



*Encapsulado de aceite esencial de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) aplicado como agente antimicrobiano, en queso criollo y pasteurizado*

*Encapsulated with essential oil of purple basil (*Ocimum sanctum*) applied as an antimicrobial agent, in creole cheese and pasteurized*

*Encapsulado com óleo essencial de manjerição roxo (*Ocimum sanctum*) aplicado como agente antimicrobiano, em queijo crioulo e pasteurizado*

Hernán Virgilio Dueñas-García^I
hernanduenas159@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0206-8431>

Gabriel Alfonso Burgos-Briones^{III}
ingquimico91@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-1291-4083>

Stephany Judith Bermello-Ochoa^{II}
judithbermoch@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-4728-3725>

Ulbio Eduardo Alcívar-Cedeño^{IV}
ulbioalcivar@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-7941-6401>

Correspondencia: hernanduenas159@hotmail.com

Ciencias administrativas y empresariales
Artículo de investigación

***Recibido:** 20 de junio de 2020 ***Aceptado:** 27 de julio de 2020 * **Publicado:** 15 de agosto de 2020

- I. Estudiante de Maestría de Ingeniería Química / Título de Posgrado, Ingeniero Químico, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo, Ecuador.
- II. Estudiante de Posgrado en Agroindustria, Ingeniera Química, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria Manabí, Sitio El Limón, Calceta, Manabí, Ecuador.
- III. Máster Universitario en Sistemas Integrados de Gestión de la Prevención de Riesgos Laborales, Ingeniero Químico, Departamento de Procesos Químicos, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Ecuador.
- IV. Magíster en Administración Ambiental, Doctor en Ciencias Técnicas, Ingeniero Agroindustrial, Tecnólogo en Agroindustrias, Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo, Ecuador.

Resumen

El consumo de la leche y productos lácteos a nivel mundial se ha ido incrementando de gran manera, no solo por sus valores nutritivos, sino también por la gran variedad de alimentos que pueden lograr prepararse con el uso de los mismos. Se empleó un método de conservación no tradicional lo cual consiste en la aplicación de microcápsulas de aceite esencial de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) en queso fresco como agente antimicrobiano. Se utilizó como material encapsulante el alginato de sodio, a una concentración del 4% p/v y aceite esencial de albahaca morada obtenido al 15% p/v. Se realizó una solución y se aplicó un tiempo de sumergido de 60 y 120 minutos para luego empacarlos al vacío y almacenarlos en refrigeración. Los análisis microbiológicos se los realizó a los 10 y 20 días para así poder determinar la presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en el queso criollo y pasteurizado, el diseño experimental que se utilizó para realizar la evaluación de la presencia de *Salmonella* y *E. coli* fue un análisis de la varianza (ANOVA), de dos factores, con seis niveles de tratamiento y tres repeticiones por cada nivel de análisis, con un nivel de confianza del 95%. Los resultados indicaron que el aceite encapsulado mostró actividad bacteriostática frente a estos microorganismos.

Palabras claves: Albahaca morada; microcápsulas; aceite esencial; microorganismos.

Abstract

The consumption of milk and milk products worldwide has been increasing greatly, not only for their nutritional values, but also for the wide variety of foods that can be prepared with their use. A non-traditional preservation method was used, which consists of the application of microcapsules of essential oil of purple basil (*Ocimum sanctum*) in fresh cheese as an antimicrobial agent. Sodium alginate was used as encapsulating material, at a concentration of 4% w / v and purple basil essential oil obtained at 15% w / v. A solution was made and a dipping time of 60 and 120 minutes was applied to then vacuum pack them and store them in refrigeration. The microbiological analyzes were performed at 10 and 20 days in order to determine the presence of *Salmonella* and *Escherichia coli* in Creole and pasteurized cheese. The experimental design used to perform the evaluation of the presence of *Salmonella* and *E. coli* was an analysis of variance (ANOVA), of two factors, with six treatment levels and three repetitions

for each analysis level, with a confidence level of 95%. The results indicated that the encapsulated oil showed bacteriostatic activity against these microorganisms.

Keywords: Purple basil; microcapsules; essential oil; microorganisms.

Resumo

O consumo de leite e derivados em todo o mundo tem aumentado bastante, não apenas por seus valores nutricionais, mas também pela grande variedade de alimentos que podem ser preparados com seu uso. Foi utilizado um método de preservação não tradicional, que consiste na aplicação de microcápsulas de óleo essencial de manjerição roxo (*Ocimum sanctum*) em queijo fresco como agente antimicrobiano. O alginato de sódio foi utilizado como material de encapsulação, na concentração de 4% p / ve óleo essencial de manjerição roxo obtido a 15% p / v. Foi feita uma solução e um tempo de imersão de 60 e 120 minutos foi aplicado para embalá-los a vácuo e armazená-los em refrigeração. As análises microbiológicas foram realizadas aos 10 e 20 dias para determinar a presença de *Salmonella* e *Escherichia coli* em queijo crioulo e pasteurizado. O delineamento experimental utilizado para avaliar a presença de *Salmonella* e *E. coli* foi uma análise de variância (ANOVA), de dois fatores, com seis níveis de tratamento e três repetições para cada nível de análise, com nível de confiança de 95%. Os resultados indicaram que o óleo encapsulado apresentou atividade bacteriostática contra esses microrganismos.

Palavras-chave: Manjerição roxo; microcápsulas; óleo essencial; microrganismos.

Introducción

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo. En Ecuador predomina el consumo de quesos frescos (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2012). Este producto lácteo se puede consumir solo, o bien acompañando productos de panificación y utilizarse en diversas preparaciones culinarias, en forma de rallado, cortado en dados, en rodajas, entre otras, por consiguiente, es considerado un alimento importante en la dieta de jóvenes y adultos mayores (Lucas, Jácome, Domínguez, & Torres, 2019). La relevancia de que el alimento sea inocuo o seguro se basa, entre otros aspectos, en la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), las cuales representan un importante problema de salud pública a nivel mundial. La aparición de estas

enfermedades es un indicador directo de la ausencia de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos (Ramírez, Garibay, Guzmán, & Carvajal, 2016).

Por ello, surgió la necesidad de utilizar alternativas para la conservación de los alimentos, como son los productos naturales. Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Sauceda, 2011). La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Sauceda, 2011).

Los aceites esenciales son conocidos desde la Edad Media por sus propiedades antisépticas, terapéuticas y por su intenso aroma, generando gran interés para la conservación de alimentos (Hernández, 2011). El uso de los aceites esenciales de condimentos y especias, tanto en la industria de alimentos, como en la industria farmacéutica, es cada vez más generalizado, debido en parte a la homogeneidad del aroma y a la minimización de las posibilidades de contaminación microbiana (Ribeiro, Alva, & Valles, 2001).

En este estudio se utilizó la albahaca morada (*Ocimum sanctum*), que es una planta herbácea, anual, de tallos erectos y ramificados, frondosa, que alcanza de 30 a 50 cm de altura. Las hojas tienen de 2 a 5 cm, son hojas suaves, oblongas, opuestas, pecioladas, aovadas, lanceoladas y ligeramente dentadas. Las flores son blancas dispuestas en espigas alargadas, en la parte superior del tallo o en los extremos de las ramas, de color verde intenso con pequeñas flores blanco azuladas, dispuestas en forma de largos ramilletes terminales (Cansing & Santillán, 2012). Existen gran número de variedades de albahaca que pueden variar en el color de la hoja (verde y morada) y en su aroma (Cardoso-Ugarte & Sosa-Morales, 2012).

La encapsulación de aditivos para la industria de alimentos es una técnica antigua; sin embargo, cada día encuentra mayor aplicación en resolver problemas para la conservación de productos alimenticios al mantener su calidad organoléptica (Martínez, 1996). Los principales aditivos encapsulados en la industria de alimentos son: ácidos, colorantes, pigmentos, enzimas, microorganismos, sabores, especias, grasas y aceites, vitaminas, minerales, sales, edulcorantes, gases y agentes leudantes (Aldana, Sandoval, & Aponte, 2004). La encapsulación es un proceso mediante el cual sustancias bioactivas de los alimentos se introducen en una matriz para impedir

que se pierdan, para evitar que reaccionen con otros compuestos presentes en el alimento o para impedir que se oxiden. Una ventaja adicional es que un compuesto encapsulado se libera gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado y se obtienen productos alimenticios con mejores características sensoriales y nutricionales (Aguilar Chávez, 2007).

Existen diferentes materiales utilizados para formar la matriz de encapsulación, entre los cuales se consideran importantes los derivados de celulosa, lípidos, proteínas, gomas, carbohidratos y algunos materiales inorgánicos (Reyna, Álvarez, Iliná, & Hernández, 2015), (Gómez-Cruz & Jiménez-Munguía, 2014). Las micro cápsulas, ayudan a que los materiales alimenticios empleados resistan las condiciones de procesamiento y empacado mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de los productos (Huertas, 2010).

La hipótesis de la investigación fue, la influencia existente al encapsular el aceite esencial de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) y aplicarlo sobre el alimento (queso fresco) como recubrimiento antimicrobiano, para lograr, verificar si existen o no alteraciones en el mismo para poder utilizarlo como alternativa de conservación para este tipo de productos lácteos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el aceite esencial de *Ocimum sanctum* encapsulado utilizándolo como agente antimicrobiano aplicándolo en queso criollo y pasteurizado para verificar su actividad bacteriostática frente a estos microorganismos.

Materiales y métodos

Para la obtención del aceite esencial de la albahaca morada (*Ocimum sanctum*) se utilizó material vegetal (hojas y flores) provenientes de plantas de diferentes partes de la provincia de Manabí y agua destilada. Por ello, esta materia prima no fue homogénea en cuanto a su tamaño y tiempo de cosecha.

El aceite esencial de albahaca morada encapsulado se aplicó en queso criollo y pasteurizado para evaluar su efectividad como agente antimicrobiano.

Extracción

Se realizó la recolección de las hojas y flores de la planta de albahaca morada y se determinó el porcentaje de humedad con un higrómetro, las mismas contenían aproximadamente 87% de humedad, una vez realizado esto se procedió con el secado, en el secador de bandejas por 5 horas a 45 °C aproximadamente, para obtener un porcentaje de humedad $\leq 10\%$.

Una vez obtenido el porcentaje de humedad requerido, se trituraron las hojas y flores secas en el mortero para iniciar con la extracción. Una vez armado el equipo de extracción, se colocaron 30 g de las hojas y flores previamente trituradas con 1 L de agua destilada, dentro de un balón de destilación de fondo plano. Luego se conectó la trampa de Clevenger y el refrigerante, ambos sostenidos con pinzas a un soporte universal, se ubicaron las mangueras al refrigerante, una de ellas conectada a una bomba para llevar agua fría al refrigerante.

Se colocó el balón de destilación conectado a la trampa de Clevenger sobre la manta calefactora, se procedió a encenderlo hasta alcanzar una temperatura de 100 °C hasta ebullición, para iniciar el proceso de extracción del aceite. El vapor de agua, pasó a través del material vegetal, para extraer las moléculas aromáticas volátiles, las cuáles fueron conducidas a través de un condensador hasta un recipiente, donde se separaron el vapor enfriado (agua), del aceite esencial, este proceso se llevó a cabo durante 60 minutos (Moreno, López, & Siche, 2010), (Perdomo & Palomarez, 2015).

Como el aceite y el agua son inmiscibles en sus estados líquidos, se separaron de acuerdo a su densidad relativa en la trampa de Clevenger. Terminado el proceso de extracción, el aceite fue colocado en baño maría para así eliminar pequeñas cantidades de agua presente. Este aceite puro fue almacenado en viales para cromatografía y colocados en refrigeración.

Para el proceso de encapsulación del aceite esencial se utilizó como material encapsulante el alginato de sodio, en concentración de 4% p/v, en el cual fue disuelto el aceite esencial obtenido al 15% p/v, obteniéndose así, la solución de partida para la encapsulación. La formación de las cápsulas se llevó a cabo mediante la gelificación iónica por goteo en una solución de cloruro de calcio (CaCl_2) al 2,5%, utilizando una pistola de aspersion con boquilla de 0,6 mm, este proceso se realizó aproximadamente a un 1 m de distancia. Las cápsulas permanecieron en la solución de CaCl_2 durante 10 a 15 min, para luego ser filtradas y lavadas con agua destilada, para su aplicación en el queso fresco (Salas Yañac, 2019).

Para la aplicación del encapsulado en el queso fresco se preparó una solución al 20% (V/V) de las cápsulas con agua destilada. Posteriormente se realizó la inmersión de los quesos (criollo y pasteurizado) por 60 y 120 minutos. Pasado dicho tiempo estos quesos fueron envasados en fundas plásticas selladas al vacío y colocados dentro de un refrigerador para realizar posteriores análisis entre 10 y 20 días, para determinar así la capacidad antimicrobiana de las cápsulas del aceite esencial de albahaca morada y verificar si hubo o no cambios en las propiedades de los

quesos utilizados. Además, el queso criollo y pasteurizado fueron analizados a las 24 horas después de ser elaborados (Loor, H. & d. Segovia, 2019).

La nomenclatura utilizada fue la siguiente:

QCSC: Queso criollo sin cápsulas; QPCSC: Queso pasteurizado sin cápsulas; QCCC: Queso criollo con cápsulas; QPCC: Queso pasteurizado con cápsulas; QC: Queso criollo (comprado); QP: Queso pasteurizado (comprado); ASS: Agar Salmonella shigella; AMCK: Agar MacConkey; PCA: Plate con agar.

Las pruebas bioquímicas realizadas a los diferentes tipos de quesos (queso criollo, queso criollo con microcápsulas, queso pasteurizado y queso pasteurizado con microcápsulas) con los medios de cultivos utilizados (agar Salmonella shigella, agar MacConkey Plate con agar) para la siembra, englobaron a varios microorganismos tales como *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella*, *Salmonella* y *Escherichia coli*; sin embargo, es válido aclarar que el estudio se centró en *E. coli* y *Salmonella*. Se realizaron tratamientos (seis en total), acordes a cada uno de los niveles de estudio (dos niveles), con repeticiones por triplicado de cada una; por lo que, se obtuvieron 36 observaciones para los microorganismos estudiados, según lo señalado por Jiménez et al. (Vásquez, SalhuanaG, Jiménez, & Abanto Ríos, 2018).

El diseño experimental que se utilizó para realizar la evaluación de la presencia de *Salmonella* y *E. coli* fue un análisis de la varianza (ANOVA), de dos factores, con seis niveles de tratamiento y tres repeticiones por cada nivel de análisis, con un nivel de confianza del 95%. Una vez obtenidos los resultados se procedió a realizar un análisis de datos utilizando Excel en el cual se colocaron todos los valores obtenidos y se procedió a obtener la media muestral de cada uno de los análisis realizados tanto de la presencia como no presencia de *E. coli* en las muestras analizadas; teniendo ya los valores promedios se procedió a realizar una gráfica con cada uno de los tipos de quesos utilizados. Así mismo se utilizó el software, Statgraphics Centurion XV y se determinó si hubo diferencias estadísticas para las variables y por efecto de los tratamientos niveles contemplados en el diseño del experimento.

Resultados y discusión

Para determinar la presencia o no de *Salmonella*, *E. coli* y otros microorganismos que se encontraron en el queso se tomaron en cuenta los criterios (Perilla, 2004) que se indican en la Tabla 1.

A: Ácida; K: Alcalina.

- 1 Superficie K/Profundidad A (pico rojo/fondo amarillo) = fermentó glucosa.
- 2 Superficie A/Profundidad A (pico amarillo/fondo amarillo) = fermentó glucosa, galactosa y/o sacarosa.
- 3 Superficie K/Profundidad K (pico rojo/fondo rojo) = no fermentó azúcares.
- 4 Burbujas a captura del microorganismo indicó la producción de gas.

Tabla 1. Criterios para determinar los microorganismos presentes en queso criollo y pasteurizado tratado con encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.

Microorganismo	Superficie / Profundidad	Gas	SH2
<i>Escherichia coli</i>	A/A	+	-
<i>Salmonella</i>	K/A	-	+
<i>Shigella</i>	K/A	-	-
<i>Pseudomonas aeuroginosas</i>	K/K	-	-
<i>Klebsiella pneuminae</i>	A/A	+	-
<i>Proteos mirabilis</i>	K/A	-	+

Salmonella

Una vez que se realizó la prueba de triple azúcar hierro (TSI) se descartó la presencia de *Salmonella* ya que no dio positivo para ninguno de los ensayos realizados (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados de los análisis de queso criollo a los 10 días aplicándole encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.

Tratamientos	Medio de cultivo	Superficie/ Profundidad	Gas	SH2	Microorganismo
QCCC 1H 10 DIAS	ASS	K/K	-	-	<i>Pseudomonas aeuroginosas</i>

QCCC 2H 10 DIAS	ASS	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QCSC 10 DIAS	ASS	A/A	+	-	<i>Escherichia coli/Klebsiella pneumoniae</i>
QC INICIAL	ASS	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QCSC 10 DIAS	AMCK	A/K	-	-	Desconocido
QCCC 1H 10 DIAS	AMCK	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumoniae</i>
QCSC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumoniae</i>
QC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumoniae</i>

Abreviaturas: QCCC: queso criollo con cápsulas; QCSC: queso criollo sin cápsulas; QC: queso criollo.

Por lo ya mencionado, se descartó la presencia de Salmonella en las muestras, pues el Test de Triple Azúcar Hierro resultó una prueba bioquímica específica para este microorganismo. Lo que significó que las muestras se encontraron dentro de los estándares de calidad de la normativa técnica ecuatoriana (INEN, 2012).

Escherichia coli

En las pruebas que se realizaron con el Test de Triple Azúcar Hierro dio resultados positivos para *E. coli* en algunas placas (Tablas 2, 3, 4 y 5).

Sin lugar a duda hubo presencia de *E. coli* en algunas de las muestras analizadas, pero estuvo en bajas cantidades; solo en una de las placas correspondiente a queso criollo con cápsulas (QCCC) con un tiempo de inmersión de 1H y 20 días de almacenamiento, se observó un crecimiento elevado con más de 100 UFC. Dado que solo se observó en una placa de las analizadas, por ende, el desarrollo de *E. coli* en esa placa no fue un resultado concluyente de la presencia del microorganismo en la muestra (Gómez López & Chuquibala Checán, 2014).

Al analizar la muestra con pruebas bioquímicas se observó la presencia de *E. coli* en varias de las muestras dando resultado positivo; pero estos resultados no se obtuvieron de manera simultánea. Las muestras que dieron resultado positivo de manera simultánea realizando las pruebas bioquímicas fueron las correspondientes a:

Queso pasteurizado sin cápsulas (QPSC) en agar *S. shigella*, queso pasteurizado con cápsulas (QPCC) sumergido 1 h en agar *S. shigella*, queso pasteurizado con cápsulas sumergido 2 h en agar *S. shigella*, queso criollo (QC).

Tabla 3. Resultados de los análisis de queso criollo a los 20 días aplicándole encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.

Muestra	Medio de cultivo	Superficie/Profundidad	Gas	SH2	Microorganismo
QCCC 1H 20 DIAS	ASS	K/K	-	-	<i>Pseudomonas aeuroginosas</i>
QCCC 2H 20 DIAS	ASS	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QCSC 20 DIAS	ASS	A/K	+	-	Desconocido
QC INICIAL	ASS	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QCSC 20 DIAS	AMCK	A/K	-	-	Desconocido
QCCC 1H 20 DIAS	PCA	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QCSC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>Escherichia coli/Klebsiella pneumoniae</i>
QC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumoniae</i>

Abreviaturas: QCCC: queso criollo con cápsulas; QCSC: queso criollo sin cápsulas; QC: queso criollo.

Tabla 4. Resultados de los análisis de queso pasteurizado a los 10 días aplicándole encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.

Muestra	Medio de cultivo	Superficie/ Profundidad	Gas	SH2	Microorganismo
QPSC 10 DIAS	ASS	A/A	+	-	<i>Escherichia coli/Klebsiella pneumoniae</i>
QPCC 1H 10 DIAS	ASS	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumoniae</i>
QPCC 2H 10 DIAS	ASS	A/K	+	-	Desconocido

QP INICIAL	ASS	K/K	-	-	<i>Pseudomonas aeuroginosas</i>
QPSC 10 DIAS	AMCK	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QPSC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumominae</i>
QP INICIAL	PCA	A/K	-	+	Desconocido

Abreviaturas: QPSC: queso pasteurizado sin cápsulas; QPCC: queso pasteurizado con cápsulas; QP: queso pasteurizado.

Tabla 5. Resultados de los análisis de queso pasteurizado a los 20 días aplicándole encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.

Muestra	Medio de cultivo	Superficie/ Profundidad	Gas	SH2	Microorganismo
QPCC 1H 20 DIAS	ASS	A/K	+	-	Desconocido
QPCC 2H 20 DIAS	ASS	A/A	+	-	<i>Escherichia coli/Klebsiella pneumominae</i>
QPSC 20 DIAS	ASS	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumominae</i>
QP INICIAL	ASS	K/K	-	-	<i>Pseudomonas aeuroginosas</i>
QPSC 20 DIAS	AMCK	K/K	-	-	<i>P. aeuroginosas</i>
QPSC INICIAL	PCA	A/A	+	-	<i>E. coli/K. pneumominae</i>
QP INICIAL	PCA	A/K	-	+	Desconocido

Abreviaturas: QPCC: queso pasteurizado con cápsulas; QPSC: queso pasteurizado sin cápsulas; QP: queso pasteurizado.

Es necesario aclarar que no se puede indicar que las muestras se encontraban libres de *E. coli*, pues como ya se mencionó algunas de las pruebas dieron positivas e incluso se observó el crecimiento microbiano característico en el agar. No obstante, tomando en cuenta el factor del error humano, se concluyó que la *E. coli* en efecto se encontró en algunas de las muestras, pero en una cantidad reducida que no estuvieron en contra de lo establecido por el INEN (Tabla 6).

Tabla 6. Recuento de las muestras positivas para Salmonella y E. coli, para cada uno de los tratamientos y su relación en porcentaje.

Tratamiento	Salmonella	E. Coli	%
Qc1	0	6	15,79
Qc2	0	3	7,89
Qc3	0	0	-
Qc4	0	6	15,79
Qc5	0	0	-
Qc6	0	3	7,89
Qp1	0	6	15,79
Qp2	0	4	10,53
Qp3	0	0	-
Qp4	0	6	15,79
Qp5	0	0	-
Qp6	0	4	10,53
Total	0	38	100

Abreviaturas: Qc: Queso criollo; Qp: Queso pasteurizado

La figura 1 expresó el comportamiento de las microcápsulas aplicadas en el queso criollo con los distintos tiempos que fueron establecidos anteriormente y la presencia de E. coli. Así mismo identificó la presencia de E. coli en las muestras realizadas en el queso pasteurizado con las mismas condiciones que se establecieron en el queso criollo.

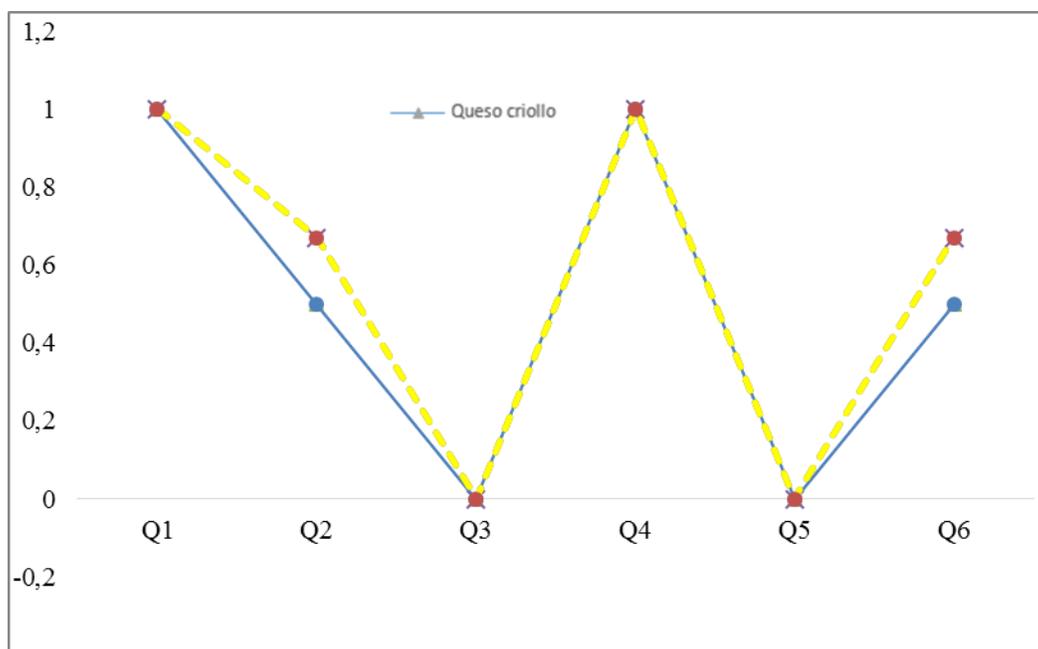
Tabla 7. Análisis de Varianza para E Coli.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tiempo	0	1	0	0	1
B:Sumergido	27	2	13,5	3	0,25
RESIDUOS	9	2	4,5		
TOTAL (CORREGIDO)	36	5			

*Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre E Coli con un 95,0% de nivel de confianza.

De acuerdo a los resultados, el tiempo de sumergido no influyó de manera directa en la vida útil de los quesos, ya que al tener sumergido los dos tipos de quesos utilizados por un tiempo de 1 hora no hubo la presencia de *E. coli* al ser analizados a los 20 días, así mismo al realizar los análisis en un periodo de 20 días y sumergidos los quesos por un periodo de 2 horas hubo un incremento en el desarrollo de *E. coli*, para ambos tipos de queso. Se realizaron de igual manera los análisis de los quesos sin haberle colocado el microencapsulado y en el periodo tanto de 10 como 20 días se identificó la presencia de *E. coli*. Lo cual comprobó que la aplicación del aceite esencial encapsulado en el tiempo de sumergido y en el tiempo evaluado no evidenció una diferencia estadísticamente significativa (tabla 7) y contribuyó como agente antimicrobiano en la dosis y concentración establecida para el tiempo evaluado, así como para el tiempo de inmersión. De tal manera que se puede aceptar la hipótesis nula y rechazar la hipótesis alternativa en relación a la influencia del aceite esencial de AM en los dos tipos de queso evaluados. Según estudios sobre aplicación de microcápsulas de aceite esencial de tomillo; existen factores asociados a la concentración del aceite que también contribuyen como una barrera de control para la proliferación de ataques de patógenos (Bonifaz Nieto, 2019), lo cual debe ser evaluado en extenso para un complemento de la investigación planteada.

Figura 1. Escherichia coli en queso criollo y queso pasteurizado aplicándole encapsulado de aceite de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) como agente antimicrobiano.



Conclusiones

El microencapsulado de aceite esencial de albahaca morada (*Ocimum sanctum*) aplicado en el queso criollo y pasteurizado mostró un efecto inhibitorio en el crecimiento bacteriano, demostrando así que cumple con el objetivo de agente antimicrobiano; sin embargo el efecto inhibitorio fue igual para las muestras evaluadas tanto para el queso criollo como para el pasteurizado; además el uso del mismo sobre los quesos no generó ningún cambio en sus propiedades organolépticas siendo posible el uso dentro de la industria alimentaria como un método de conservación natural no convencional.

El tiempo de sumergido que se aplicó a los distintos quesos no influyó en la presencia de *E. coli* de acuerdo al periodo de tiempo que fue analizado y a esa concentración; así también en la presencia de algún otro microorganismo observado en los análisis realizados. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las variables de tiempo de sumergido y tiempo de evaluación para ambos tipos de queso. Por tal motivo se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa planteada en la investigación, siendo necesario profundizar en las concentraciones de los aceites esenciales como una posible ruta de salida a la implementación de esta técnica como método de conservación para los tipos de quesos evaluados.

Referencias

- 1 Aguilar Chávez, C. (2007). Optimización del proceso de modificación del almidón de maíz ceroso por extrusión y el uso de mezclas de almidones modificados con mucílago de nopal para la encapsulación de aceite esencial de naranja empleando el secado por aspersión.
- 2 Aldana, A. S., Sandoval, E. R., & Aponte, A. A. (2004). Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos. *Ingeniería y competitividad*, 5(2), 73-83.
- 3 Bonifaz Nieto, J. D. (2019). Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos ...,

- 4 Cansing, J. F., & Santillán, N. A. (2012). Producción de la albahaca dulce (*Ocimum basilicum* L.) utilizando cuatro densidades y dos tipos de aplicación de harina de carne como fertilizante. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012.,
- 5 Cardoso-Ugarte, G., & Sosa-Morales, M. (2012). Propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de Alimentos*, 6, 54-65.
- 6 Gómez-Cruz, N., & Jiménez-Munguía, M. (2014). Métodos de secado de emulsiones alimentarias. *Temas selectos de ingeniería de Alimentos*, 8(2), 23-33.
- 7 Gómez López, C., & Chuquibala Checán, J. (2014). Influencia del porcentaje de humedad, tiempo de inmersión en salmuera y presión de envasado al vacío en la vida útil del queso fresco.
- 8 Hernández, P. (2011). Encapsulación de aceite esencial de clavo para su aplicación en la industria alimentaria. Universidad Católica San Antonio.
- 9 Huertas, R. A. P. (2010). Revisión: Microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 63(2), 5669-5684.
- 10 Lucas, M. A. A., Jácome, C., Domínguez, F., & Torres, F. (2019). Evaluación nutricional y fisicoquímica del queso amasado fabricado en la provincia del Carchi, Ecuador. *Revista Bases de la Ciencia*. e-ISSN 2588-0764, 4(3), 55-66.
- 11 Martínez, A. (1996). Aceites esenciales. *J. Nat. Prod*, 59(1), 77-79.
- 12 Moreno, J., López, G., & Siche, R. (2010). Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). *Scientia Agropecuaria*, 1(2), 147-154.
- 13 Perdomo, D., & Palomarez, B. (2015). Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del árbol Aniba *Perutilis Hemsley* (Comino) mediante el método de arrastre con vapor. Universidad Nacional Abierta ya Distancia CEAD Florencia. España.
- 14 Perilla, M. J. (2004). Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo; *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* serotipo Typhi, *Shigella* y *Vibrio cholerae*.

- 15 Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas selectos de ingeniería de Alimentos*, 6(2), 131-148.
- 16 Ramírez, M. D., Garibay, J. M. G., Guzmán, J. J., & Carvajal, A. V. (2016). Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio. *Estudios Sociales: Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 25(47), 87-110.
- 17 Reyna, E. N., Álvarez, G. M., Iliná, A., & Hernández, J. L. M. (2015). Microencapsulación de componentes bioactivos. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 64-70.
- 18 Loor, H. and d. Segovia, "Microencapsulación de aceite esencial de *Lippia alba* y su actividad antioxidante y antimicrobiana para la conservación de alimentos". Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo. 2019.
- 19 Ribeiro, O. V., Alva, A., & Valles, J. M. (2001). Extracción y caracterización del aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*). *Alimentaria*, 1(1), 38-42.
- 20 Salas Yañac, J. (2019). Encapsulación del ácido ascórbico y compuestos fenólicos del extracto de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK) en alginato de sodio mediante gelificación iónica.
- 21 NTE INEN 1528. Normas generales para el queso fresco no madurado. Requisitos, Quito. 2012.
- 22 Saucedo, E. N. R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.
- 23 Vásquez, V., SalhuanaG, J. G., Jiménez, L. A., & Abanto Ríos, L. M. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología aplicada*, 17(1), 45-51.