMIENTOS	0,22	3	0,07	33,91	0,0001
Error	0,02	8	2,2E-03		
Total	0,24	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12287

Error: 0,0022 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	5,40	3	0,03 A
CONTROL QUITOSANO	5,50	3	0,03 A
CONTROL	5,67	3	0,03 B
T1	5,74	3	0,03 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**DIA 4**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 4	12	0,87	0,82	0,96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	3	0,05	17,49	0,0007
TRATAMIENTOS	0,14	3	0,05	17,49	0,0007
Error	0,02	8	2,7E-03		
Total	0,17	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13691

Error: 0,0027 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	5,31	3	0,03 A
CONTROL	5,43	3	0,03 A
CONTROL QUITOSANO	5,44	3	0,03 A
T1	5,62	3	0,03 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**DIA 6**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 6	12	0,51	0,33	0,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,02	3	0,01	2,83	0,1067
TRATAMIENTOS	0,02	3	0,01	2,83	0,1067
Error	0,02	8	2,7E-03		
Total	0,04	11			

4

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13628

Error: 0,0027 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
CONTROL	5,33	3	0,03 A
T2	5,34	3	0,03 A
CONTROL QUITOSANO	5,37	3	0,03 A
T1	5,44	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 8

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 8	12	0,82	0,75	0,71

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,05	3	0,02	12,02	0,0025
TRATAMIENTOS	0,05	3	0,02	12,02	0,0025
Error	0,01	8	1,4E-03		
Total	0,06	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,09783

Error: 0,0014 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
CONTROL QUITOSANO	5,23	3	0,02 A
T2	5,25	3	0,02 A
CONTROL	5,28	3	0,02 A
T1	5,40	3	0,02 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo N°7. Análisis de varianza de acidez en el queso fresco durante los días de almacenamiento.

DIA 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 0	12	0,12	0,00	26,02

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,9E-05	3	1,3E-05	0,37	0,7800
TRATAMIENTOS	3,9E-05	3	1,3E-05	0,37	0,7800
Error	2,9E-04	8	3,6E-05		
Total	3,3E-04	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01566

Error: 0,0000 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	0,02	3	3,5E-03 A
T1	0,02	3	3,5E-03 A
CONOTROL QUITOSANO	0,02	3	3,5E-03 A
CONOTROL	0,03	3	3,5E-03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 2	12	0,50	0,32	9,11

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,8E-05	3	2,6E-05	2,71	0,1158
TRATAMIENTOS	7,8E-05	3	2,6E-05	2,71	0,1158
Error	7,6E-05	8	9,6E-06		
Total	1,5E-04	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00808

Error: 0,0000 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	0,03	3	1,8E-03 A
CONOTROL	0,03	3	1,8E-03 A
CONOTROL QUITOSANO	0,03	3	1,8E-03 A
T2	0,04	3	1,8E-03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 4

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 4	12	0,41	0,19	11,48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,6E-04	3	5,4E-05	1,85	0,2161
TRATAMIENTOS	1,6E-04	3	5,4E-05	1,85	0,2161
Error	2,3E-04	8	2,9E-05		
Total	4,0E-04	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02024

Error: 0,0001 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	0,05	3	4,5E-03 A
CONOTROL	0,05	3	4,5E-03 A
T2	0,06	3	4,5E-03 A
CONOTROL QUITOSANO	0,06	3	4,5E-03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**DIA 6**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 6	12	0,32	0,06	14,01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,2E-04	3	7,5E-05	1,25	0,3557
TRATAMIENTOS	2,2E-04	3	7,5E-05	1,25	0,3557
Error	4,8E-04	8	6,0E-05		
Total	7,0E-04	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01414

Error: 0,0000 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T1	0,04	3	3,1E-03 A
T2	0,04	3	3,1E-03 A
CONOTROL	0,05	3	3,1E-03 A
CONOTROL QUITOSANO	0,05	3	3,1E-03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)**DIA 8**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 8	12	0,65	0,51	9,54

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,0E-04	3	2,3E-04	4,86	0,0328
TRATAMIENTOS	7,0E-04	3	2,3E-04	4,86	0,0328
Error	3,9E-04	8	4,8E-05		
Total	1,1E-03	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01816

Error: 0,0000 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T1	0,06	3	4,0E-03	A
T2	0,07	3	4,0E-03	A B
CONOTROL	0,08	3	4,0E-03	A B
CONOTROL QUITOSANO	0,08	3	4,0E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo Nº.27 Análisis de varianza de pérdida de peso en queso fresco durante los días de almacenamiento.

DIA 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 0	12	0,37	0,13	0,31

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,44	3	0,15	1,54	0,2769
tratamientos	0,44	3	0,15	1,54	0,2769
Error	0,75	8	0,09		
Total	1,19	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,80237

Error: 0,0942 gl: 8

tratamientos	Medias	n	E.E.	
T1	100,00	3	0,18	A
control Quitosano	100,17	3	0,18	A
control	100,37	3	0,18	A
T2	100,50	3	0,18	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 2

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 2	12	0,53	0,36	3,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	101,02	3	33,67	3,03	0,0931
tratamientos	101,02	3	33,67	3,03	0,0931
Error	88,79	8	11,10		
Total	189,80	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,71069

Error: 11,0983 gl: 8

tratamientos	Medias	n	E.E.
control Quitosano	92,17	3	1,92 A
control	98,27	3	1,92 A
T1	98,53	3	1,92 A
T2	99,53	3	1,92 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)***DIA 4**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 4	12	0,74	0,65	4,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	382,87	3	127,62	7,67	0,0097
tratamientos	382,87	3	127,62	7,67	0,0097
Error	133,17	8	16,65		
Total	516,04	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=10,66783

Error: 16,6458 gl: 8

tratamientos	Medias	n	E.E.
control Quitosano	83,17	3	2,36 A
T2	94,00	3	2,36 B
control	96,30	3	2,36 B
T1	97,40	3	2,36 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02443

Error: 0,0001 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T2	0,04	3	0,01	A	
CONOTROL	0,05	3	0,01	A	B
T1	0,06	3	0,01	A	B
CONOTROL QUITOSANO	0,07	3	0,01		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 8

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 8	12	0,66	0,53	12,61

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,2E-03	3	4,1E-04	5,12	0,0289
TRATAMIENTOS	1,2E-03	3	4,1E-04	5,12	0,0289
Error	6,4E-04	8	8,0E-05		
Total	1,9E-03	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02342

Error: 0,0001 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T2	0,05	3	0,01	A	
CONOTROL	0,07	3	0,01	A	B
CONOTROL QUITOSANO	0,08	3	0,01		B
T1	0,08	3	0,01		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo N°7. Análisis de varianza de color L* en queso fresco durante los días de almacenamiento.

DIA 0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 0	12	0,06	0,00	1,15

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,59	3	0,20	0,18	0,9074
TRATAMIENTOS	0,59	3	0,20	0,18	0,9074
Error	8,79	8	1,10		
Total	9,38	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,74122

Error: 1,0991 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	90,60	3	0,61 A
T1	90,88	3	0,61 A
CONTROL	90,92	3	0,61 A
CONTROL QUITOSANO	91,22	3	0,61 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

DIA 8

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIA 8	12	0,25	0,00	3,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21,38	3	7,13	0,91	0,4785
TRATAMIENTOS	21,38	3	7,13	0,91	0,4785
Error	62,72	8	7,84		
Total	84,10	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=7,32142

Error: 7,8405 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T2	86,40	3	1,62 A
CONTROL	89,16	3	1,62 A
T1	89,20	3	1,62 A
CONTROL QUITOSANO	89,88	3	1,62 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Ejemplo del cálculo para obtener la concentración de compuestos fenólicos.

$$y = 0,1497 (x) + 0,0008$$

$$y = 0,1497 (0,042) + 0,0008 = 0,00708 \text{ mg/ml}$$

$$\frac{0,00708 \text{ mg}}{\text{ml}} \times 25 \text{ ml} = 0,177 \text{ mg}$$

$$\frac{0,177 \text{ mg}}{0,1 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 177,18 \text{ mg}$$

$$\frac{177,18 \text{ mg}}{\text{g}} \times 25.83 \text{ g} = 460,20 \text{ mg } 9,9448$$

$$\frac{460,20 \text{ mg}}{12 \text{ g}} \quad \frac{38,35 \text{ mg compuestos fenólicos}}{\text{g mortíño}} =$$