

UNIVERSIDAD GALILEO
FACULTAD DE BIOLOGÍA, QUÍMICA Y FARMACIA
LICENCIATURA EN ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN

Actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo.

TESIS

Presentado por
Joseline Ariana Martínez López

Para optar al título de
Licenciada en Alimentación y Nutrición

Guatemala, enero de 2020

Guatemala 03 de junio de 2019

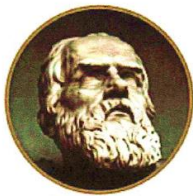
Doctora Ana Lucía Valle
Decana de la Facultad de Biología, Química y Farmacia (FABIQ)
Universidad Galileo
Presente

Respetable Dra. Valle:

Atentamente me dirijo a usted para solicitarle la aprobación del proyecto de tesis cuyo título es: **“Actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo”**. Además, solicito su autorización para que el Lic. Juan Roberto Mendoza Silvestre sea mi asesor de tesis.

Sin otro particular, me suscribo cordialmente,


Joseline Ariana Martínez López



Galileo
UNIVERSIDAD
La Revolución en la Educación

Guatemala, 04 de junio de 2019

Señorita
Joseline Ariana Martínez López
Carne 15002575
Presente

Estimada Señorita Martínez López:

Tengo el gusto de informarle que ha sido aprobado su punto de tesis previo a optar el diploma de Nutricionista cuyo título es “**Actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo**”.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aprobada la designación del Licenciado Juan Roberto Mendoza Silvestre, como asesor de su trabajo de graduación.

Atentamente,

Dra. Ana Lucía Valle

Decana

FACULTAD DE BIOLOGIA, QUIMICA Y FARMACIA



Guatemala, 04 de junio de 2019

Licenciado
Juan Roberto Mendoza Silvestre
Presente

Estimado Licenciado Mendoza Silvestre:

Es un gusto informarle que ha sido aprobada su designación como asesor del Trabajo de Tesis de la alumna Joseline Ariana Martínez López, previo a optar el Título de Nutricionista, cuyo título es “**Actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo**”.

Atentamente,

A handwritten signature in black ink that reads 'Ana Lucia Valle'. The signature is fluid and cursive, with the first letters of the first and last names being capitalized and prominent.

Dra. Ana Lucia Valle

Decana

FACULTAD DE BIOLOGIA, QUIMICA Y FARMACIA

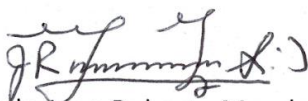
Guatemala 07 de enero de 2020

Licenciada Ana Cecilia Galich
Directora de la Licenciatura en Alimentación y Nutrición
Universidad Galileo
Presente

Respetable Licda. Galich:

Atentamente me dirijo a usted para informarle que he revisado varias veces el informe final de tesis de la estudiante Joseline Ariana Martínez López, cuyo título es: **“Actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo”**. En mi opinión, este informe cumple con los requisitos establecidos en las normas para elaborar trabajos de tesis de FABIQ.

Sin otro particular, me suscribo cordialmente,



Licenciado Juan Roberto Mendoza Silvestre
Asesor de tesis

Lic. Juan Roberto Mendoza Silvestre
Coordinador de Monitoreo y Evaluación
Secretaría de Seguridad Alimentaria y Nutricional
-SESAN-



Ciudad de Guatemala, 16 de enero de 2,020.

Doctora
Lucía Valle
Decana FABIQ
Universidad Galileo
Presente.

Señora Decana:

Le informo que la tesis: **ACTIVIDAD CONSERVANTE DE LA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES DE CANELA (CINNAMOMUM VERUM) Y/O TERPENOS DE NARANJA (CITRUS SINENSIS) PARA PREPARAR BEBIDA DE FRUTAS EN POLVO**, de la estudiante Joseline Ariana Martínez López, ha sido objeto de revisión gramatical y estilística, por lo que puede continuar con el trámite de graduación.

Atentamente.

Lic. Edgar Lizardo Porres Velásquez
Lic. en Letras
Asesor Lingüístico
Universidad Galileo
Colegiado No. 9,313



Galileo
UNIVERSIDAD
La Revolución en la Educación

Guatemala, 16 de enero de 2020

Señorita
Joseline Ariana Martínez López
Carne 15002575
Presente

Estimada señorita Martínez López:

Es un gusto informarle que, después de haber revisado su trabajo de tesis cuyo título es **ACTIVIDAD CONSERVANTE DE LA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES DE CANELA (*CINNAMOMUM VERUM*) Y/O TERPENOS DE NARANJA (*CITRUS SINENSIS*) PARA PREPARAR BEBIDA DE FRUTAS EN POLVO**, y de haber obtenido el dictamen del asesor específico autorizo la publicación del mismo.

Aprovecho la oportunidad de felicitarla por el trabajo realizado, el cual será de beneficio para el desarrollo de la sociedad.

Atentamente,


Dra. Ana Lucia Valle

Decana

FACULTAD DE BIOLOGIA, QUIMICA Y FARMACIA

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD GALILEO

RECTOR	DR. EDUARDO SUGER COFIÑO
VICERRECTORA	DRA. MAYRA ROLDÁN DE RAMÍREZ
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO	LIC. JEAN PAUL SUGER
SECRETARIO GENERAL RETOLAZA	LIC. JORGE FRANCISCO

AUTORIDADES DE FCULTAD DE BIOLOGÍA, QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA	DRA. ANA LUCÍA VALLE
DIRECTOR DE CARRERA	LICDA. ANA CECILIA GALICH BONILLA

ASESOR DE TESIS

LIC. JUAN ROBERTO MENDOZA SILVESTRE

AGRADECIMIENTOS

A DIOS	Por darme la vida, la sabiduría y provisión.
A MIS PADRES	Por su amor, apoyo, motivación y ejemplo de perseverancia como de excelencia.
A MI HERMANO	Por su amor y las risas compartidas.
A MIS FAMILIARES	Por su cariño y motivación.
A PHARMALAT	Por brindarme su apoyo en el desarrollo del presente estudio.
A MI ASESOR	Por el consejo en la realización de la presente investigación.
A UNIVERSIDAD GALILEO	Por darme la oportunidad de culminar mi carrera.
A MIS CATEDRÁTICOS	Por los conocimientos y herramientas compartidas.

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios, por darme la vida, el amor, la sabiduría y cada una de sus bendiciones entre las cuales, la más importante es tener a mis padres y hermano.

A mis padres por su inmenso amor desde antes que naciera, por formarme bajo principios y valores que me ayudaron a culminar una meta más de mi vida. Por su apoyo económico, confianza, consejos y comprensión. Por enseñarme que día con día debemos accionar en dirección de nuestros sueños desafiando cada reto. Gracias por ser un gran ejemplo a mi vida como también una de mis razones de superación, los amo.

A mi hermano, por su amor y enseñarme que la vida es más fácil si te ríes con ella.

A mi tía Mayda, por su ayuda en la elección de esta carrera como su apoyo.

Índice

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
IV. JUSTIFICACIÓN	4
V. MARCO TEÓRICO	5
A.ANTECEDENTES	5
B.CONSERVANTES	5
C. MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ALIMENTOS	12
D. ANÁLISIS SENSORIAL	14
E.ESTABILIDAD DE PRODUCTOS (Giraldo, 1999):	17
VI. OBJETIVOS	19
VII. HIPÓTESIS	20
VIII. MÉTODOS Y TÉCNICAS A EMPLEAR	21
A.UNIVERSO	21
B.MUESTRA	21
C. MATERIALES	21
D. MÉTODOS Y TÉCNICAS	23
E.PROCEDIMIENTOS	25
IX. RESULTADOS	28
A.ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	28
B.ANÁLISIS SENSORIAL	33
X. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
XI. CONCLUSIONES	38
XII. RECOMENDACIONES	39
XIII. REFERENCIAS	40
XIV. ANEXOS	45

I. RESUMEN

Se realizó un estudio con el propósito de determinar la actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo, comparado con benzoato de sodio y sorbato de potasio. Se utilizó un diseño unifactorial completamente aleatorio, con ocho tratamientos. Se realizó análisis microbiológico (*E. Coli*, aerobios mesófilos, hongos y levaduras). El análisis estadístico se realizó con Minitab 15, se aplicó análisis de varianza y prueba de Tukey para analizar los resultados microbiológicos de los 8 tratamientos. El tratamiento que contiene 1.1-3% aceite de canela (tratamiento C) y la mezcla 2.1-4 % aceite de canela y 2.1-4% aceite de naranja (tratamiento F), mostraron mejor efecto conservante, comparado con la mezcla benzoato de sodio/sorbato de potasio (tratamiento H), ($p < 0.05$).

El olor, color y sabor del polvo para preparar bebida de frutas con los tratamientos C, F y H, fue evaluado sensorialmente por 49 consumidores potenciales, al usar escalas hedónicas de 5 puntos. Los porcentajes de aceptabilidad de los tratamientos C (62%), F (60%) y H (62%), son similares. La prueba de Friedman mostró que no existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los tratamientos C, F y H ($p > 0.05$). Se concluye que los tratamientos C y F, mostraron mejor efecto conservante en el polvo para preparar bebida de frutas, comparado con el tratamiento H, y su aceptabilidad es similar; sin embargo, el tratamiento C mostró el mejor efecto para reducir la carga microbiana.

El presente estudio brinda evidencia científica para contribuir a la disminución del uso de preservantes sintéticos, debido a sus efectos secundarios nocivos para la salud de los consumidores. El estudio podría beneficiar a los consumidores ya que los aceites esenciales tienen actividad conservante y potencialmente son más seguros para los consumidores. Se recomienda utilizar el aceite de canela como conservante en la industria alimentaria, si la naturaleza del producto lo permite, por su mayor eficacia en los resultados microbiológicos y su aceptabilidad es similar a los conservantes químicos.

II. INTRODUCCIÓN

Los alimentos sufren deterioro ocasionado por la acción de agentes biológicos (microorganismos, enzimas), físicos (luz, aire) y químicos (oxidación). Para retrasar el deterioro natural del alimento es necesario emplear métodos de conservación, éstos controlan las variables intrínsecas y extrínsecas de un alimento, prolongando la vida útil de estos, brindan inocuidad, facilitan el transporte, el procesamiento y posibilitan el intercambio comercial. Para lograr lo descrito anteriormente se emplean tratamientos de tipo físico, químico y métodos emergentes (Castro Ríos, 2010).

Muchas de las técnicas de obtención y procesamiento de alimentos que se utilizan actualmente provienen de civilizaciones como la egipcia, la griega, la romana, la azteca y otras más antiguas. Los conservantes son un grupo muy importante de aditivos cuya finalidad es prevenir el crecimiento microbiano de hongos, levaduras y bacterias. Los microorganismos también se controlan mediante la reducción del pH y de la actividad acuosa, por lo tanto, el vinagre, la sacarosa o el cloruro de sodio, además de ejercer una acción protectora, funcionan como conservantes (Badui, 1990).

Los aceites esenciales tienen amplia variedad de compuestos químicos que actúan estableciendo relaciones de sinergismo y realizar las actividades antimicrobianas, antioxidantes, antifúngicas, antivirales, insecticidas, entre otras que los caracterizan. Estas sustancias pueden encontrarse y ser extraídas de diversas partes de la planta aromática, como en las flores, hojas, raíces, rizomas, frutas, semillas, madera, resinas, superficie de las hojas y cálices, variando significativamente en sus propiedades químicas (Ceballos Toro & Londoño Giraldo, 2017).

El propósito del presente estudio fue determinar la actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo, comparado con los conservantes químicos. El estudio fue de tipo experimental, se utilizó un diseño unifactorial completamente aleatorio, con 8 tratamientos y 5 repeticiones para cada tratamiento. Se realizó análisis microbiológico y estadístico para determinar la mezcla de aceites esenciales con mejor efecto conservante.

Posteriormente, se realizó análisis sensorial a través de una prueba hedónica para determinar la aceptabilidad del polvo y preparar bebida de frutas que contiene conservante químico y el polvo que contiene aceites esenciales, después de tres meses de almacenamiento en cámara de estabilidad. Los resultados de la prueba hedónica también fueron analizados con métodos estadísticos. El estudio se realizó en la Planta del Laboratorio y Droguería Pharmalat, S.A.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al realizar un análisis de los productos alimenticios disponibles en el mercado de Guatemala, como parte inicial de esta investigación, se determinó que la mayoría de los productos tienen conservantes químicos, tales como nitratos, nitritos, sorbatos, benzoatos, entre otros. Las empresas que elaboran productos alimenticios requieren una vida de anaquel más larga para sus productos y, para lograrlo, utilizan estos aditivos químicos.

Los conservantes químicos son compuestos con un efecto antimicrobiano, impiden o retrasan a los microorganismos patógenos que generen una transformación nociva en los alimentos. La incorporación de estos compuestos a los alimentos es necesaria para alargar la vida de anaquel (Lemmel, 2008).

Existen compuestos naturales que tienen propiedades conservantes, los que no producen efectos adversos, sin embargo, afectan el perfil sensorial del producto alimenticio o no generan una inhibición o muerte total de los microorganismos patógenos. Los aceites esenciales debido a su acción antimicrobiana, se pueden utilizar como conservantes, sin embargo, existen pocos estudios que demuestren su efectividad antimicrobiana (Adeyinka & Richard, 2015).

La pregunta que se desea responder en esta investigación es la siguiente: ¿Poseen propiedad conservante, el aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*), incorporados como mezcla para preparar bebida de frutas en polvo?

IV. JUSTIFICACIÓN

La aceptación de un alimento o producto alimenticio por los consumidores depende de varios factores, entre los que se incluyen: el color, el aroma, el sabor, la textura, el costo, el valor nutritivo la facilidad de preparación y la vida de anaquel (Badui, 1990).

El uso de conservantes químicos en productos alimenticios es común, sin embargo, producen efectos secundarios leves como vómitos, diarrea, dolor de cabeza, alergias, entre otros. Existen otros conservantes químicos que tienen efecto grave en la salud del consumidor debido a que pueden generar tumores o inflamación y provocar enfermedades tales como cáncer, enfermedad renal, daños en el ADN, vasodilatación, teratogenicidad, neurotoxicidad, entre otros (Velazquez, s.f.).

Los aceites esenciales se han empleado por sus actividades antibacterianas, antifúngicas e insecticidas. Existen aproximadamente 3000 aceites esenciales, 300 son comercialmente importantes, especialmente para las industrias farmacéutica, agronómica, alimentaria, sanitaria, cosmética y perfumería. Los aceites esenciales o algunos de sus componentes se utilizan en alimentación como conservantes y aditivos naturales (Bakkaliab, F; Averbecka, S; Averbecka, D; Idaomar, M. , 2008).

En el presente estudio se propone el uso de aceites esenciales en un producto en polvo, debido a su naturaleza no se puede añadir conservantes en estado líquido porque aumentaría el % de humedad y por consiguiente disminuye el tiempo de vida útil del producto. El aceite debe convertirse de un estado líquido a sólido para determinar su efecto como conservante. La propiedad conservante del aceite esencial será determinada a través de la vida de anaquel, del producto en polvo, sometiéndolo a tres meses de prueba en cámara de estabilidad. Por lo tanto, si se logra un efecto positivo de los aceites esenciales como conservantes, constituirán una opción para sustituir los conservantes químicos. El estudio podría beneficiar a los consumidores de los productos de Pharmalat, ya que el uso de aceites esenciales como conservantes, se consideran como fuentes potencialmente seguras, para ser utilizados en los productos alimenticios.

V. MARCO TEÓRICO

A. ANTECEDENTES

Astrudillo Segovia S.R. (2016) investigó la utilización de aceites esenciales naturales como conservante en la elaboración de salchichas de pollo; utilizó aceite esencial de canela, romero y comino; los resultados del análisis microbiológico mostraron que el aceite esencial tenía un efecto antibacteriano. El autor recomienda que se pueden utilizar mezclas de aceites esenciales para aumentar su nivel antibacteriano (Astrudillo, 2016).

En 2019 se realizó una investigación sobre la encapsulación del aceite de canela en nanoesporas de ciclodextrina y su uso potencial como antimicrobiano en el envasado de alimentos. Se realizó nano encapsulación del aceite de canela debido a que no tiene solubilidad en agua, además, es sensible a la temperatura, luz y presencia de oxígeno. Por lo tanto, se quería comprobar si al generar un aislamiento con ciclo dextrina, el aceite se puede usar como antibacteriano. Los resultados mostraron que la ciclo dextrina ayuda a la solubilidad y el aceite funciona como antibacteriano, en consecuencia, se puede usar para el empaquetamiento de comida y controlar el crecimiento de las bacterias. Además, la liberación controlada lograda por su encapsulación permitió que el aceite esencial de canela fuera efectivo a una concentración mucho menor en el medio de cultivo, que cuando se disuelve únicamente en el medio de cultivo (Simionato & al., 2019).

B. CONSERVANTES

Los conservantes o preservantes son aditivos alimentarios que prolongan la vida de anaquel de los alimentos protegiéndolos del deterioro causado por microorganismos. Los conservantes incluyen los conservadores antimicrobianos, agentes antimicóticos, agentes de control bacteriófago, agentes anti pardeado, agentes fungistáticos, agentes inhibidores de mohos y hongos filamentosos, y sinergistas antimicrobianos (Reglamento Tecnico Centro Americano , 2012).

Los conservantes tienen dos tipos de clasificación, la primera es la clase número uno que se refiere a productos que son de origen natural, este tipo de compuestos son los que se han usado en la antigüedad como la sal, el vinagre, la miel y los aceites. La clase número dos son los compuestos químicos o sintéticos que incluyen a los benzoatos, sorbatos, nitratos, sulfitos, entre otros (Anand & Sati, 2013).

Los conservantes están categorizados en tres tipos. El primero es como antibacteriano que actúa al destruir o retrasar el crecimiento de bacterias, levaduras y hongos. La segunda categoría es como antioxidantes y su función es evitar la descomposición de las grasas y aceites de los alimentos, estos funcionan de tres formas: agente antioxidante, agente reductor y agente antioxidante sinergista. La tercera categoría es como preservante o anti enzimático, bloquea los procesos enzimáticos como la maduración y detiene la acción de la enzima fenolasa que genera el color marrón en los alimentos cortados expuestos al oxígeno (Anand & Sati, 2013).

1. QUÍMICOS

Los conservantes químicos son compuestos con efecto antimicrobiano, impiden o retrasan a los microorganismos patógenos que generen transformación nociva en los alimentos, esto se logra cuando se inhibe el crecimiento y reproducción de los mismos. La incorporación de estos compuestos a los alimentos es necesaria para alargar la vida de anaquel; sin embargo, se debe determinar cuál es el compuesto idóneo según el tipo de producto alimenticio (Lemmel, 2008).

a. Mecanismo de acción

El modelo de acción de los conservantes es diverso, pueden actuar por hidrólisis en el metabolismo general del microorganismo patógeno, por oxido-reducción de componentes protoplasmáticos, modificación de la permeabilidad de la membrana o acción en el sistema enzimático. Sin embargo; algunas veces estos daños son reversibles, lo que se llama efecto bacteriostático y fungistático, los microorganismos patógenos quedan con vida pero no pueden reproducirse, se reproducen solo si vuelven a tener oportunidad de tener condiciones idóneas según el tipo de cepa (Lemmel, 2008).

Los principales compuestos destinados como conservantes en los alimentos son: nitrito de potasio, nitrito de sodio, nitrato de potasio, nitrato de sodio, ácido acético, acetato de potasio, diacetato de sodio, acetato de calcio, ácido láctico, sorbato de potasio, ácido benzoico, sulfito de sodio, sulfito de magnesio, propionato de sodio, propionato de calcio, propionato de potasio y anhídrido carbónico (Simal Gándara, Simal Lozano, & Paseiro, 1989).

b. Efectos secundarios de los conservantes químicos.

En un estudio realizado llamado "Problemas de salud ocasionados por los aditivos, preservante, colorantes y sabores artificiales, hormonas y antibióticos en la alimentación industrial del mundo moderno", los nitritos de sodio y nitrato de potasio están relacionados con náuseas, vértigo, mareos, debilidad muscular, desoxigenación en la sangre, dolor de cabeza, vómitos, hipertensión, pulso irregular y colapso del sistema circulatorio; además, estos compuestos forman nitrosaminas en el estómago cuando reaccionan con las proteínas, que tienen relación directa con cáncer y gastroenteritis (Velazquez, s.f.).

Se realizó un estudio de manera aleatoria doble ciego controlado con placebo, para determinar la relación entre los aditivos alimentarios y las complicaciones médicas. Se efectuó entre enero de 1996 a enero de 1999; se evaluaron diferentes aditivos, uno de ellos fueron los sulfitos y el resultado mostró que estos compuestos son causantes de asma y anafilaxia (Reus, Houben, Stam, & A., 2000). Un estudio ensayo clínico controlado doble ciego, publicado en revista Lancet, reportó que los colorantes artificiales y el benzoato de sodio, provocan aumento de la hiperactividad en niños de 3 años y de 8-9 años (McCann & al, 2007).

Usar benzoato de sodio en bebidas como preservante es común porque su costo no es elevado, sin embargo, este compuesto causa destrucción del ADN, específicamente por medio del ataque a la mitocondria. Por lo tanto, genera un daño altamente peligroso debido

a que la mitocondria usa el oxígeno para la producción de energía, controla el crecimiento celular y su ciclo de vida (Corriher & Corriher, 2013).

La Revista Internacional de Investigación y Ciencias Farmacéuticas (IJPSR), reportó que el consumo de alimentos con nitratos es altamente peligroso, principalmente en infantes, debido a que cuando se consumen los nitratos, estos se convierten en nitritos que reaccionan con la hemoglobina y producen metahemoglobina, sustancia que al estar en el cuerpo puede provocar pérdida de la conciencia y en casos extremos, la muerte. Además, existe una relación entre las personas que consumen altos niveles de nitratos y personas que mueren por Alzheimer, Parkinson y diabetes tipo 2 (Anand & Sati, 2013).

El doctor Sharma publicó un artículo científico llamado Conservantes de Alimentos y sus Efectos Nocivos, menciona que el uso de sulfitos en alimentos a base de frutas es muy común, pero tiene efectos secundarios como dolores de cabeza, palpitaciones y cáncer; además, los benzoatos causan asma y alergias de piel (Sharma, 2015).

Estudios realizados en animales han mostrado que el benzoato de sodio y el sorbato de potasio en altas concentraciones, tienen efecto apoptico, detienen el ciclo celular, al modificar la expresión GADD45- α . Además, el uso de estos dos preservantes juntos puede ser citotóxico, mutagénico y provocan aumento de la expresión MAPK8, que genera proliferación tumoral (Raposa & al., 2016).

El ácido ascórbico y los sorbatos pueden generar alergias que se visualizan como urticaria. El efecto de los benzoatos es mayor en personas que consumen antiinflamatorios, padecen asma, urticaria o son alérgicos al ácido salicílico. Los benzoatos pueden generar vasodilatación, calambres, teratogenicidad, neurotoxicidad, hiperactividad, anormalidades fetales y cáncer. Los dióxidos de sulfuro y sulfitos pueden disminuir los niveles de tiamina, generar alergias, dolor de cabeza, eccema, náuseas, diarrea, irritación estomacal. Con respecto a los nitratos estos se convierten en nitritos que reacciona con el ácido clorhídrico al formar nitrosaminas que son carcinógenas y genotóxicas (Silva & Cebola, 2016).

El benzoato de sodio es un compuesto que se usa en diferentes alimentos, en dosis bajas puede generar asma, urticaria y reacciones alérgicas. Si este preservante se mezcla con ácido ascórbico en grandes dosis puede generar benceno, un hidrocarburo cancerígeno que al mezclarse con colorantes o sulfitos, también puede generar hiperactividad y problemas neurológicos (Gómez L. , 2018).

Varios estudios mencionan al sorbato de potasio como compuesto toxico, debido a que puede generar daño en las células blancas sanguíneas, Además, es un compuesto genotóxico y puede dañar la codificación genética, causar mutaciones y cáncer. Si se consume en altas concentraciones puede generar náusea, vómitos, diarrea y cálculos renales (Gómez L. , 2018).

2. COMPUESTOS NATURALES

Existen compuestos naturales que tienen características conservantes que fueron utilizados por nuestros antepasados. Además, se pueden obtener sustancias naturales o extractos de las plantas (hojas, raíces o corteza), y compuestos extraídos de los animales o minerales porque tienen acciones beneficiosas (Anand & Sati, 2013).

Existen otros métodos para conservar los alimentos que no provienen directamente del uso de recursos naturales, estos se basan en procesos que previenen el deterioro de los alimentos naturales. Estos métodos son: hervir, congelar, pasteurizar, deshidratar, ahumar, agregar un mayor contenido de azúcar combinado con alcohol para las bebidas alcohólicas (Sharma, 2015).

a. Aceite esencial

Son sustancias líquidas de mezcla aromática natural. Se usa esta terminología cuando el aceite es extraído por medio de arrastre de corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio en los productos cítricos. Estas sustancias se producen de forma natural en la proximidad de la superficie de la planta por medio de células oleíferas, conductos o cavidades secretoras, o en pelos glandulosos. También pueden estar presentes en partes específicas como pétalos, tallo, corteza, hojas, cáscara de fruto o raíces. El aceite de la planta usualmente representa hasta 1% del peso seco de planta. A temperatura ambiente son incoloros, su composición química está basada en terpenos y compuestos aromáticos derivados del fenilpropano. Algunos aceites son monomoleculares y otros poseen dos o tres moléculas, pero su mayoría son polimoleculares que tienen de tres a cuatro moléculas mayoritarias y varias minoritarias (López., 2004).

i. Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites se pueden clasificar según la consistencia, el origen y la naturaleza química de los componentes mayoritarios. Según la consistencia, pueden ser esencias fluidas que son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Bálsamos que tienen consistencia espesa, son poco volátiles y propensos a la polimerización. Oleorresinas que tienen aroma de las plantas en forma concentrada y son semisólidas. De acuerdo con el origen pueden ser naturales, se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas. Los artificiales se obtienen por el enriquecimiento de la esencia con uno o varios componentes. Los sintéticos son producidos por componentes que son producidos por síntesis química. Desde el punto de vista químico depende del tipo de monoterpenos, esquiterpenoides y fenilpropanoides (Martínez, 2003).

ii. Usos de los aceites esenciales

Los diferentes usos de los aceites esenciales se han tomado en cuenta desde la Edad Media, por las diferentes composiciones de los aceites, muchos de ellos se pueden utilizar como bactericidas, fungicidas, antiparasitarios, insecticidas, medicinales y cosméticos. Sus efectos beneficiosos se deben a la presencia de moléculas volátiles, presentes por destilación y arrastre del aceite por vapor, estas moléculas son terpenos, terpenoides, fenoles y alifáticos. Por sus diferentes efectos, varias industrias farmacéuticas, alimentarias, cosméticas y agrícolas, los han implementado en sus procesos (Bakkaliab, F; Averbécka, S; Averbécka, D; Idaomar, M. , 2008).

Se ha comprobado que las plantas tienen efecto inhibitorio de microorganismos, además, cada parte de la planta, al extraer su aceite, tiene diferentes funciones. La función antibacteriana depende del tipo de planta que se use, pero en general este efecto puede provenir del aceite de las hojas, flores, fruto, corteza, raíz o tallos. Por lo tanto, su efecto anti patógeno es ideal para tratar virus, bacterias, parásitos, insectos y hongos. Por su

efecto positivo se declararon como preservantes legales para Estados Unidos y Unión Europea (Adeyinka & Richard, 2015).

iii. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Existen diferentes estudios en vivo que demuestran la actividad microbiana contra diferentes microorganismos patógenos que afectan los alimentos, tales como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, siendo la concentración mínima inhibitoria de 0.05 – 5 Al ml⁻¹. Existen diferentes tipos de compuestos activos presentes en los aceites naturales que tienen efectos inhibitorios, entre los más potentes compuestos fenólicos están: el carvacrol, timol, eugenol, perillaldehído, cinamaldehído y ácido cinámico. Poseen diferentes modos de acción para atacar a las células bacterianas, pero actúan en los lípidos por su hidrofobia. Para obtener mejor acción de los aceites naturales, los alimentos deben tener un pH bajo, una temperatura baja y niveles bajos de oxígeno. Para la elección de los aceites se debe tomar en cuenta el aspecto organoléptico, según el tipo de alimento (Burt, 2004).

En los alimentos se necesitan mayores concentraciones de las que se reportan en los estudios en vivo, debido al aspecto organoléptico de los alimentos, se genera nuevo método de utilización de los mismos en el que se mezclan los aceites esenciales para aumentar la capacidad inhibitoria de microorganismos patógenos, debido a la interacción de los fenoles, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres, hidrocarburos que se encuentran en diferentes cantidades, según el tipo de aceite esencial (Bassolé & H., 2012).

iv. Método de destilación por arrastre de vapor para extracción de aceites esenciales

Para la obtención de aceite esencial de toda materia prima vegetal, lo primero que se debe hacer es aplicar una inyección de vapor de agua directamente en la mezcla, para generar condensación del compuesto volátil y se forma una fase inmisible que dona el calor a la mezcla para lograr la evaporación. Se obtiene dos fases inmiscibles cuando se genera la destilación, la primera es fase orgánica y la otra es parte acuosa, por lo tanto, se separan y comportan de manera diferente, que genera cada uno su propia presión de vapor y ésta corresponderá a la del líquido puro, a una temperatura referencia. Para lograr este proceso se debe conocer que ambos compuestos sean insolubles en agua. La parte volátil formará dos partes, al condensarse, para separar el aceite del agua (Peredo, García, & López, 2009).

La presión total del sistema será la suma de presiones de los componentes de la mezcla orgánica y del agua. Si la mezcla es un hidrocarburo con un aceite, la presión del aceite es despreciable porque es un pequeña. Este tipo de destilación es método muy sencillo y de bajo costo, pero requiere tiempo largo para obtener bajo rendimiento de aceite (Peredo, García, & López, 2009).

b. Canela

La canela es especie aromática usada en alimentos por su sabor dulce y sabor almendrado, este es un árbol de aproximadamente 9 metros de alto con hojas verdes, presenta flores en panículos terminales y el fruto es ovoide y carnoso. La principal parte de uso, que tiene

diferentes propiedades, es la parte inferior de la corteza de las ramas más jóvenes del árbol, la calidad de la canela depende de la edad de las ramas, las más jóvenes son las de mayor calidad. Estas ramas deben pasar por un proceso de secado para obtener el color castaño (Da Rosa & al., 2014).

El aceite de canela contiene diferentes compuestos volátiles, los más importantes son el cinamaldehído, weitherhin eugenol, acetato de canela, alcohol de cinamilo, o-metoxinamaldehído y ácido cinámico. También contiene diterpenos como el cinnzeylanol y cinnzeylanin, otros compuestos son proantocinidinas oligoméricas y mucílagos (PDR for herbal medicine, 2008).

El compuesto con mayor efecto presente en el aceite de canela es el cinamaldehído, se encuentra en mayor cantidad en la corteza del árbol de canela. Este compuesto tiene beneficios antibacterianos, fungiestáticos y favorece la motilidad. Además, tiene un leve efecto como estrógeno y aumenta las secreciones gástricas (PDR for herbal medicine, 2008).

i. Propiedades antibacterianas del aceite esencial de canela

Se realizó un estudio para comprobar la efectividad de la niacina y canela en la inhibición de *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli* en un jugo de manzana pasteurizado, que determinaron que la canela posee un efecto inhibitorio de estos dos microorganismos, además, tiene mayor efecto sobre los microorganismos Gram positivos, en comparación con los Gram negativos (Yuste, 2004).

En un estudio realizado en la India se reportó que el clavo, la canela, el ajo ajo y el comino negro tienen potencial antimicrobiano contra *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Saccharomyces cerevisiae*, este mismo efecto también lo reportaron investigadores de otros países como Italia, Alemania, Australia y Polonia (Lai & Roy, 2004).

En un estudio realizado en Costa Rica, se determinó que tanto el uso de aceite esencial de la canela como el clavo de olor, tienen mayor nivel de actividad antimicrobiana contra los organismos de *Escherichia coli*, *listeria monocitogenes* y *aspergillus niger*, comparado con el aceite de pimienta (Cubillo, 2007).

En la India se evaluó la actividad antimicrobiana en un estudio in vitro con tres especies de la india que fueron canela, clavo y comino contra *Staphylococcus aureus*; la canela obtuvo un promedio de inhibición entre 22-27mm. La conclusión del estudio fue que la canela y el clavo tienen mejor resultado en su acción antibacteriana, comparado con el comino (Mandal, S., DebMandal, M., Saha, K., Kumar, N. , 2011).

En Pakistán se realizó un estudio para evaluar cuatro especies paquistaníes: comino, canela, cardamomo y clavo, estas especies se probaron contra *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus licheniformis*, el aceite que mostró mejor resultado fue el de canela por el cinamaldehído, ya que fue más potente contra las bacterias estudiadas. (Naveed & al., 2013).

En Perú se determinó el efecto antimicrobiano en las cepas de *Salmonella spp*, se realizaron diferentes tipos de tratamientos con diferentes concentraciones: 10%, 30%, 50%, 70% y 90%. Se investigó que la cepa de *Salmonella spp* es sensible a las concentraciones

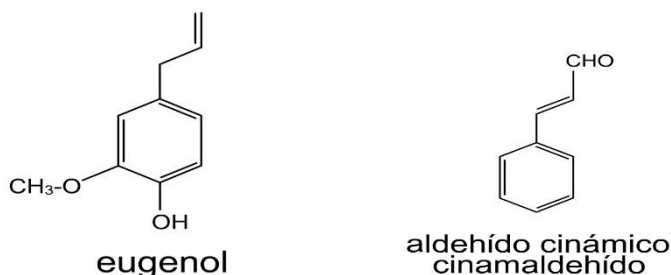
de canela desde 50% hasta concentraciones superiores, así como también la cepa *Salmonella typhimurium* y *Salmonella choleraesuis*, en referencia al diámetro de los halos de sensibilidad. (Montero & al., 2017).

Se realizó un estudio antimicrobiano del clavo y la canela en microorganismos patógenos. Utilizaron metodología de difusión en agar, en la que no se generó ningún efecto antimicrobiano en concentraciones máximas de 150 mg/ml contra la cepa de *Salmonella spp*, pero sí un efecto antimicrobiano sobre *E. coli* y *S. aureus* (Pastrana, Durango, & Acevedo, 2017).

ii. Mecanismo de acción del cinamaldeido como bacteriostático o bactericida

Los compuestos principales del aceite de canela con actividad antimicrobiana, son: el trans-cinamaldeido 50-80%, eugenol 10% (Figura 1), Linanol, 10-15% y safrol 0-11% (Gómez & López, 2009).

Figura 1. estructura química del cinamaldeido y eugenol



Fuente: (Gómez & López, 2009)

La acción antimicrobiana del tras-cinamaldehído fue determinada por Wendakoon y Sakaguchi y lo que genera este compuesto es la unión del grupo carbonilo a las proteínas celulares, lo que logra evitar la acción enzimática del aminoácido-descarboxilasa. Además, Helander observó que no actúa sobre la membrana porque no hubo desintegración de la misma ni una disminución del ATP intracelular (Gómez & López, 2009).

El mecanismo de acción del eugenol, como antimicrobiano determinado por Thoroskis, se genera por la inhibición de la producción de amilasas y proteasas, deterioro y ruptura de la pared celular. Además, Wendakoon y Sakaguchi determinaron que el grupo hidroxilo del eugenol se enlaza con las proteínas, al bloquear la acción enzimática del microorganismo patógeno (Gómez & López, 2009).

c. Cáscara de naranja

La naranja es un alimento, pero tiene partes medicinales que se obtienen de la fruta fresca, de la cáscara seca y del aceite de la cáscara. La planta tiene flores muy fragantes, el fruto es ovoide, sólido, con cáscara mediana, lisa y color amarillo anaranjado cuando la fruta está

madura. Estos frutos crecen en árboles de hoja perenne con corona redondeada, las ramas contienen espinas (PDR for herbal medicine, 2008).

Los compuestos activos volátiles de la naranja incluyen el limoneno, citral, citronelal, nootkatona, sinesal, n-nonanal, n-decanal, n-dodecanal, acetato de linalilo, acetato de geranilo, acetato de citronelilo, metilo antranilato. Además, los aceites prensados contienen flavonoides lipofílicos y furocumarinas (PDR for herbal medicine, 2008).

Se realizó un estudio para determinar los compuestos químicos presentes en el aceite de naranja, los que fueron obtenidos del pericarpio por extracción de vapor. Para la identificación de los compuestos químicos se efectuó cromatografía de gases y espectrometría de masas y se logró que los principales compuestos son: limoneno, β -linalol, decanal y 2(10)-pineno, (1S,5S)-(-)-. Después de comprobar la composición química del compuesto, se realizaron estudios en bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25933 y *Staphylococcus*); también en bacterias Gram negativas (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). En ambos tipos de bacterias se comprobó un efecto positivo del compuesto como antibacteriano. (Juárez & al, 2010)

i. Terpenos de naranja

El limoneno es un isómero que presenta forma de L-limoneno y D-limoneno. Es un terpeno monocíclico producido en las plantas como metabolito secundario. Este isómero está presente en el aceite de esencial de frutos cítricos y proporciona el olor característico de estas plantas. El limoneno es un terpeno obtenido de la cáscara de naranja seca, que contiene 3.8% de D-limoneno basado en el peso seco, este compuesto es soluble en agua y genera un olor a naranja dulce, es una sustancia que está aprobada como sustancia segura por la FDA y Ph. Eur. (Ciriminna & al., 2014).

ii. Propiedades antibacterianas de terpenos de naranja

Este fue el primer pesticida natural registrado como control de plagas amigable ambiental (Ciriminna & al., 2014). Se realizó un estudio en el que se usó aceite de bergamota, naranja y limón, y probaron que el linalol es el compuesto de estos aceites que tiene efecto antibacteriano; además, el limoneno, inhibe las bacterias de *Listeria*, *Campylobacter* y *E. coli*. Esta prueba se realizó en método de discos de difusión (Fisher & Phillips, 2006). En un estudio utilizaron aceite cítrico el que tenía 93.96% de limoneno y 2.12% de mircenol en ensayos de difusión de disco, los resultados mostraron un efecto antibacteriano sobre la *Salmonella spp.* transmitida por alimentos (O'Bryan, Crandall, Chalova, & Ricke, 2008).

C. MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN ALIMENTOS

Los alimentos tienen propiedades físico químicas que permiten el desarrollo de microorganismos en los alimentos. Estos microorganismos patógenos son capaces de transmitir enfermedades al ser humano, que se llaman comúnmente toxiinfecciones

alimentarias. Por lo tanto, para disminuir la carga bacteriana se debe tomar en cuenta todos los parámetros para manipular los alimentos, desde el sembrado, la cosecha hasta el procesamiento de los mismos. Además, se debe tomar en cuenta que cada uno de los alimentos tiene diferentes características físico-químicas. Por lo tanto, los métodos del procesamiento y temperaturas son fundamentales para evitar mayor carga bacteriana en los mismos (Hernández, 2010).

Según la FDA, existen 14 microorganismos patógenos comunes en alimentos, entre los que se encuentran: *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Norovirus*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* e *Yersenia enterocolitica* (FDA, s.f.).

1. Aerobios mesófilos

Los microorganismos mesófilos tienen capacidad de desarrollarse en presencia de oxígeno y con temperatura ambiental entre 20°C y 45°C. Para hacer el recuento de estos microorganismos, se efectúa un promedio de la micro flora total sin tomar en cuenta la especie de los mismos. Esta prueba que se realiza en los alimentos debido a que refleja la calidad sanitaria de los productos analizados, indica la calidad higiénica de la materia prima y la manipulación durante el proceso (Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos, 2014).

El análisis de estos microorganismos es importante porque un recuento elevado de mesófilos puede indicar que la materia prima está contaminada debido a malas prácticas de manufactura en la elaboración de los productos, posible existencia de patógenos incluidos en este conteo de mesófilos o porque la vida útil del producto concluyó (Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos, 2014).

2. Mohos y levaduras

Los hongos son parte natural de los alimentos, pero también pueden ser contaminantes de los mismos. Debido a que tienen crecimiento bacteriano lento y baja competitividad, se presentan en alimentos donde es menos favorable el crecimiento bacteriano (Camacho & al., 2009).

Los hongos no presentan raíces, tallos y hojas, además carecen de clorofila, por esta razón no presentan color verde, tienen diferentes formas entre las que se incluyen: setas, mohos y levaduras (Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos, 2014).

Estos microorganismos usan sustratos como carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas, lípidos, pectinas y polisacáridos. Las condiciones en donde pueden proliferarse son: pH bajo, baja actividad de agua, alto contenido en carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, presencia de antibióticos o alimentos irradiados (Camacho & al., 2009).

La determinación de estos microorganismos es importante en los productos alimenticios, debido a que tienen la capacidad de producir micotoxinas, las que no se eliminan en el

procesamiento de los alimentos, por lo tanto, la ingesta de las mismas puede generar intoxicación o reacciones alérgicas. (Serrano & Cardona, 2015)

Además, los mohos y levaduras pueden generar diferentes grados de deterioro o descomposición de los alimentos (Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos, 2014).

3. *Escherichia Coli*

Esta bacteria es parte del intestino del ser humano y animales de sangre caliente. Se puede dividir en seis diferentes variedades. Algunas de estas cepas son inofensivas sin embargo otras son productoras de toxinas Shiga, que puede provocar enfermedades severas, el vehículo de transmisión son los alimentos. La contaminación de los alimentos es por medio de contacto con heces fecales, por lo tanto, los alimentos de más alto riesgo son carne, leche cruda, hortalizas y semillas (OMS, Organización Mundial de la Salud, 2018).

La bacteria *E. coli* puede crecer en temperaturas entre 7°C y 50°C, la temperatura óptima es de 37°C, también crecen en medios ácidos hasta un pH de 4.4 y con una actividad de agua mínima de 0.95. Esta cepa se destruye cuando alcanza temperatura mayor de 70 °C (OMS, Organización Mundial de la Salud, 2018).

La *E. coli* presente en los alimentos contaminados puede provocar diarreas agudas o crónicas, las que pueden tener presencia de sangre, o infecciones que tienen probabilidad de convertirse en un síndrome hemolítico urémico (FAO, s.f.).

D. ANÁLISIS SENSORIAL

Es una disciplina que está dedicada a determinar y analizar la percepción de las personas hacia los alimentos tomando en cuenta las propiedades organolépticas de los mismos, midiendo su respuesta en base a sus sentidos, por lo tanto, se basa en el olor, color, sabor y textura del alimento. Es útil a nivel industrial porque ayuda a medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión de los consumidores y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor, y para realizar investigaciones para el desarrollo de nuevos productos o cambio de materia prima (Arroyave, 2017).

1. Los sentidos

Los sentidos ayudan a los seres humanos a percibir lo que les rodea, los sentidos pueden ser químicos: olfato y gusto; también pueden ser físicos: vista, tacto y oído. A continuación se describen los diferentes sentidos (Hernández, 2005).

2. Sentidos químicos (Hernández, 2005):

El olfato es el sentido que ayuda a detectar sustancias gaseosas por medio de la nariz por medio de los quimiorreceptores localizados en la glándula pituitaria amarilla, por lo que para ser percibidas deben ser volátiles y solubles en agua para disolverse en el moco. Los olores

primarios que se pueden distinguir y clasificados son alcanforado, almizclado, floral, mentolado, frutales, rancio, aliáceo, farináceos, etéreo, picante y pútrido.

El gusto se puede determinar por el órgano gustativo de la lengua debido a que en la base superior presenta papilas y receptores químicos de los estímulos gustativos, pero también depende de la sensibilidad de cambios de temperatura. Las papilas gustativas pueden reconocer cuatro sabores fundamentales que son dulce, salada, ácido y amargo, de esta manera el cerebro puede reconocer el alimento al que pertenece. Cada uno de los sabores básicos se percibe en diferente lugar de la lengua.

3. Sentidos Físicos (Hernández, 2005):

La vista se puede lograr por medio de las cavidades orbitarias de la cara conocidas como ojo. Por medio en análisis sensorial nos sirve para observar el color, la apariencia, la forma, la superficie, el tamaño, el brillo, la consistencia y la uniformidad de los alimentos.

El tacto es un sentido que se logra por medio del tejido de la piel que recubre el cuerpo. Este órgano tiene terminaciones nerviosas con diferentes cantidades en cada zona del cuerpo, siendo las yemas de los dedos uno de los lugares en el que se encuentra mayor cantidad. Los receptores táctiles pueden ser recepciones nerviosas libres que perciben el dolor y las encapsuladas. Para fines de evaluación sensorial los corpúsculos de Meisser nos ayudan a determinar la superficie y terminación de los que se encuentran en los dedos y lengua, así como también los corpúsculos de Krause son importantes porque ayudan a determinar la sensación de frío y los corpúsculos de Ruffini detectan la sensación de calor.

Por medio del sentido del tacto se puede determinar la textura de los alimentos. Los atributos de la textura se dividen en tres, que puede ser mecánicos, geométricos y de composición.

Los atributos mecánicos se refieren a la propiedad del alimento de deformarse, por lo que tiene que ver con la dureza, la elasticidad, la viscosidad, la fragilidad, la masticabilidad, el crujido, entre otras. Los atributos geométricos se relacionan con la forma y la orientación de las partículas del alimento refiriéndose a la granulosis, la esponjosidad, la friabilidad, la aspereza, la tersura, entre otras. La composición depende de la formulación de los productos con referencia a los ingredientes que este presenta refiriéndose a la humedad, la grasosidad, la sebosidad, la resequedad, la terrosidad, la succulencia, entre otras.

El sentido de audición se puede lograr por medio de los oídos que logra la percepción de los sonidos y mantenimiento del equilibrio. El oído consta de tres partes que son el externo, el medio y el interno. El sonido se produce por medio de una vibración, que ayuda a escuchar los sonidos de las texturas de los alimentos.

4. Panel de evaluación sensorial (Watts, 1992):

El cumplimiento de los parámetros establecidos para la realización de un panel es indispensable para obtener resultados confiables y objetivos. Existen tres tipos de panelistas: expertos, entrenados y consumidores; el tipo de panelista que se escoja para la realización del panel depende de los objetivos del mismo.

Para la preparación de las pruebas se debe tener un área específica, que debe tener los utensilios necesarios para la preparación de la muestra para presentarla a los panelistas, también debe estar determinado el flujo del proceso de las muestras.

El área donde se realiza la catación de pruebas debe ser una sala sin ruido, iluminada, a temperatura ambiente, sin contaminación de olores, los colores de las paredes deben ser claros y no interferir con el producto o sentimientos del panelista y debe estar separada por cabinas para cada panelista.

Las muestras deben presentarse a la temperatura que habitualmente se consume el alimento, si estos son cocinados se deben calentar a 80°C, las bebidas frías deben estar a 4-10°C y las bebidas calientes o sopas a 60-66°C. El tamaño de la muestra para alimentos pequeños como dulces o chocolates deben ser una unidad, alimentos sólidos 25 gramos, alimentos líquidos 15 ml y bebidas 50 ml. El máximo de muestras diferentes es de cinco muestras por panelista. Las muestras deben ser presentadas de la misma manera y en los mismos utensilios. El horario para realizar un panel es de 11-11:59 am y de 3-4 pm.

5. Tipos de pruebas sensoriales (Hernández, 2005):

Existen diferentes tipos de pruebas para determinar los objetivos planteados, estas pruebas están divididas en tres grupos que presentan subgrupos. Para determinar el tipo de prueba se deben realizar ciertas preguntas, tales como ¿Qué es lo que se quiere saber del producto?, ¿Cuáles son los objetivos de mi análisis?, ¿Con qué tipo de panelista voy a trabajar?

6. Pruebas discriminativas (Dr. Espinosa, 2007):

Las pruebas discriminativas se utilizan para comparar dos o más muestras y determinar diferencia entre las mismas; esta prueba se divide en diferenciación y sensibilidad. Las pruebas de diferenciación sirven para diferenciar entre dos hasta cinco muestras de manera simultánea.

Las pruebas de sensibilidad se emplean para entrenar a los panelistas y realicen un reconocimiento y percepción de los sabores básicos por medio del umbral, que consiste en la cantidad mínima para ser detectada por el panelista.

7. Pruebas descriptivas (Dr. Espinosa, 2007):

Estas son ideales para determinar las características del alimento como las exigencias del consumidor hacia el mismo, y realizar las reformulaciones que el producto necesite para obtener el perfil sensorial que el consumidor requiere, con el propósito de tener mayor aceptación y demanda, esta prueba se divide en clasificación por atributos y pruebas de análisis descriptivo.

Por atributos se puede evaluar los atributos presentes en los alimentos, por lo que su objetivo es describir, conocer y cuantificar cada uno de los atributos y, posteriormente, determinar la aceptación. El análisis descriptivo se utiliza para determinar el perfil del sabor y la textura.

8. Pruebas afectivas (Dr. Espinosa, 2007):

Se realiza este tipo de evaluación cuando el objetivo es determinar el nivel de agrado, desagrado y preferencia de un producto, en comparación con otro de su misma denominación. Esta categoría se divide en tres, que son: pruebas de preferencia, escalares y aceptación.

Las pruebas escalares se utilizan para determinar la aceptación y preferencia según el consumidor, son de gran utilidad en la aplicación práctica, porque ayudan a determinar lo que piensan las personas del producto y determinar la forma de venta del producto, cambios en la formulación, un promedio de ventas, entre otras. Las pruebas de escalares se dividen en escala de actitud y escala hedónica.

La escala hedónica está relacionada con el agrado o desagrado de un producto por parte del consumidor, por medio de una escala de puntuación que puede ser desde cinco hasta once puntos. Los puntos para dar puntuación empiezan con el valor mínimo de disgusto, un valor medio que es un neutro y una puntuación alta para el nivel máximo de gusto. (Dr. Espinosa, 2007)

En este tipo de prueba se pueden presentar uno o varios productos simultáneamente, entre cada prueba debe haber un limpiador de paladar para percibir las diferencias entre cada una de ellas, según sus características sensoriales. Los panelistas tienden a hacer comparaciones entre las muestras cuando ellas se pasan de manera simultánea. Por lo tanto, si se desea tener criterio de respuestas aisladas, se deben realizar en sesiones separadas con una muestra por sesión. Para determinar el agrado o desagrado y tomar decisiones sobre el producto evaluado, se debe transformar la escala verbal a una escala numérica, posteriormente se realiza análisis estadístico. (Dr. Espinosa, 2007)

Cuadro 1. Clasificación de las pruebas sensoriales

Clasificación	Objetivo	Preguntas de interés	Tipo de prueba	Características de panelistas
Discriminatoria	Determinar si dos productos son percibidos de manera diferente por el consumidor.	¿Existen diferencias entre los productos?	Analítica	Reclutados por agudeza sensorial, orientados al método usado, algunas veces son entrenados.
Descriptiva	Determinar la naturaleza de las diferencias sensoriales.	¿En qué tipos de características específicas difieren los productos?	Analítica	Reclutados por agudeza sensorial y motivación, entrenados o altamente entrenados.
Afectiva	Determinar la aceptabilidad de consumo de un producto	¿Qué productos gustan más y cuáles son los preferidos?	Hedónica	Reclutados por uso del producto, no entrenados.

Fuente: (Liria, 2007)

E. ESTABILIDAD DE PRODUCTOS (Giraldo, 1999):

La estabilidad de los productos depende de las condiciones ambientales y los factores de los productos. Las condiciones ambientales son: la temperatura, la humedad y la luz, y los factores de los productos son: las propiedades químicas y físicas de la materia prima, la forma, la composición, el proceso de fabricación, el método de empaque y el material del empaque.

El tiempo de conservación se establece según la zona en la que se comercialice el producto, las condiciones de almacenamiento se deben basar en los estudios de estabilidad en el que deben mantener la calidad e inocuidad del producto y determinar la fecha de caducidad, que debe estar presente en la etiqueta del producto

1. **Directrices para las pruebas de estabilidad** (OMS, Directrices para las pruebas de estabilidad de productos farmacéuticos que contienen sustancias medicamentosas bien establecidas en formas farmacéuticas corrientes, 2008).
 - a. Desarrollo del producto: Las pruebas de estabilidad acelerada se usan para comparar diferentes formulaciones y generar el desarrollo del producto, materiales de envase o proceso de fabricación. Cuando se obtiene la formulación del producto se deben hacer las pruebas de estabilidad acelerada para determinar la estabilidad, tiempo de conservación y condiciones de almacenamiento.
 - b. Mercado destinatario: Para que las pruebas de estabilidad sean precisas se debe determinar el mercado destinatario y las condiciones climáticas en la zona que se distribuirá. Son cuatro zonas climáticas en el mundo.
 - i. Zona I: Templada
 - ii. Zona II: Subtropical con humedad elevada
 - iii. Zona III: Cálida/seca
 - iv. Zona IV: Cálida/humedad
 - v. La zona de Guatemala es la zona IV, que también aplica si se quiere comercializar un producto en diferentes partes del mundo
 - c. Planificación de los estudios: Los lotes de los que se obtienen las muestras deben ser representativos de una producción piloto en planta de producción y cada lote tener diferentes porcentajes de principios activos. Los estudios de estabilidad acelerada se pueden hacer a temperaturas altas por 3 meses a 45-50 °C y 75% de humedad relativa para la zona IV de comercialización. En los estudios acelerados la frecuencia de pruebas se debe realizar de la siguiente forma: una inicial y cada mes por los tres meses y la evaluación de los resultados se determinará según las especificaciones propias del producto.
 - d. Método analítico: Se debe determinar un método sistemático en el que se incluyen las características físicas y microbiológicas de la prueba. Se debe hacer énfasis en los agentes microbianos para determinar si estos compuestos conservan su eficacia y no se modifican con el tiempo de conservación previsto.
 - e. Informe de estabilidad: Este informe se debe hacer para interno, que debe incluir el plan de estudio, resultados y conclusiones.

2. Cámara de estabilidad

Es una cabina que controla las condiciones de humedad y temperatura de forma precisa. La Carón 7000-25 tiene la capacidad de controlar la temperatura desde 5°C a 70°C, además, tiene una opción de llevarla a 0°C. Los controles de humedad pueden estar entre 20% hasta 95% y opción de estar a 2%. Debido a que su humedad y temperatura son uniformes genera resultados confiables, por la misma importancia de confiabilidad tiene pantalla táctil en la que muestra la gráfica de la temperatura y humedad de siete días (Caron, s.f.).

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad conservante de la mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*) para preparar bebida de frutas en polvo.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Comparar la actividad conservante de la mezcla de aceite esencial de canela (*Cinnamomum verum*) y terpenos de naranja (*Citrus sinensis*), al usar diferentes porcentajes, contra el uso de conservantes químicos (benzoato de sodio y sorbato de potasio) y muestra blanco, por medio de control microbiológico.
2. Evaluar el perfil sensorial del polvo para preparar una bebida de frutas que contiene conservante químico y aceites esenciales que mostraron mejor efecto antimicrobiano, después de tres meses de almacenamiento en cámara de estabilidad.

VII. HIPÓTESIS

A. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La mezcla de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y/o terpenos de naranja (*Citrus sinensis*), tiene mayor efecto conservante que la mezcla de Benzoato de sodio y sorbato de potasio para preparar bebida de frutas en polvo.

VIII. MÉTODOS Y TÉCNICAS A EMPLEAR

A. UNIVERSO

1. Terpenos de naranja
2. Aceite esencial de canela

B. MUESTRA

1. Polvo para bebida de frutas preparado con terpenos de naranja en varios porcentajes
2. Polvo para bebida de frutas preparado con aceite esencial de canela en varios porcentajes
3. Polvo para bebida de frutas preparado con terpenos de naranja y canela en varios porcentajes
4. Polvo para bebida de frutas preparado con conservantes químicos
5. Polvo para bebida de frutas preparado sin conservantes químicos ni naturales

C. MATERIALES

1. Materias primas y reactivos

- a. Terpenos de naranja. Los terpenos de naranja, se obtuvieron de la distribuidora de sabores Cosco, S.A.
- b. Aceite esencial de canela. El aceite esencial de canela, se obtuvo de la distribuidora Extract, S.A.
- c. Desecante

2. Equipo de laboratorio

- a. Balanza

Cuadro 2. Especificaciones técnicas de Cámara de estabilidad de Laboratorio Parmalat, S.A.

Modelo	PA4202C
Capacidad máxima	4,200 g
Legibilidad	0.01 g
Tamaño de plato	7.1 pulgadas
Calibración interna	Semiautomática
Modelo de pantalla auxiliar	Disponible
Comunicación	RS232
Dimensiones	3.6 X 12.6 x 7.7
Pantalla	LCD de 7 segmentos de retro iluminación
Peso mínimo	20 gramos
Peso neto	4.5 Kg

Material del plato	Acero inoxidable
Encendido	Adaptador de corriente eléctrica
Tiempo de estabilización	2 segundos
Rango de tara	Capacidad por sustracción
Ambiente de uso	50-104°F

Fuente: (OHAUS)

b. Cámara de estabilidad

Cuadro 3. Especificaciones técnicas de Cámara de estabilidad de Laboratorio Parmalat, S.A.

Modelo	7000-25-1
Rango de temperatura	5°C-70°C
Control de temperatura	+/- 0.1°C
Uniformidad de temperatura	+/- 0.3°C
Sensor de temperatura	Detector de 3 hilos
Rango de humedad	20-95%
Control de humedad	+/- 2%
Sensor de humedad	Capacitiva
Dimensiones interiores	32" x 27" x 52.7"
Dimensiones exteriores	35.5" x 33.3" x 77.1"
Espacio de trabajo	708 litros
Número de estanterías	4
Energía	115V, 60 Hz, 16 ^a
Peso	775 lb

Fuente: (Caron, s.f.)

c. Mezclador de pruebas

Cuadro 4. Especificaciones técnicas de mezclador de pruebas de Laboratorio Parmalat, S.A.

Modelo	Artisan KitchenAid
Alto	35.31 cm
Ancho	20.10 cm
Fondo	35.81 cm
Peso neto	10.43 kg
Energía	325 W / 60 Hz

Fuente: (KitchenAid)

d. Selladora de empaques manual

Cuadro 5. Especificaciones técnicas de selladora de empaques manual de Laboratorio Parmalat, S.A.

Modelo	FS-300B
Energía	110 v/ 60 Hz
Potencia	650 W
Largo del sellado	300 mm
Ancho del sellado	2 mm
Tamaño de máquina	440 x 83 x 225 mm
Peso de máquina	3.7 Kg

Fuente: (Brother)

3. Materiales de laboratorio

- a. Tamiz
- b. Cuchara
- c. Beaker
- d. Probetas
- e. Pipetas
- f. Varillas de agitación

D. MÉTODOS Y TÉCNICAS

1. Diseño de la investigación

Se utilizó un diseño unifactorial completamente aleatorio, con 8 tratamientos y 5 repeticiones para cada tratamiento, el diseño se presenta en el cuadro 6.

Cuadro 6. Diseño de la investigación

Tratamientos	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% aceite naranja	3.1-6% aceite naranja	1.1-3% aceite canela	0.1-1% aceite canela	0.1-2 % aceite canela y 0.1-2% aceite naranja	2.1-4 % aceite canela y 2.1-4% aceite naranja	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO-08 053-19	EPO-08 054-19	EPO-08 055-19	EPO-08 056-19	EPO-08 057-19	EPO-08 058-19	EPO-08 059-19	PPO11007 19
Inicial	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
15 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
30 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
45 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
60 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
75 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones
90 días	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones	Promedio de 5 repeticiones

2. Definición de variables

Las variables relacionadas con la investigación son las siguientes (Cuadro 7):

- Varia dependiente: Vida de anaquel
- Variables independientes: aceite de canela, aceite de naranja, benzoato de sodio, sorbato de potasio.

Cuadro 7. Definición de variables

Variable	Tipo de variable	Definición teórica	Definición operativa
Vida de anaquel	Cuantitativa discreta	Duración de un producto en el cual cumple con especificaciones según su naturaleza (Giraldo, 1999).	Se determinó a través de estudios microbiológicos
Aceite de Canela (Conservante)	Cualitativa nominal	Compuesto líquido obtenido de la corteza del árbol canelo el cual tiene como principio antimicrobiano al cinamaldehído (PDR for herbal medicine, 2008).	El porcentaje de aceite de Canela usado en la formulación
Terpenos de Naranja (conservante)	Cualitativa nominal	Compuesto líquido obtenido del aceite esencial de naranja (Yañez, 2007).	El porcentaje de Terpenos de Naranja usado en la formulación
Benzoato de sodio (Conservante)	Cualitativa nominal	Conservante sintético bactericida y fungicida para productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos (Neokem, s.f.).	El porcentaje de benzoato de sodio usado en la formulación
Sorbato de Potasio (Conservante)	Cualitativa nominal	Es un conservante que tiene una función mayor en hongos y levaduras y menor contra bacterias (COPAN, s.f.).	El porcentaje de Sorbato de Potasio usado en la formulación
Análisis Sensorial (Prueba hedónica)	Cualitativa ordinal	Es la evaluación realizada por humanos sobre un alimento determinada por los sentidos (vista, olfato, tacto y gusto) (Dr. Espinosa, 2007)	Mayor o igual a un 60% de aceptación según la escala hedónica
Estadística inferencial	Cuantitativa continua	Rama de la estadística encargada de inferir propiedades, conclusiones y tendencias, a partir de una muestra del conjunto. Su papel es interpretar, hacer proyecciones y comparaciones.	Se utilizó análisis de varianza y la prueba de Kruskal-Wallis. Significancia estadística: valor p menor o igual a 0.05
Determinación de E. Coli	Cualitativa nominal	Es una bacteria la cual al estar presente en alimentos puede generar intoxicaciones alimentarias (OMS, OMS, s.f.).	El valor aceptable para aprobar la prueba microbiológica debe ser: Ausente.
Determinación de hongos y levaduras	Cualitativa nominal	Estos son contaminantes alimentarios que tienen capacidad de deteriorar la materia prima como de generar mico toxinas generando infecciones (Camacho & al., 2009).	El valor aceptable para aprobar la prueba microbiológica debe ser: <200 UFC/g
Determinación de aerobios mesófilos	Cualitativa nominal	Microorganismos que se desarrollan en un ambiente normal, estos son indicadores de una contaminación de materia prima y posibilidad de microorganismo patógenos (Renalao, 2014).	El valor aceptable para aprobar la prueba microbiológica debe ser: <1000 UFC/g

3. Análisis estadístico

Una de las herramientas más comunes para validar resultados en la investigación científica es el uso del análisis de varianza, cuando se requiere comparar diferentes tratamientos en experimentos. Sin embargo, se deben cumplir varios supuestos para aplicar este análisis, tales como: normalidad de la variable respuesta, homogeneidad de varianzas entre los tratamientos e independencia de los datos. La técnica no paramétrica análoga al modelo

completamente al azar del análisis de varianza, es la prueba de Kruskal-Wallis y la técnica no paramétrica análoga al modelo de bloques completos al azar del análisis de varianza, es la prueba de Friedman. (Núñez-Colín, 2018.).

Por otro lado, las evaluaciones sensoriales en las que se ha empleado escala hedónica para realizar análisis sensorial de los productos que se investiga. Usualmente se recomienda el uso de la prueba de Friedman para realizar el análisis estadístico, prueba no paramétrica para comparar más de dos tratamientos valorados en escala ordinal (C, Mío, & Córdova, 2011).

En el presente estudio, para analizar los resultados del análisis microbiológico se utilizó el análisis de varianza y una prueba de comparaciones múltiples de medias (prueba de Tukey). Para analizar los resultados del análisis sensorial se utilizó la prueba de Friedman. El análisis estadístico se realizó con un nivel de confianza de 95%, por medio de Minitab 15.

E. PROCEDIMIENTOS

4. Conversión del aceite de canela en polvo

Primero se hizo un pesaje de la materia prima; se utilizó aceite de canela líquido y desecante, se mezclaron y se tamizaron para obtener un mismo tamaño de partícula.

5. Conversión del aceite de naranja en polvo

Primero se hizo un pesaje de la materia prima para la que se utilizó terpenos de naranja líquido y desecante, se mezclaron y se tamizaron para obtener el mismo tamaño de partícula.

6. Procedimiento:

El procedimiento utilizado para preparar los ocho tratamientos del diseño de la investigación (Cuadro 1), incluyó los siguientes pasos (Anexo. 1):

- a. Se pesó el polvo de frutas deshidratado, el benzoato de sodio, sorbato de potasio, aceite de naranja en polvo o aceite de canela en polvo.
- b. Se colocó en el mezclador por cinco minutos
- c. Se granuló
- d. Se tamizó
- e. Se seco
- f. Se tamizó
- g. Se mezcló
- h. Se empaquetó en una bolsa trilaminada
- i. Se etiquetó el producto mencionando el nombre y el lote

7. Ingreso a cámara de estabilidad

- a. Se tomaron los sobres con producto y se hicieron paquetes de 5 sobres, de cada uno de los lotes.
- b. Se etiquetó cada paquete con una leyenda: inicial, 15 días, 30 días, 45 días, 60 días, 75 días y 90 días.
- c. Se ingresaron a cámara de estabilidad todos los lotes con excepción del paquete inicial, el 15 de octubre del 2019.

8. Egreso de cámara de estabilidad

- a. Se egresó el lote con leyenda de 15 días el día 29 de agosto del 2019
- b. Se egresó el lote con leyenda de 30 días el día 13 de septiembre del 2019
- c. Se egresó el lote con leyenda de 45 días el día 30 de septiembre del 2019
- d. Se egresó el lote con leyenda de 60 días el día 22 de octubre del 2019
- e. Se egresó el lote con leyenda de 75 días el día 4 de noviembre del 2019
- f. Se egresó el lote con leyenda de 90 días el día 18 de noviembre del 2019

9. Envío a laboratorio de Laboratorio y Droguería Pharmalat, S.A.

- a. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda inicial
- b. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 15 días
- c. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 30 días
- d. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 45 días
- e. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 60 días
- f. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 75 días
- g. Se envió la solicitud de exámenes microbiológicos (Aerobios Totales, hongos y levaduras y *E. coli*) para los lotes con leyenda 90 días

10. Control microbiológico

- a. Aerobios mesófilos

En el método para la determinación de aerobios mesófilos se utilizó la Farmacopea de Estados Unidos, capítulo 62 "Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos". Los aerobios mesófilos, para aprobar los estándares de calidad deben estar entre rango menor de 1000 UFC/g, establecido internamente por el Departamento de control de calidad del Laboratorio y Droguería Pharmalat.

Debido a que el Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA) no solicita este análisis para la categoría en la que está clasificada y la Farmacopea de Estados Unidos (USP) en el capítulo 2023 "Atributos microbiológicos de suplementos nutricionales y dietéticos no estériles", establece que, para la categoría de suplementos nutricionales con ingredientes sintéticos o altamente refinados, debe tener un recuento menor a 2,000 UFC/g (Anexo 2)

b. Hongos y levaduras

En el método para la determinación de hongos y levaduras se utilizó la Farmacopea de Estados Unidos, el capítulo 62 “Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos”. Los hongos y levaduras, para aprobar los estándares de calidad deben estar en un rango menor de 200 UFC/g, establecido internamente por el Departamento de control de calidad del Laboratorio y Droguería Pharmalat.

La recomendación de la USP del capítulo 2023 “Atributos microbiológicos de suplementos nutricionales y dietéticos no estériles”, establece que para la categoría de suplementos nutricionales con ingredientes sintéticos o altamente refinados debe ser menor a 200 UFC/g (Anexo 2). El RTCA no solicita este análisis para la categoría en la cual está clasificada

c. *Escherichia coli*

En el método para la determinación de *E. coli* se utilizó la Farmacopea de Estados Unidos, capítulo 62 “Examen microbiológico de productos no estériles: pruebas de microorganismos específicos”. La *E. coli*, para aprobar los estándares de calidad debe **estar ausente**, establecido internamente por el Departamento de control de calidad del Laboratorio y Droguería Pharmalat.

La especificación de calidad de *E. coli* se basó en la USP en el capítulo 2023 “Atributos microbiológicos de suplementos nutricionales y dietéticos no estériles” establece que para la categoría de suplementos nutricionales con ingredientes sintéticos o altamente refinados debe ser ausente (Anexo 2) y en el RTCA menciona que para la categoría en la cual ellos lo clasifican de “Bebida envasadas no carbonatas (como jugos pasteurizados, productos concentrados y mezclas en polvo artificiales)” puede tener < 3 NMP/ml o g, (Anexo 3)

11. Prueba hedónica

La prueba para la evaluación sensorial es una prueba hedónica de 5 puntos, cuyo propósito es conocer el agrado o desagrado de las personas hacia tres diferentes lotes para determinar cuál es la mejor opción de preservante en bebidas en polvo. La boleta incluyó un total de tres muestras: la muestra (PPO1100719) y dos muestras de lotes adicionales sugeridos por el análisis estadístico de las pruebas microbiológicas (Anexo 4).

Para la realización de la prueba hedónica se utilizó el salón de ideas de Laboratorio Pharmalat, S.A. Participaron 49 personas colaboradoras de la empresa por medio de una solicitud a recursos humanos. Para la realización de la prueba, los colaboradores se dividieron en cinco grupos de 10 personas cada uno para hacer un total de 49 boletas.

Las muestras, previamente codificadas, fueron presentadas ordenadamente a cada panelista para su degustación (de izquierda a derecha), con opción a reprobar (en el caso del sabor, tenían que proceder a enjuagar con agua). Cada panelista se constituye en un bloque, en términos experimentales. Las muestras fueron colocadas al azar, de manera que cada muestra apareciera el mismo número de en cada posición. La prueba inició con la colocación de las muestras, boleta, lapicero y agua pura. Se les dio una pequeña charla introductoria de los pasos correctos para la realización de la prueba a los panelistas.

IX. RESULTADOS

A. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Como parte de la experimentación se realizó análisis microbiológico a 8 tratamientos mediante tres análisis microbiológicos: recuento de aerobios totales, mohos y levaduras, y recuento de *E. coli*. En el proceso se realizó una prueba inicial, seguido de una prueba cada 15 días por 90 días, los productos estuvieron en cámara de estabilidad en condiciones de 40°C/75% HR. El propósito de realizar análisis microbiológicos cada 15 días desde el día inicial de producción, se debe a que se quería determinar el tiempo exacto de la vida útil del producto. El promedio y la desviación estándar de los resultados de los análisis microbiológicos se presentan en el cuadro 8 (recuento de aerobios total), el cuadro 11 (recuento de mohos y levaduras) y el cuadro 14 (recuento de *E. coli*).

En el cuadro 8 se aprecia que los tratamientos C y F, mostraron menor recuento de aerobios totales, comparado con los demás tratamientos.

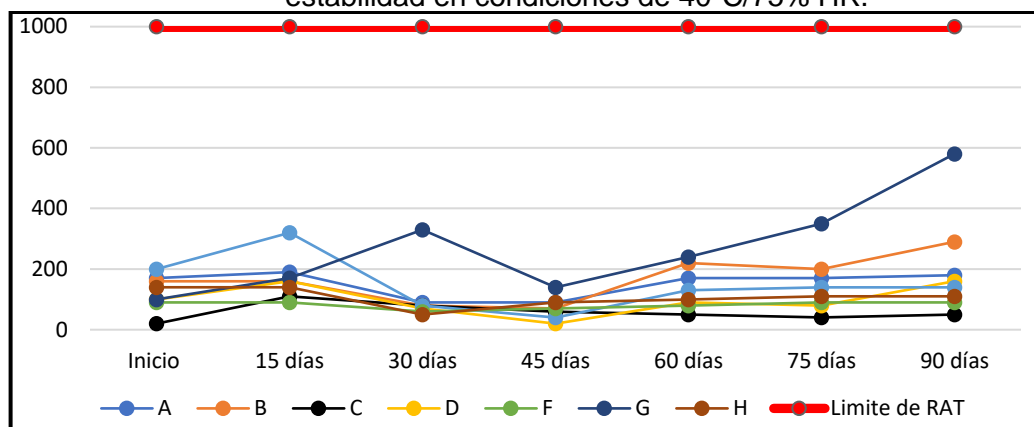
Cuadro 8. Promedio +/- desviación estándar (D.E.), prueba de recuento de aerobios total de 8 tratamientos realizados cada 15 días, desde el día inicial hasta 90 días en cámara de estabilidad, en condiciones de 40°C/75% HR.

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela-0.1-2% naranja	2.1-4% naranja-2.1-4% canela	Muestra sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-053-19	EPO08-054-19	EPO08-055-19	EPO08-056-19	EPO08-057-19	EPO08-058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	170	160	20	100	200	90	100	140
15 días	190	160	110	160	320	90	170	140
30 días	90	80	80	70	80	60	330	50
45 días	90	70	60	20	40	70	140	90
60 días	170	220	50	90	130	80	240	100
75 días	170	200	40	80	140	90	350	110
90 días	180	290	50	160	140	90	580	110
D.E.	42.59	77.55	29.11	49.9	90.37	12.15	164.69	31.01

Fuente: Anexo 5 y cuadro 10.

En la gráfica 1 se aprecia que los 8 tratamientos están por debajo del **límite del recuento de aerobios totales**, pero el tratamiento C tiene un valor menor de Unidades Formadoras de Colonia, al inicio y a partir de los 60 días, hasta los 90 días de almacenamiento en cámara de estabilidad.

Gráfica 1. Promedio +/- desviación estándar, recuento de aerobios totales (RAT) de 8 tratamientos realizados cada 15 días, desde el día inicial hasta 90 días en cámara de estabilidad en condiciones de 40°C/75% HR.



Los resultados del ANOVA muestran que el valor de **p** es menor a 0.001, por lo tanto, existe diferencia significativa entre los 8 tratamientos. Para determinar cuáles son los mejores tratamientos se aplicó la prueba de Tukey (Cuadro 9).

Cuadro 9. Resultados del ANOVA unidireccional para el recuento de aerobios totales de los 8 tratamientos (A, B, C, D, E, F, G y H)

Fuente	GI	SC	MC	F	Valor p
Tratamientos	7	221371	31624	5.32	0.000*
Error	48	285400	5946		
Total	55	506771			

**p < 0.001

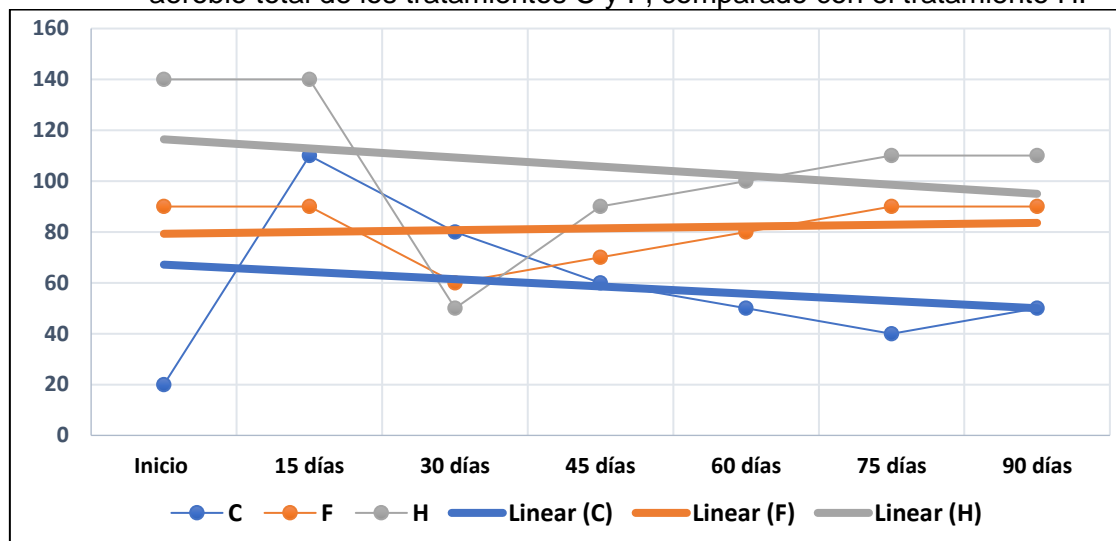
Los resultados de la prueba de Tukey muestran que los dos tratamientos que tienen menor recuento de aerobios totales, son los tratamientos C y F. Debido a que el intervalo de confianza no incluye el cero, la diferencia en el recuento aerobio total, respecto a los demás tratamientos, es estadísticamente significativa (Cuadro 10).

Cuadro 10. Resultados de la prueba de Tukey, para el recuento aerobio total de 8 tratamientos (A, B, C, D, E, F, G y H)

Tratamiento	N	Media	Desv. Est. (σ)	I.C. al 95%
A	7	151.4	42.59	(114.3, 182.4)
B	7	168.6	77.55	(-113.42, 17.14)
C	7	58.57	29.11	(-223.42, -92.86)
D	7	97.14	49.9	(-184.85, -54.29)
E	7	150.0	90.37	(-132.00, -1.43)
F	7	81.43	12.15	(-200.57, -70.00)
G	7	272.9	164.69	(-9.14, 121.43)
H	7	105.7	31.01	(-176.28 -45.71)

La tendencia del tratamiento C y el tratamiento H forman líneas paralelas, por lo tanto, el mecanismo de acción de los conservantes presentes en la formulación de estos tratamientos, es similar contra las bacterias aerobias (Gráfica 2).

Gráfica 2. Comparación de tendencias de los promedios +/- desviación estándar, del recuento aerobio total de los tratamientos C y F, comparado con el tratamiento H.



El tratamiento C y D determinan, que a mayor concentración de aceite de canela menor es el conteo de UFC. El tratamiento A y B concluyen, que a mayor cantidad de terpenos de naranja mayor conteo de UFC. El tratamiento G establece que el uso de conservantes en el producto no es necesario debido al bajo porcentaje de humedad. (Cuadro 11)

En el cuadro 11 se aprecia que los tratamientos C y F, mostraron menor recuento de mohos y levaduras, comparado con los demás tratamientos.

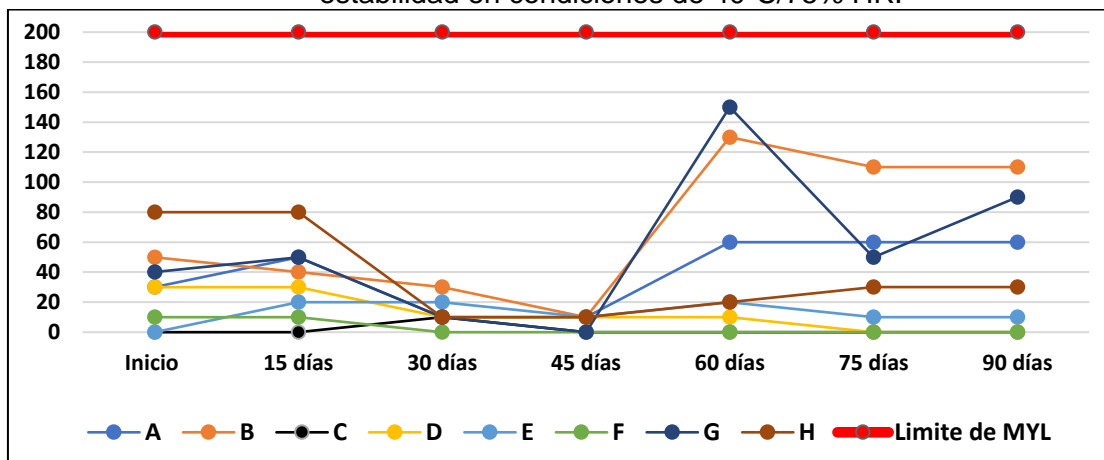
Cuadro 11. Promedio +/- desviación estándar (D.E.) recuento de mohos y levaduras, de 8 tratamientos realizados cada 15 días, desde el día inicial hasta 90 días en la cámara de estabilidad en condiciones de 40°C/75% HR.

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela 0.1-2% naranja	2.1-4% naranja- 2.1-4% canela	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-053-19	EPO08-054-19	EPO08-055-19	EPO08-056-19	EPO08-057-19	EPO08-058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	30	50	0	30	0	10	40	80
15 días	50	40	0	30	20	10	50	80
30 días	10	30	10	10	20	0	10	10
45 días	10	10	0	10	10	0	0	10
60 días	60	130	0	10	20	0	150	20
75 días	60	110	0	0	10	0	50	30
90 días	60	110	0	0	10	0	90	30
D.E.	23.09	47.06	3.78	12.54	7.56	4.88	50.94	30.39

Fuente: Anexo 6 y Cuadro 13.

La gráfica 3 muestra que los 8 tratamientos están por debajo del **límite del recuento de mohos y levaduras**.

Gráfica 3. Promedio +/- desviación estándar, recuento de mohos y levaduras (MYL), de 8 tratamientos realizados cada 15 días, desde el día inicial hasta 90 días en cámara de estabilidad en condiciones de 40°C/75% HR.



Los resultados del ANOVA muestran que el valor de **p** es menor a 0.001, por lo tanto, existe diferencia significativa entre los 8 tratamientos. Para determinar cuáles son los mejores tratamientos se aplicó la prueba de Tukey (Cuadro 12).

Cuadro 12. Resultados del ANOVA unidireccional para el recuento de mohos y levaduras de los 8 tratamientos (A, B, C, D, E, F, G y H)

Fuente	GI	SC	MC	F	Valor p
Tratamientos	7	31021	4432	5.44	0.000*
Error	48	39114	815		
Total	55	70136			

**p < 0.001

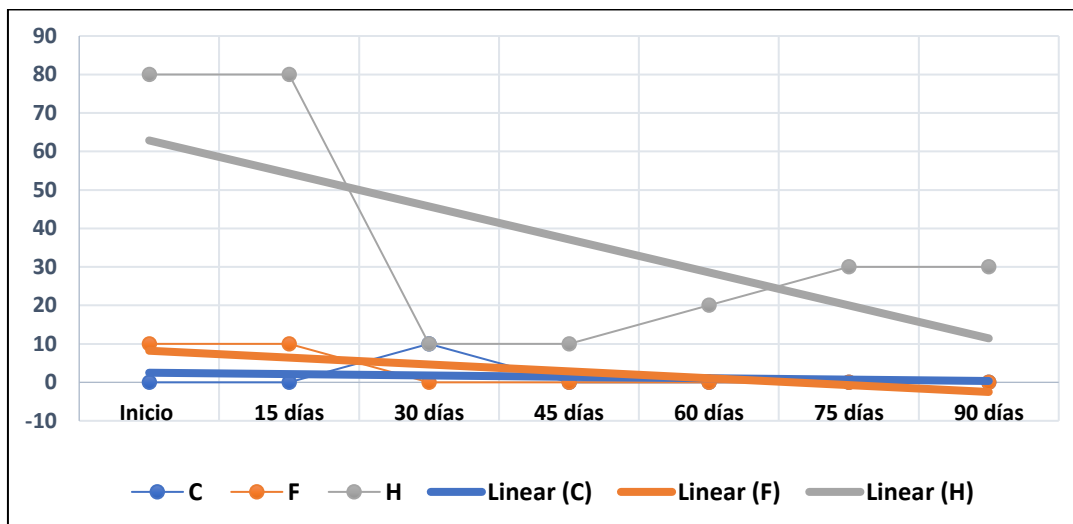
Los resultados de la prueba de Tukey muestran que los dos tratamientos que tienen un menor recuento de mohos y levaduras, son los tratamientos C y F. Debido a que el intervalo de confianza no incluye el cero, la diferencia en el recuento de mohos y levaduras, respecto a los demás tratamientos, es estadísticamente significativa (Cuadro 13).

Cuadro 13. Resultados de la prueba de Tukey, para el recuento mohos y levaduras de 8 tratamientos (A, B, C, D, E, F, G y H)

Tratamiento	N	Media	Desv. Est. (σ)	I.C. 95%
A	7	40.00	23.09	(9.0, 74.4)
B	7	68.57	47.06	(-19.77, 28.57)
C	7	1.43	3.78	(-86.91, -38.57)
D	7	12.86	12.54	(-75.48, -27.14)
E	7	12.86	7.56	(-75.48, -27.14)
F	7	2.86	4.88	(-85.48, -37.14)
G	7	55.71	50.94	(-32.62, 15.71)
H	7	37.14	30.39	(-51.19, -2.86)

La gráfica 4 muestra que el tratamiento C inicia con un menor conteo de mohos y levaduras y se mantiene hasta los 90 días, comparado con los tratamientos F y H, que disminuyen.

Gráfica 4. Comparación de tendencia de promedios +/- desviación estándar, del recuento de mohos y levaduras de los tratamientos C y F comparado con el tratamiento H.



Las buenas prácticas de manufactura que se aplican en el Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., no permiten la presencia de *E. coli* en el producto analizado, en los 8 tratamientos, desde el inicio hasta los 90 días (Cuadro 14).

Cuadro 14. Promedio +/- desviación estándar, recuento de *E. coli*, de 8 tratamientos realizados cada 15 días, desde el día inicial hasta 90 días en cámara de estabilidad en condiciones de 40°C/75% HR.

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela 0.1-2% naranja	2.1-4% naranja 2.1-4% canela	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-053-19	EPO08-054-19	EPO08-055-19	EPO08-056-19	EPO08-057-19	EPO08-058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
15 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
30 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
45 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
60 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
75 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
90 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

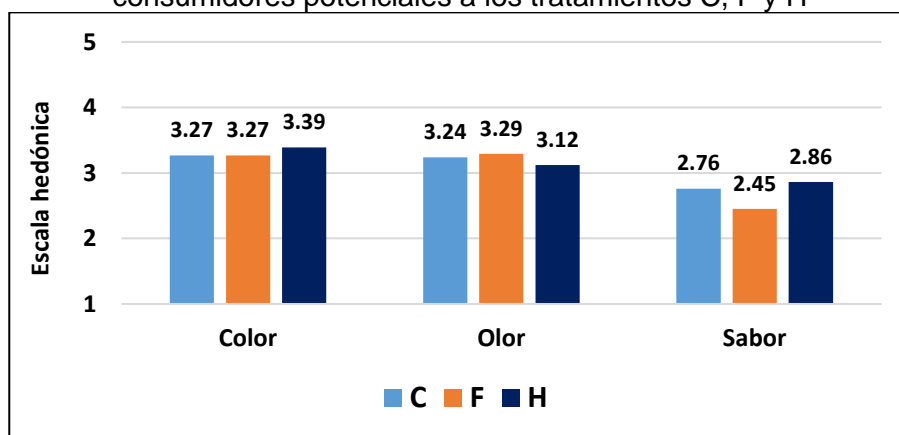
Fuente: Anexo 7

B. ANÁLISIS SENSORIAL

El olor, color y sabor del polvo para preparar bebida de frutas con los tratamientos C, F y H, fue evaluado sensorialmente por 49 consumidores potenciales, usando escalas hedónicas de 5 puntos (el valor 1 significa me disgusta extremadamente y el valor 5 significa me gusta extremadamente).

Respecto al color, los tratamientos C y F tienen valores iguales y el tratamiento H tiene un valor ligeramente mayor. Respecto al olor, el tratamiento F tiene un valor superior a los tratamientos C y H. Respecto al sabor, el tratamiento H tiene el mayor valor y el tratamiento F, el menor valor Gráfica 5).

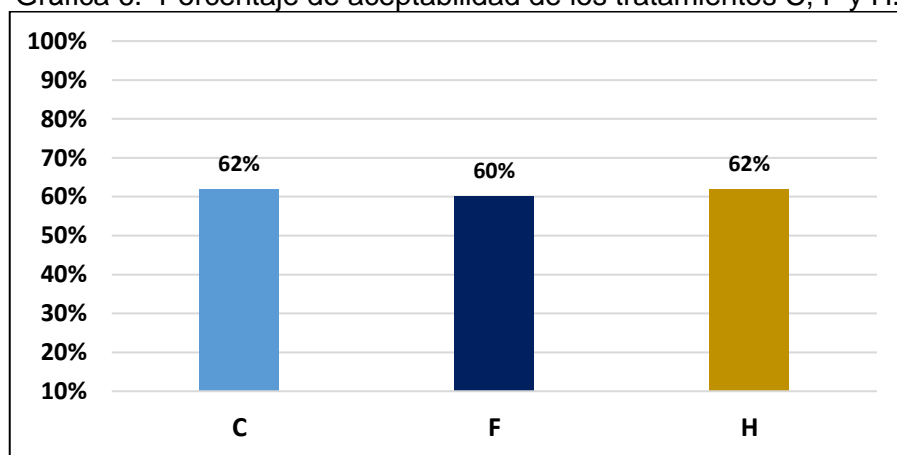
Gráfica 5. Promedio de calificación asignado al color, olor y sabor asignado por 49 consumidores potenciales a los tratamientos C, F y H



Fuente: Anexo 8-10

Los resultados de la prueba hedónica muestran que los porcentajes de aceptabilidad de los tratamientos C, F y H, son similares (Gráfica 6).

Gráfica 6. Porcentaje de aceptabilidad de los tratamientos C, F y H.



Fuente: Anexo 11

Los resultados de la prueba de Friedman muestran que el valor p es mayor a 0.05, por lo tanto, no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos C, F y H, respecto al color, olor y sabor (Cuadros 15, 16 y 17). Estos resultados muestran que la aceptabilidad de los tratamientos C, F y H, es similar.

Cuadro 15. Resultados de la prueba de Friedman sobre la característica sensorial de color realizada por 49 consumidores potenciales

Tratamiento	N	Mediana	GL	Suma clasificaciones	Estadístico Friedman	Valor P
C	49	3	2	98.5	0.32	0.854
F	49	3	2	95	0.56	0.754
H	49	3	2	100.5		

Cuadro 16. Resultados de la prueba de Friedman sobre la característica sensorial de olor realizada por 49 consumidores potenciales

Tratamiento	N	Mediana	GL	Suma clasificaciones	Estadístico Friedman	Valor P
C	49	3	2	99.5	2.21	0.331
F	49	3	2	104.5	3.59	0.166
H	49	3	2	90		

Cuadro 17. Resultados de la prueba de Friedman sobre la característica sensorial de sabor realizado por 49 consumidores potenciales

Tratamiento	N	Mediana	GL	Suma clasificaciones	Estadístico Friedman	Valor P
C	49	2	2	99.5	4.36	0.113
F	49	2	2	87	5.69	0.06
H	49	2	2	107.5		

X. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El uso de los preservantes es indispensable a nivel industrial, debido a su capacidad de alargar la vida útil de los productos alimenticios, actualmente las industrias alimentarias utilizan principalmente conservantes sintéticos, que producen efectos nocivos en la salud del consumidor (Raposa & al., 2016) (Silva & Cebola, 2016) (Gómez L. , 2018). Debido a esta situación, es importante estudiar compuestos naturales tales como los aceites esenciales, que tienen actividad antimicrobiana (Adeyinka & Richard, 2015).

Las propiedades de los aceites esenciales derivados de las plantas han sido reconocidas empíricamente durante siglos, pero sólo recientemente se han confirmado en forma científica. Pueden ser utilizados como agentes antimicrobianos y antioxidantes en los productos alimenticios, tanto para prolongar su vida útil como para mantener y potenciar su calidad y características organolépticas (Ceballos Toro & Londoño Giraldo, 2017).

En el presente estudio se realizó análisis microbiológico a 8 tratamientos (A, B, C, D, E, F, G, y H) mediante recuento de aerobios totales, mohos y levaduras, y recuento de *E. coli*. Los resultados del estudio, sustentados por certificados de estudio de estabilidad acelerada (Anexo 12-19), mostraron que los 8 tratamientos están por debajo del límite del recuento de aerobios totales, pero el tratamiento C tiene valor menor de Unidades Formadoras de Colonia, al inicio y a partir de los 60 días, hasta los 90 días de almacenamiento en cámara de estabilidad. Además, los 8 tratamientos están por debajo del límite del recuento de mohos y levaduras. Las buenas prácticas de manufactura que se aplican en el Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., no permiten la presencia de *E. coli*. en el producto analizado, en los 8 tratamientos, desde el inicio hasta los 90 días.

Utilizando Minitab 15, se aplicó análisis de varianza y prueba de Tukey a los resultados del análisis microbiológico de los 8 tratamientos. El tratamiento que contiene 1.1-3% aceite de canela (tratamiento C) y la mezcla 2.1-4 % aceite de canela y 2.1-4% aceite de naranja (tratamiento F), mostraron mejor efecto conservante, comparado con la mezcla benzoato de sodio/sorbato de potasio (tratamiento H), ($p < 0.001$). Sin embargo, el tratamiento C mostró el mejor efecto para reducir la carga microbiana en el polvo para preparar bebida de frutas. El estudio mostró que el aceite de canela tiene mayor propiedad antimicrobiana, comparado con los terpenos de naranja solos o mezclados con canela.

Los resultados del presente estudio concuerdan con lo reportado por otros investigadores. Yuste, J. (2004) realizó un estudio para comprobar la efectividad de la niacina y la canela en la inhibición de *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli* en jugo de manzana pasteurizado, determinó que la canela posee efecto inhibitorio sobre estos dos microorganismos (Yuste, 2004). Juárez J, y col. (2010) reportaron que el aceite esencial de *Citrus sinensis* L. posee actividad antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25933 y *Staphylococcus epidermidis* (Juárez & al, 2010).

Por otro lado, García-Camarillo, y col. (2006) evaluaron los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) para determinar su actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Ambos aceites presentaron actividad fungicida in vitro contra *A. flavus*. Sin embargo, el aceite esencial de canela mostró mayor inhibición que el aceite esencial de orégano (García & Quezada, 2006). Los resultados de estos investigadores corroboran la actividad antifúngica de la canela, reportada en el presente estudio.

En el caso del terpeno de naranja, Quintana-Obregón y col. (2017) reportaron que la mezcla de terpenos de naranja mostró propiedad antifúngica in vitro y puede ser considerado como una alternativa viable para el control de *Alternaria tenuissima* (Quintana, Sánchez, Cortez, & González, 2017). Sin embargo, en el presente estudio, los terpenos solos o mezclados con canela, mostraron menor efecto antifúngico, comparados con la canela.

Los compuestos de los aceites esenciales pueden interactuar para causar efectos sinérgicos, aditivos, indiferentes o antagonistas. Se cree, por ejemplo que el eugenol y el timol trabajan sinérgicamente; el timol al interrumpir y desintegrar la membrana externa de especies Gramnegativas y permitir que el eugenol acceda al citoplasma y destruya las enzimas. (Ceballos Toro & Londoño Giraldo, 2017).

En el presente estudio, la mezcla compuesta por 2.1-4 % aceite de canela y 2.1-4% aceite de naranja (tratamiento F) no mostró mejores resultados para reducir la carga microbiana, comparado con el tratamiento C, que contiene 1.1-3% aceite de canela. Es probable que los terpenos de naranja actuaron como antagonistas del aceite de canela y disminuyeron su eficacia. Posiblemente, si se cambian los porcentajes de ambos aceites esenciales en la mezcla, mejore su efecto antimicrobiano.

Por otro lado, el aceite de canela y los terpenos de naranja presentaron oxidación y evaporación debido a las condiciones exteriores de almacenamiento, lo que provocó cambio de coloración del producto en estado físico a partir del día 75 en adelante, que afectó la vida de anaquel del producto. Simionato (2019), reportó que la encapsulación del aceite de canela en nanoesporas de ciclodextrina, ayuda a la solubilidad y el aceite funciona como antibacteriano. Además, la liberación controlada lograda por su encapsulación permitió que el aceite esencial de canela fuera efectivo a una concentración mucho menor en el medio de cultivo, comparado con su efecto cuando se disuelve únicamente en el medio de cultivo (Simionato, 2019).

El olor, color y sabor del polvo para preparar bebida de frutas con los tratamientos C, F y H, fue evaluado sensorialmente por 49 consumidores potenciales, usando escalas hedónicas de 1 a 5 puntos (el valor 1 significa me disgusta extremadamente y el valor 5 significa me gusta extremadamente).

Los promedios de la escala hedónica muestran que, respecto al color los tratamientos C (3.27) y F (3.27) tienen valores iguales y el tratamiento H (3.39) valor ligeramente mayor. Respecto al olor, el tratamiento F (3.29) tiene valor superior a los tratamientos C (3.24) y H (3.12). Respecto al sabor, el tratamiento H (2.86) tiene el mayor valor, el tratamiento C (2.76) tiene valor intermedio y el tratamiento F (2.45), tiene el menor valor. Sin embargo, los porcentajes de aceptabilidad de los tratamientos C (62%), F (60%) y H (62%), son similares. Por otro lado, los resultados de la prueba de Friedman muestran que el valor p es mayor a 0.05, por lo tanto, no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos C, F y H, respecto al color, olor y sabor. Estos resultados muestran que la aceptabilidad de los tratamientos C, F y H, son similares.

En el presente estudio se determinó que el uso de aceites esenciales y/o terpenos de naranja no afectaron la aceptabilidad del producto en bebidas en polvo, comparado con conservantes químicos. Sin embargo, (Astudillo, 2016), reportó que hubo diferencias significativas en el olor y sabor de salchichas de pollo elaboradas, utilizando aceites naturales esenciales (romero, comino y canela) como conservantes. Burt (2004) en el estudio de aceites esenciales con sus propiedades antibacterianas y uso en alimentos,

recomienda que los efectos organolépticos indeseables pueden limitarse mediante una cuidadosa selección de aceites esenciales según el tipo de alimento (Burt, 2004).

El tratamiento que contiene 1.1-3% aceite de canela mostró el mejor efecto para reducir la carga microbiana en el polvo para preparar bebida de frutas. Por lo tanto, se puede utilizar como conservante en otros productos alimenticios con características similares; sin embargo, se debe evaluar su aceptabilidad.

XI. CONCLUSIONES

1. El tratamiento que contiene 1.1-3% aceite de canela (tratamiento C) y la mezcla 2.1-4 % aceite de canela y 2.1-4% aceite de naranja (tratamiento F), mostraron mejor efecto conservante, comparado con la mezcla benzoato de sodio/sorbato de potasio (tratamiento H). Sin embargo, el tratamiento C mostró el mejor efecto para reducir la carga microbiana ($p < 0.001$).
2. Los resultados del análisis sensorial mostraron que los porcentajes de aceptabilidad de los tratamientos C (62%), F (60%) y H (62%), son similares. Además, no existe diferencia estadística significativa en el olor, color y sabor del polvo para preparar bebida de frutas entre los tratamientos C, F y H, es decir, su aceptabilidad es similar ($p > 0.05$).
3. El aceite de canela y los terpenos de naranja presentaron oxidación y evaporación debido a las condiciones exteriores de almacenamiento, lo cual provocó cambio de coloración del producto en estado físico a partir del día 75 en adelante, afectando la vida útil de anaquel del producto.

XII. RECOMENDACIONES

1. Utilizar el aceite de canela en futuras investigaciones si la naturaleza del producto lo permite, por su mayor eficacia en los resultados microbiológicos y aceptabilidad similar a los conservantes químicos.
2. Realizar un estudio utilizando aceite de canela contra la cepa de *E. coli*, porque por las Buenas Prácticas de Manufactura que se aplica en el Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., no se observó presencia de *E. coli* en el polvo para preparar bebida de frutas. Sin embargo, existen estudios que reportan que el aceite de canela inhibe el crecimiento de *E. coli*.
3. Utilizar aceite de canela encapsulado, ya que este aceite esencial no tiene solubilidad en agua, además, es sensible a la temperatura, luz y presencia de oxígeno. Sin embargo, la liberación controlada permite que el aceite esencial de canela sea efectivo a una concentración mucho menor en el medio de cultivo. Por lo tanto, se debe determinar los porcentajes de aceite de canela encapsulados que son efectivos para inhibir el crecimiento microbiano en productos alimenticios.

XIII. REFERENCIAS

iii.

Adeyinka, A., & Richard, F. (2015). Application of phytochemical extracts and essential oils in food products: A review. *International Journal of Biotechnology and Food Science*, 31-35.

Anand, S., & Sati, N. (2013). ARTIFICIAL PRESERVATIVES AND THEIR HARMFUL EFFECTS: LOOKING TOWARD. *International Journal of Pharmaceutical science and research*, 2496-2501.

Arroyave, N. (2017). *El análisis sensorial de alimentos como herramienta para la caracterización y control de calidad*. Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.

Astudillo, S. (2016). *Utilización de aceites esenciales naturales como conservante en la elaboración de salchichas de pollo*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7009/1/UPS-CT003676.pdf>

Badui, S. (1990). *Química de los alimentos. Segunda edición*. México, D.F.: Alhambra Mexicana, S.A.

Bakkaliab, F; Averbecka, S; Averbecka, D; Idaomar, M. (Febrero de 2008). *Elsevier*. Obtenido de Biological effects of essential oils .

Bassolé, I., & H., J. (29 de Marzo de 2012). *Molecules*. Obtenido de Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties.

Brother. (s.f.). *Mc Brawn*. Obtenido de Selladora FS-300B: <https://mcbrawn.com/selladoras-de-bolsas/selladora-fs-300b.html>

Burt, S. (3 de Marzo de 2004). *Elsevier*. Obtenido de Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods.

C, M., Mío, E., & Córdova, K. (2011). Comparaciones múltiples no paramétricas en la evaluación sensorial de la apariencia y sabor de tres marcas de cerveza comercial. *ECIPERÚ, Volumen 8, número 2,*

Camacho, A., & al., E. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. Obtenido de Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Caron. (s.f.). *Medical Expo*. Obtenido de Environmental Chambers 7000: <https://pdf.medicaexpo.es/pdf-en/caron/environmental-chambers-7000-series/118729-177269.html#open>

Castro Rios, K. (2010). *Tecnología de alimentos*. Colombia : Ediciones de la U. .

Ceballos Toro, V., & Londoño Giraldo, L. (2017). Aceites esenciales en la conservación de alimentos. *Microciencia Vol.6*, 1-13.

Ciriminna, R., & al., E. (2014). Limonene: a versatile chemical of the bioeconomy. *ChemComm*, 15288--15296.

COPAN. (s.f.). *COPAN*. Obtenido de sorbato de potasio: http://copan.cl/pdf/F_Fracc_spotasio.pdf

Corriher, S., & Corriher, T. (2013). *Defy your doctor and be healed*. North Carolina, United States of America: Health Wyze.

- Cubillo, M. (2007). *Determinación de la actividad antimicrobiana de algunas especies naturales sobre microorganismos asociados a alimentos*. San José, Costa Rica : Universidad de Costa Rica.
- Da Rosa, R., & al., E. (22 de Diciembre de 2014). *Dominguezia*. Obtenido de Análisis micrográfico y fitoquímico de muestras comerciales de “canela”.
- Dolores Castañeda, A., & al, E. (14 Agosto 2018). Actividad antimicrobiana del aceite de naranja residual. *UNED, Vol. 10*, 469-474.
- Dr. Espinosa, J. (2007). *Evaluación sensorial de los alimentos* . La Habana, Cuba: Universitaria.
- FAO. (s.f.). Obtenido de Prevención de E.Coli en los alimentos :
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
- FDA. (s.f.). *Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos de Seguridad alimentaria para futuras mamás*. Obtenido de <https://www.fda.gov/food/people-risk-foodborne-illness/los-14-patogenos-principales-transmitidos-por-los-alimentos-de-seguridad-alimentaria-para-futuras>
- Fisher, K., & Phillips, C. (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal of Applied Microbiology*, 1232-1240.
- García, E., & Quezada, M. E. (2006). Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangerh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 24, núm. 1,, 8-12.
- Giraldo, G. (1999). *MÉTODOS DE ESTUDIO DE VIDA DE ANAQUEL DE LOS ALIMENTOS*. Manizalez, Colombia: UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA.
- Gómez, A., & López, A. (2009). Potencial antimicrobiano de los aceites de óregano y canela. *Temas selectos de ingeniería en alimentos* 3, 33-45.
- Gómez, L. (2018). *Perfil de riesgo de aditivos químicos en encurtidos*. Bogotá, Colombia : Universidad de la Salle .
- Hernández, P. (2010). *Monografía XXXI: Aspectos higiénicos de los alimentos microbiológicamente seguros*. Obtenido de Bacterias patógenas emergentes transmisibles:
<http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1111/1128>
- Hernandez, E. (2005). *Evaluación sensorial* . Bogota: UNAD.
- Juárez, J., & al, E. (2010). COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Citrus sinensis* L. (Naranja dulce) Y FORMULACIÓN DE UNA FORMA FARMACÉUTICA. *Ciencia e Investigación* , 13(1): 9-13.
- KitchenAid. (s.f.). *KitchenAid*. Obtenido de Artisan: <https://www.kitchenaid.mx/enseres-menores/batidoras/batidoras-de-tazon-inclinable/p.batidora-artisan-de-kitchenaid-4.8-l-color-gris-meta%CC%81lico.ksm150psmc.html>

- Lai, P., & Roy, J. (2004). Antimicrobial and Chemopreventive Properties of Herbs and Spices. *Current Medicinal Chemistry*, 1451-1460.
- Lemmel, J. (Enero de 2008). *OFFARM*. Obtenido de conservantes, tipos y sistemas de conservación VOL 27.
- Liria, M. (2007). *Guía para la Evaluación Sensorial*. Lima.
- López., M. (2004). Los aceites esencialesAplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *OFFARM, VOL 23 NÚM 7 JULIO-AGOSTO*, 88-91.
- Mandal, S., DebMandal, M., Saha, K., Kumar, N. . (2011). In Vitro Antibacterial Activity of three Indian Spices Against MethicillinResistant Staphylococcus aureus. *Oman Medical Journal*, 319-323.
- Martínez, A. (2003). *ACEITES ESENCIALES*. Obtenido de http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- McCann, D., & al, E. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 1560-1567.
- Montero, M., & al., E. (2017). Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre Cepas de Salmonella. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*, 987-993.
- Naveed, R., & al., E. (2013). Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against Salmonella and other multi-drug resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1-10.
- Neokem. (s.f.). *Neokem*. Obtenido de benzoato de sodio : <https://www.neokem.mx/benzoato-de-sodio-aplicaciones.pdf>
- Núñez-Colín. (2018.). Análisis de varianza no paramétrica: un punto de vista a favor parautilizarla. *Acta Agrícola y pecuaria*, 69-79.
- O'Bryan, C., Crandall, P., Chalova, V., & Ricke, S. (2008). Orange Essential Oils Antimicrobial Activities against Salmonella spp. *Jorunal of food Science*, M264-M267.
- OHAUS. (s.f.). *OHAUS*. Obtenido de PA4202C: <https://asiapacific.ohaus.com/en-AP/Products/Balances-Scales/Precision-Balances/Pioneer-Plus-Precision/Electronic-Balance-PA4202C>
- OMS. (2008). *Anexo 5. Directrices para las pruebas de estabilidad de productos farmacéuticos que contienen sustancias medicamentosas bien establecidas en formas farmacéuticas corrientes*.
- OMS. (7 de Febrero de 2018). *Organizacion Mundial de la Salud*. Obtenido de E. coli : <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- OMS. (s.f.). *OMS*. Obtenido de E.coli: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

- Pastrana, Y., Durango, A., & Acevedo, D. (2017). EFECTO ANTIMICROBIANO DEL CLAVO y LA CANELA SOBRE PATOGENOS. *Biotechnologia en el sector agropecuario y agroindustrial*, 56-65.
- PDR for herbal medicine*. (2008). Montvale, NJ, United States: Medical Economics Data,U.S.
- Peredo, H., García, E., & López, A. (2009). *Departamento de ingeniería química y alimentos, Universidad de las Atericas Puebla*. Obtenido de Aceites esenciales: métodos de extracción.
- Quintana, E., Sánchez, R., Cortez, M., & González, G. (2017). Actividad antifúngica in vitro demezcla de terpenos de naranja contra *Alternaria tenuissima*. *Rev. Mex. Micologia vol.45*
- Raposa, B., & al., E. (2016). Food additives: Sodium benzoate, potassium sorbate, azorubine, and tartrazine modify the expression of NFκB, GADD45α, and MAPK8 genes. *Physiology International*, 334–343.
- Red nacional de laboratorios oficiales de análisis de alimentos*. (2014). Obtenido de Metodología analítica oficial microorganismos indicadores:
http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_II.pdf
- Reglamento Tecnico Centro Americano* . (2012). Obtenido de Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios. RTCA 67.04.54:10.
- Renaloea. (2014). *Renaloea* . Obtenido de ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO:
http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_II.pdf
- Reus, K., Houben, G., Stam, M., & A., D. (16 de Septiembre de 2000). *Academisch Ziekenhuis, afd. Allergologie, Groningen*. Obtenido de Food additives as a cause of medical symptoms: relationship shown between sulfites and asthma and anaphylaxis; results of a literature review.
- Serrano, H., & Cardona, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Medicina*, 143-152.
- Sharma, S. (Abril de 2015). *International Journal of Scientific and Research Publications*,. Obtenido de Food Preservatives and their harmful effects.
- Silva, M., & Cebola, F. (2016). Food preservatives – An overview on applications and side effects. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 366-373.
- Simal Gandara, J., Simal Lozano, J., & Paseiro, P. (1989). Los aditivos conservadores de los productos alimenticios. *OFFARM*, 35-37.
- Simionato, I., & al., E. (2019). Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanospheres and their potential use for antimicrobial food packaging. *ELSEVIER*, 132, 110647.
- Velazquez, J. (s.f.). *Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*. Obtenido de PROBLEMAS DE SALUD OCASIONADOS POR LOS ADITIVOS, PRESERVATIVOS, COLORANTES Y SABORES

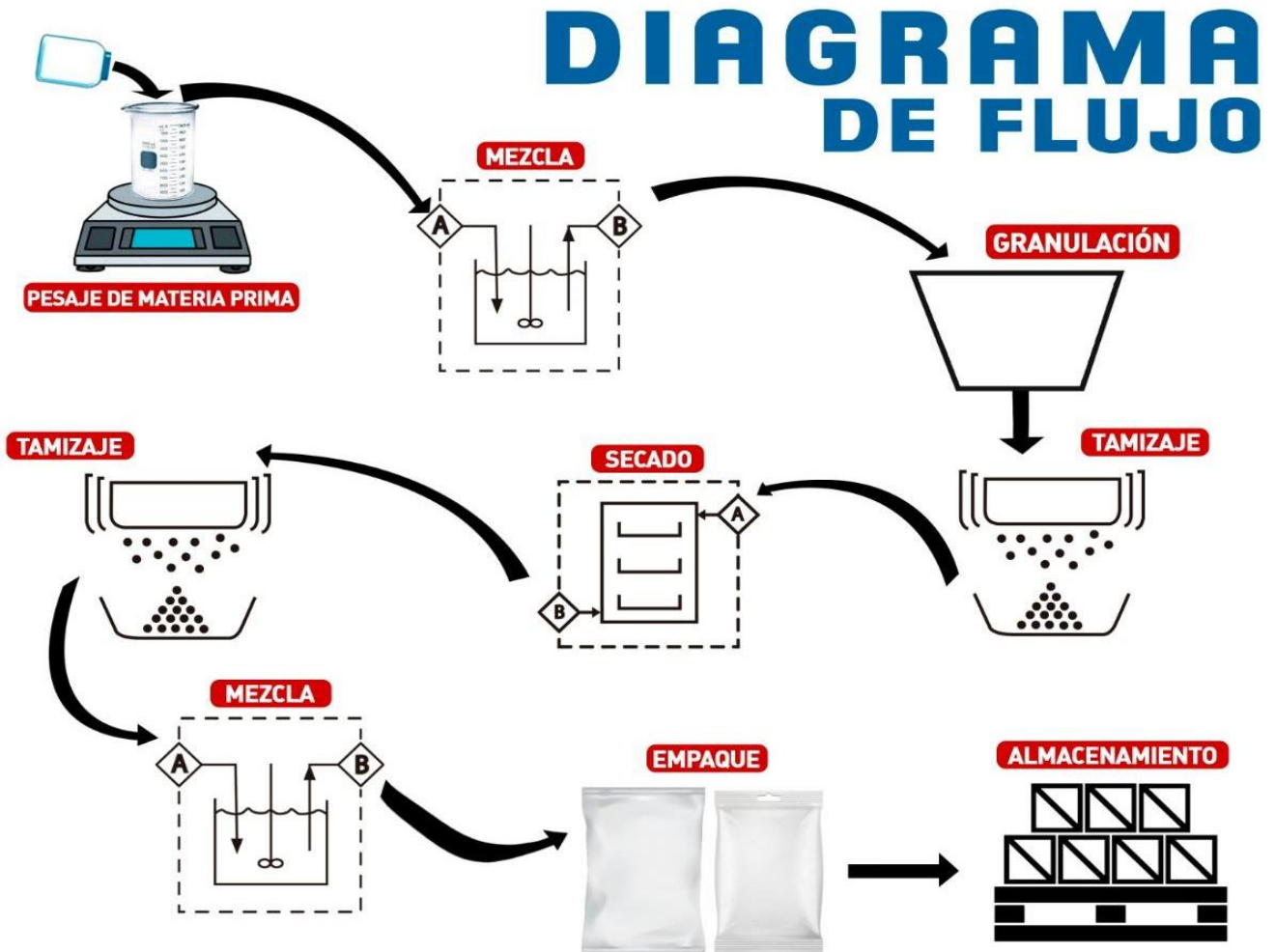
ARTIFICIALES, HORMONAS Y ANTIBIOTICOS EN LA ALIMENTACION INDUSTRIAL DEL MUNDO MODERNO:

https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/6/6710/Problemas_de_salud_ocasionados_por_los_aditivos.pdf

- Yañez, X. M. (2007). Estudio del aceite esencial de la cascara de naranja dulce cultivada en Labateca. *BISTUA*, 3-8.
- Yuste, J. (2004). Inactivation of Salmonella Typhimurium and Escherichia coli O157:H7 in Apple Juice by a Combination of Nisin and Cinnamon. *Journal of Food Protection*, 371–377.

XIV. ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de flujo de proceso de producción de los diferentes lotes.



Anexo 2. USP Capítulo 2023 “Suplementos nutricionales con ingredientes sintéticos o altamente refinados”. Pág. 2479. Límites Microbianos Recomendados para ingredientes y productos de suplementos dietéticos

Suplementos nutricionales con ingredientes sintéticos o altamente refinados	Recuento Total de Microorganismos Aerobios 10^3
	Recuento Total Combinado de Hongos Filamentosos y Levaduras 10^2
	Ausencia de E. Coli en 10 g

Anexo 3. Control análisis microbiológico establecido por RTCA según la clasificación del producto que es bebida envasada no carbonatada en polvo

14.1 Subgrupo del alimento: Bebida envasadas no carbonatas (como jugos pasteurizados, productos concentrados y mezclas en polvo artificiales)			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i>	5	C	< 3 NMP/ml o g

Anexo 4. Boleta para análisis sensorial prueba hedónica



Nombre: _____ Fecha:
03/12/19

Instrucciones

Frente a usted se presentan tres muestras. Por favor observe y pruebe cada una de ellas. Cada una de las muestras tienen un código por favor seguir el orden en el que están en su boleta. Indique el grado de gusto o disgusto de cada uno de los atributos de las muestras otorgándole un puntaje de 1 a 5 según la escala

Escala

Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta moderadamente
5	Me gusta extremadamente

Observación: Tomar agua entre cada una de las muestras

Código de muestra	Clasificación de cada atributo		
	Color	Olor	Sabor
7379			
4597			
9357			

Comentarios:

¡Gracias por su colaboración!

Anexo 5. Resultados generales de recuento de aerobios totales

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela 0.1-2% naranja	2.1-4% naranja- 2.1-4% canela	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08- 053-19	EPO08- 054-19	EPO08- 055-19	EPO08- 056-19	EPO08- 057-19	EPO08- 058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	190	170	10	100	230	100	100	130
	180	150	40	90	180	80	90	140
	150	140	30	120	200	90	110	150
	180	180	10	110	190	110	100	150
	150	150	20	100	210	90	90	130
15 días	190	90	130	180	330	43	200	150
	170	180	100	160	320	80	180	160
	180	200	90	100	330	100	150	120
	200	170	120	170	300	90	130	150
	190	180	100	180	310	120	150	130
30 días	110	50	80	90	100	70	350	70
	90	140	60	60	80	60	300	40
	75	55	70	70	110	70	450	10
	90	90	80	60	70	40	320	50
	70	70	90	80	30	50	250	60
45 días	110	80	80	20	70	90	210	100
	100	80	60	20	40	75	150	70
	70	70	50	30	30	70	100	100
	50	65	70	20	35	50	170	110
	100	60	40	20	40	70	90	80
60 días	170	160	40	120	140	80	220	120
	180	240	70	100	130	60	210	100
	150	260	30	100	120	90	300	110
	180	200	40	50	150	70	230	100
	160	230	60	70	110	80	250	90
75 días	170	160	60	80	130	100	360	120
	160	170	20	60	110	90	400	130
	150	250	40	100	150	80	280	100
	180	200	30	80	160	70	370	90
	170	230	60	90	130	90	360	100
90 días	160	300	80	170	110	60	510	110
	190	230	60	190	140	80	680	80
	180	290	40	130	160	120	490	100
	180	350	60	150	150	80	570	120
	170	280	20	160	120	90	640	140

Fuente: Laboratorio y droguería Pharnalat. S.A

Anexo 6. Resultados generales de Mohos y levaduras

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela 0.1-2% naranja	2.1-4% naranja- 2.1-4% canela	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08- 053-19	EPO08- 054-19	EPO08- 055-19	EPO08- 056-19	EPO08- 057-19	EPO08- 058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	30	90	0	30	0	10	40	80
	40	50	0	20	0	20	30	60
	20	30	0	40	0	10	50	120
	10	50	0	30	0	20	30	60
	30	40	0	40	0	10	40	90
15 días	50	30	0	30	20	0	40	100
	30	50	0	20	10	10	60	80
	40	40	0	30	20	20	50	70
	60	30	0	40	30	10	40	90
	50	50	0	20	10	10	60	40
30 días	10	10	20	30	30	0	10	20
	0	30	0	10	10	5	0	10
	0	50	10	0	10	0	20	0
	40	20	0	0	25	0	0	0
	20	20	20	0	0	0	0	20
45 días	30	20	0	10	10	0	0	10
	10	10	0	0	0	0	0	0
	10	5	0	0	0	0	0	10
	0	10	0	0	10	0	0	20
	20	10	0	20	20	0	0	10
60 días	50	110	0	20	30	0	170	50
	80	120	0	0	20	0	90	30
	60	150	0	10	10	0	180	10
	50	130	0	20	30	0	160	20
	70	120	0	20	20	0	120	10
75 días	80	120	0	10	20	0	50	30
	60	80	10	0	30	0	40	0
	40	100	0	0	0	0	80	40
	70	130	0	0	20	0	30	30
	60	120	0	0	0	0	70	40
90 días	60	130	0	0	20	0	80	50
	50	100	0	0	30	0	110	40
	70	80	0	0	0	0	90	20
	70	110	0	0	20	0	70	10
	60	130	0	0	0	0	100	20

Fuente: Laboratorio y droguería Pharmalat. S.A

Anexo 7. Resultados generales de *E. Coli*.

	A	B	C	D	E	F	G	H
	0.1-3% de naranja	3.1-6% de naranja	1.1-3% canela	0.1-1% canela	0.1-2% canela 0.1-2% naranja	2.1-4% naranja- 2.1-4% canela	Muestra Sin conservantes	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08- 053-19	EPO08- 054-19	EPO08- 055-19	EPO08- 056-19	EPO08- 057-19	EPO08- 058-19	EPO08-059-19	PPO1100719
Inicial	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
15 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
30 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
45 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
60 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
75 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
90 días	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Fuente: Laboratorio y droguería Pharmalat. S.A

Anexo 8. Resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de color, realizada por 49 consumidores potenciales

	C	F	H
	1.1-3% canela	2.1-4% naranja-2.1-4% canela	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-055-19	EPO08-058-19	PPO1100719
Personas	7379	4597	9357
1	3	3	1
2	4	3	4
3	3	3	4
4	4	4	4
5	3	3	4
6	3	3	4
7	4	4	4
8	4	4	4
9	4	4	4
10	4	2	2
11	4	2	4
12	1	4	3
13	4	4	4
14	4	3	5
15	2	2	2
16	2	2	1
17	3	3	3
18	4	4	4
19	4	4	3
20	4	4	4
21	4	3	3
22	5	4	4
23	4	3	4
24	5	3	4
25	5	3	4
26	3	2	3
27	2	4	3
28	3	4	4
29	2	4	4
30	2	3	2
31	3	3	5
32	4	3	2
33	2	3	4
34	2	3	2
35	3	2	4
36	1	3	3
37	3	4	2
38	2	2	2
39	3	3	3
40	3	3	3
41	4	3	4
42	4	4	4
43	1	3	5
44	3	4	3
45	3	3	3
46	5	5	5
47	4	3	3
48	4	4	4
49	3	4	2

Fuente: Evaluación sensorial de escala hedónica experimental.

Anexo 9. Resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de olor, realizada por 49 consumidores potenciales.

	C	F	H
	1.1-3% canela	2.1-4% naranja-2.1-4% canela	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-055-19	EPO08-058-19	PPO1100719
Personas	7379	4597	9357
1	4	3	2
2	4	4	4
3	4	4	3
4	4	4	4
5	4	4	4
6	5	5	5
7	3	4	4
8	4	5	5
9	4	3	2
10	3	3	2
11	2	3	4
12	2	5	2
13	5	5	5
14	3	3	5
15	4	4	4
16	2	2	1
17	3	2	3
18	4	4	3
19	3	3	3
20	4	4	4
21	4	4	3
22	5	4	4
23	4	4	3
24	5	3	4
25	4	5	5
26	5	4	4
27	1	2	2
28	4	4	3
29	4	1	4
30	3	3	3
31	3	4	3
32	2	4	3
33	1	2	3
34	1	2	3
35	0	0	0
36	2	1	2
37	3	1	3
38	0	0	0
39	4	3	3
40	2	3	2
41	2	3	3
42	4	4	3
43	3	5	3
44	3	4	3
45	3	4	3
46	5	2	4
47	4	3	2
48	4	4	4
49	3	4	2

Fuente: Evaluación sensorial de escala hedónica, datos experimentales.

Anexo 10. Resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de sabor, realizada por 49 consumidores potenciales

	C	F	H
	1.1-3% canela	2.1-4% naranja-2.1-4% canela	Benzoato de sodio y sorbato de potasio
	EPO08-055-19	EPO08-058-19	PPO1100719
Personas	7379	4597	9357
1	2	1	2
2	3	3	4
3	3	2	2
4	2	1	1
5	3	3	4
6	2	4	5
7	3	2	3
8	2	2	3
9	2	2	2
10	3	3	2
11	1	1	2
12	3	4	5
13	2	2	4
14	3	4	4
15	3	3	3
16	2	2	1
17	2	2	3
18	3	3	3
19	2	2	4
20	4	3	4
21	2	3	2
22	5	4	4
23	3	2	1
24	3	2	1
25	3	2	1
26	5	1	3
27	2	1	3
28	3	4	4
29	4	4	5
30	2	3	2
31	3	4	5
32	1	3	2
33	2	3	4
34	2	1	1
35	4	1	1
36	1	2	3
37	2	1	3
38	3	1	2
39	3	2	3
40	2	3	1
41	3	3	4
42	4	3	2
43	3	1	5
44	3	3	3
45	3	4	4
46	2	2	2
47	4	3	1
48	4	3	5
49	4	2	2

Fuente: Evaluación sensorial de escala hedónica, datos experimentales.

Anexo 11. Resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensoriales: color, olor y sabor, realizada por 49 consumidores potenciales

Porcentajes de resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de color realizada por 49 consumidores potenciales

Escala	C	F	H
	7379	4597	9357
1.Me disgusta extremadamente	6%	0%	4%
2.Me disgusta moderadamente	16%	14%	16%
3.No me gusta ni me disgusta	31%	47%	24%
4.Me gusta moderadamente	39%	37%	47%
5.Me gusta extremadamente	8%	2%	7%
	100%	100%	100%


Porcentajes de resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de olor realizada por 49 consumidores potenciales

Escala	C	F	H
	7379	4597	9357
1.Me disgusta extremadamente	6%	6%	2%
2.Me disgusta moderadamente	14%	12%	18%
3.No me gusta ni me disgusta	24%	24%	39%
4.Me gusta moderadamente	39%	41%	27%
5.Me gusta extremadamente	12%	12%	10%
	100%	100%	100%

Porcentajes de resultados de la prueba hedónica sobre la característica sensorial de sabor realizada por 49 consumidores potenciales

Escala	C	F	H
	7379	4597	9357
1.Me disgusta extremadamente	6%	20%	18%
2.Me disgusta moderadamente	35%	31%	24%
3.No me gusta ni me disgusta	41%	33%	22%
4.Me gusta moderadamente	14%	16%	22%
5.Me gusta extremadamente	4%	0%	12%
	100%	100%	100%

Anexo 12. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto A (0.1-3% de terpenos de naranja) con un número de identificación de lote EPO-08-053-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-053-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio:	Determinar la vida útil del producto Alimen
------------------------------	---

Materiales de empaque:	Sobre polilaminado
-------------------------------	--------------------

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Rosa-café	Rosa-café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	4.71	4.22	4.66	4.38	4.11	4.73	4.17
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	170	190	90	170	170	180	180
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	30	50	10	10	60	60	60
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 13. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto B (3.1-6% de terpenos de naranja) con un número de identificación de lote EPO-08-054-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-054-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Rosa-café	Rosa-café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	4.99	5.02	4.88	4.81	4.73	4.68	5.02
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado- Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple		cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	160	160	80	70	220	200	290
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	50	40	30	10	130	110	110
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 14. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto C (1.1-3% de aceite de canela) con un número de identificación de lote EPO-08-055-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-055-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Rosado-Café	Rosado-Café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. Canela	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	5.79	5.47	5.49	5.28	5.12	5.24	4.88
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado- Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Canela	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	20	110	80	60	50	40	50
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	0	0	10	0	0	0	0
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 15. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto D (0.1.1% de aceite de canela) con un número de identificación de lote EPO-08-056-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-056-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat, S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat, S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8.5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Rosado-café	Rosado-café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. Canela	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	5.47	4.95	4.68	4.57	4.36	4.18	4.88
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Canela	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	100	160	70	20	90	80	160
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	30	30	10	10	10	0	0
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 16. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto E (0.1-2% de aceite de canela y 0.1-2% de terpenos de naranja) con un número de identificación de lote EPO-08-057-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-057-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	rosado-café	rosado-café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. Canela y Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	5.97	5.42	4.95	4.73	4.62	5.06	4.74
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Canela y Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	200	320	80	40	130	140	140
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	0	20	20	10	20	10	10
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 17. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto F (2.1-4% de aceite de canela y 2.1-4% de terpenos de naranja) con un número de identificación de lote EPO-08-058-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-058-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HRV Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Pequeños grumos	Pequeños grumos
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	Rosado-Café	Rosado-Café
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y Caract. Canela y Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	6.5	6.22	5.93	6.01	6.26	5.81	6.08
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce, con notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce, con notas acidas, Caract. Canela y Naranja	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	90	90	60	70	80	90	90
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	10	10	0	0	0	0	0
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 18. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto G (muestra sin conservantes) con un número de identificación de lote EPO-08-059-19.

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN	7	Número de lote:	EPO-08-059-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HRV Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen Nutrigest

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:


	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	3.84	4.26	4.0	4.3	3.94	3.52	4.13
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	100	170	330	140	240	350	580
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	40	50	10	0	150	50	90
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A

Anexo 19. Certificado de estudio de estabilidad acelerada del producto H (Benzoato de sodio y sorbato de potasio) con un número de identificación de lote PPO1100719

	Certificado de Estudio de Estabilidad Acelerada
---	--

1	Nombre de producto:	ALIMEN Nutrigest	7	Número de lote:	PPO-11-007-19
2	Forma Farmacéutica:	Polvo granulado para reconstituir en agua	8	Tipo de lote:	Prueba
3	Nombre del Fabricante y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	9	Fecha de expiración:	Agosto 2020
4	Nombre del Laboratorio y país:	Laboratorio y Droguería Pharmalat. S.A., Guatemala	10	Estudio iniciado en:	14 de agosto del 2019
5	Tamaño de lote:	60 sobres (8 g cada uno)	11	Estudio terminado en:	18 de noviembre del 2019
6	Protocolos de prueba aplicados a:	40°C/ 75% HR/ Cámara CARON Modelo 70000-25-2	12	Cantidad muestreada:	49 sobres (8 g cada uno)

Objetivo del estudio: Determinar la vida útil del producto Alimen Nutrigest

Materiales de empaque: Sobre polilaminado

Resultados:

	Prueba	Especificación	Inicial	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días
1	Peso promedio	Rango: 8g-8,5g/sobre	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Descripción del polvo	Polvo granulado	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Apariencia	Polvo granulado heterogeneo	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Color	Rosado claro	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
6	Sabor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
7	Porcentaje de humedad	<6%	3.89	4.13	4.16	4.52	3.92	3.74	4.17
Análisis físico del polvo reconstituido									
1	Disolución	Disol. Parcial con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
2	Apariencia	Suspension con partículas dispersas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
3	Color	Rosado-Café	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
4	Olor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
5	Sabor	Dulce y notas acidas	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Análisis Microbiológico									
1	Recuento aerobico total	<1000 UFC/g	140	140	50	90	100	110	110
2	Recuento de mohos y levaduras	<200 UFC/g	80	80	10	10	20	30	30
3	E.coli	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusiones:

- 1) Aunque ocurrió variación en los valores de los parámetros físicos, mas no en los parámetros microbiológicos, bajo el estudio realizado en el material de empaque primario, con las condiciones de almacenamiento a temperatura de 40°C ± 2°C, éstos se conservaron dentro de los límites especificados a los 90 días.
- 2) En base a los resultados obtenidos en el estudio, la vida útil del producto es de 12 meses, almacenado a una temperatura no mayor de 30°C.

Fuente: Laboratorios y Droguería Pharmalat, S.A