



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos

**Estudio del efecto conservante del quitosano en una
bebida no gasificada, tipo emoliente**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Ciencia y
Tecnología de los Alimentos

AUTOR

Aida Victoria Mirelly CHAVESTA AYASTA

ASESOR

Ursula VILLAFUERTE MONTES

Lima, Perú

2018



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

“Estudio del efecto conservante del quitosano en una bebida no gasificada, tipo emoliente”

Que presenta la Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos:

AIDA VICTORIA MIRELLY CHAVESTA AYASTA

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

17 (sobresaliente)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 17 de julio de 2018

Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Presidente

Ing. Danny Domínguez Del Águila
Miembro

Mg. Edgar Tapia Manrique
Miembro

Q.F. Paúl Iván Gutiérrez El Escano
Miembro

“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”

DEDICATORIA

A Dios, por iluminarme y no permitir que me rinda en este gran objetivo personal.

A mi madre Dagna Ayasta, a mis hermanos Lorena, Erika, Edgard, Emerson, Diana, hermano político Rolando; por todo su apoyo, por darme ánimos y demostrarme que todo es posible, siempre y cuando te empeñes en realizarlo. Gracias por su apoyo incondicional. A mis sobrinas Daniela y Vanessa por ser el motor de la familia. Son el mejor regalo que he podido tener.

AGRADECIMIENTO (S)

A la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, mi alma máter, que me ha brindado los mejores conocimientos, que perdurarán para toda mi vida.

Al **Vicerrectorado de Investigación (VRI-UNMSM)** por financiar mi trabajo de tesis de pregrado.

A mi asesora **Ing. Ursula Villafuerte** por todo su tiempo, sus consejos, su amistad, su asesoría, y su apoyo en la realización y culminación de esta tesis.

Al **Mg. Olivio Nino Castro Mandujano**, docente de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Por su total apoyo científico, por su apoyo en los análisis del polímero, por la información compartida y por responder cada una de mis dudas, le estaré eternamente agradecida.

A la docente **Deyli Díaz**, por su apoyo en la realización de las pruebas microbiológicas. Su apoyo ha sido uno de los más valiosos.

Al **Ing. Edwin Macavilca** por sus conocimientos compartidos, por aclarar mis dudas y ayudarme incondicionalmente.

A la **Ing. Noemí Bravo**, que fue una de las docentes que me motivo a continuar con mi proyecto y demostrarme lo valioso de la investigación.

A la docente **Eva Ramos**, quien me brindó su apoyo científico a lo largo de la realización de este proyecto.

Al **Sr. Edgar Sáenz Cunza**, secretario de la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros del Perú (FENTEPE), por tenderme su mano amiga, y mostrarme lo valiosa que es nuestra cultura, y lo mucho que todavía falta hacer para promover el consumo de nuestra riqueza nativa.

A mis amigos(as) **Janet, Massiel, Gabriela, Michael, José Luis, John Lui, Edward y Omar**; que siempre supieron tenderme una mano, brindarme una sonrisa y darme palabras de aliento e hicieron posible culminar con éxito esta tesis. Los valoro mucho.

A todas las personas que de alguna u otra manera han apoyado en el desarrollo y culminación de esta tesis.

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto conservante del quitosano aplicando dos niveles de concentración (0.02% y 0.03% p/v), comparado con sorbato de potasio en una bebida no carbonatada, tipo emoliente. La bebida tipo emoliente fue a base de linaza (*Linum sitatissimums*), cola de caballo (*Equisetum giganteum L.*) y cebada (*Hordeum vulgare*). En la primera etapa de la investigación, se realizó una evaluación sensorial a escala hedónica, con 45 consumidores, teniendo un diseño completamente al azar (DCA) de 3 tratamientos, con variaciones en el contenido de quitosano (0.02%; 0.03% y 0.04% p/v) y un tratamiento como blanco (sin adición de quitosano). Las variables de respuesta fueron la preferencia del producto, en los atributos de color, olor, sabor y consistencia. Se interpretaron los resultados mediante un análisis estadístico de la varianza ANOVA ($\alpha < 0,05$), encontrándose que había diferencias significativas entre los tratamientos y que la mayor preferencia, en cuanto el atributo sabor, la tenía la bebida con quitosano al 0.03% p/v, seguida por 0.02% p/v quitosano; y la bebida control. La vida útil media del producto fue realizada mediante la metodología de estudio de vida útil acelerado, analizando las bebidas cada 10 días por un período de 40 días; almacenadas a 20°C, 35°C y 45°C. Se evaluó pH, °Brix, %acidez, ácido ascórbico, turbidez, viscosidad, recuento total de aerobios mesófilos, mohos, levaduras y análisis sensorial. Considerando la degradación del ácido ascórbico como factor determinante para la estimación de la vida útil se obtiene que para los tratamiento de sin quitosano, 0.02%, 0.03% de quitosano, y sorbato de potasio (0.05 g/L) la vida útil es de 88, 94, 118, y 130 días; respectivamente. Se realizó el análisis físico-químico de la bebida con adición de quitosano al 0.03%p/v, obteniendo el contenido nutricional de la bebida. Con esta investigación, confirmamos que el quitosano puede ser utilizado como una alternativa de conservante en bebidas no carbonatadas.

PALABRAS CLAVES: emoliente, quitosano, sorbato de potasio, estudio de vida útil acelerado.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was the evaluating the conservative effect of chitosan by applying two levels of concentration (0.02% and 0.03% w/v), compared with potassium sorbate in a non-carbonated beverage, emollient type. The emollient type drink was a base of linaza (*Linum sitatissimums*), cola de caballo (*Equisetum giganteum L.*) and cebada (*Hordeum vulgare*). In the first stage of the investigation, a sensory evaluation was performed on a hedonic scale, with 45 consumers, having a completely randomized design (DCA) of 3 treatments, with variations in the content of chitosan (0.02%, 0.03% and 0.04% p/v) and a treatment as target (without the addition of chitosan). The response variables were the product's preference, in the attributes of color, smell, taste and consistency. The results were interpreted by means of a statistical analysis of the ANOVA variance ($\alpha < 0.05$), finding that there were significant differences between the treatments and that the greater preference, in how much the flavor attribute, had the drink with 0.03% chitosan p/v, followed by 0.02% w/v of chitosan; and the control drink. The useful life of the means of communication of the product was carried out through the methodology of study of the useful life, which analyzed the beverages every 10 days for a period of 40 days; stored at 20°C, 35 °C and 45 °C, pH, °Brix, % acidity, ascorbic acid, turbidity, viscosity, total count of mesophilic aerobes, molds, yeasts and sensory analysis were evaluated. Considering the degradation of ascorbic acid as a determining factor for the estimation of the useful life obtained for each treatment of without chitosan, 0.02%, 0.03% of chitosan, and potassium sorbate (0.05 g/L) the useful life is 88, 94, 118, and 130 days; respectively. The physico-chemical analysis of the drink was carried out with addition of chitosan at 0.03% w/v, obtaining the nutritional content of the drink. With this research, he confirms that chitosan can be used as a preservative alternative in carbonated beverages.

KEYWORDS: emollient, chitosan, potassium sorbate, shelf life study.

ÍNDICE GENERAL

Lista de tablas.....	8
Lista de figuras.....	10
1. INTRODUCCIÓN	12
OBJETIVOS.....	13
2. GENERALIDADES	14
2.1 Antecedentes de la investigación	14
2.2 Bases Teóricas	16
2.2.1 Sustancias con efectos conservantes	16
2.2.2 Quitina	16
2.2.3 Qitosano	17
2.2.4 Bebidas.....	23
2.2.5 Microbiología de bebidas no carbonatadas	25
2.2.6 Emoliente.....	27
2.2.7 Aditivos alimentarios utilizados en bebidas	32
2.2.8 Análisis sensorial	33
2.2.9 Vida útil, vida en anaquel o shelf life	34
3. METODOLOGÍA	38
3.1 Materiales	38
3.1.1 Materia prima e insumos.....	38
3.1.2 Reactivos	38
3.1.3 Materiales	39
3.1.4 Equipos.....	39
3.2 Métodos	39
3.2.1 Obtención y caracterización del qitosano	39
3.2.2 Purificación del qitosano	39
3.2.3 Qitosano en solución.....	40
3.2.4 Formulación del emoliente	41
3.2.5 Elaboración del emoliente	42
3.2.6 Diseño experimental	44
3.2.7 Evaluación sensorial: Prueba hedónica.....	46
3.2.8 Evaluación del tiempo de vida en anaquel, por método de pruebas aceleradas	48
3.2.9 Composición química proximal de la bebida tipo emoliente	49
4. RESULTADOS.....	50
4.1 Obtención y caracterización del qitosano	50
4.2 Purificación del qitosano	50

4.3	Información previa y pruebas preliminares del emoliente	50
4.4	Formulación del emoliente	53
4.5	Evaluación sensorial: Prueba hedónica.....	53
4.5.1	Atributo: COLOR.....	53
4.5.2	Atributo: OLOR	55
4.5.3	Atributo: SABOR	56
4.5.4	Atributo: CONSISTENCIA	58
4.6	Resultados fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la evaluación del tiempo de vida en anaquel, por el método de pruebas aceleradas	59
4.6.1	Resultados fisicoquímicos.....	59
4.6.2	Resultados microbiológicos.....	71
4.6.3	Resultados de evaluación sensorial	73
4.7	Cálculos y estimación del tiempo de vida en anaquel, por el método de pruebas aceleradas.....	74
4.8	Análisis químico proximal de la bebida tipo emoliente.....	83
5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	83
6.	CONCLUSIONES	93
7.	RECOMENDACIONES	94
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
	ANEXO 1: Metodología y resultados de la caracterización del quitosano obtenido a partir de cabezas de langostino.....	103
	ANEXO 2: Entrevista a Edgar Sáenz Cunza – Secretario del FENTEPE	104
	ANEXO 3: Encuesta previa a la evaluación sensorial.....	105
	ANEXO 4: Ficha de evaluación sensorial	106
	ANEXO 5: Evaluación sensorial – emoliente (TIEMPO DE VIDA)	107
	ANEXO 6: Resultados de la evaluación sensorial: escala hedónica.....	108
	ANEXO 7: Análisis de la correlación de la regresión lineal y gráficas para la estimación de la vida útil: Ln(k) Vs 1/T.....	110
	ANEXO 8: Resultados químico proximal de la bebida tipo emoliente con adición de quitosano	112
	ANEXO 9: Tamizaje fitoquímico o marcha fitoquímica.....	113

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Especificaciones para el quitosano 22
Tabla 2	Usos y aplicaciones del quitosano 23
Tabla 3	Requisitos físico-químicos de la NTP 203.111 para refrescos 24
Tabla 4	Requisitos microbiológicos. NTS 071. XVI BEBIDAS. Bebidas no carbonatadas 25
Tabla 5	Descripción de cada tratamiento en la evaluación sensorial 44
Tabla 6	Descripción de cada tratamiento en el estudio de vida en anaquel 45
Tabla 7	Escala hedónica para la evaluación sensorial 46
Tabla 8	Codificación de las muestras para la evaluación hedónica 47
Tabla 9	Presencia de precipitados durante almacenamiento de 7 días 51
Tabla 10	Formulación del emoliente, con base en 1L de agua purificada 53
Tabla 11	Análisis de varianza y significancia para el color de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos 53
Tabla 12	Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo color 54
Tabla 13	Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo color. 54
Tabla 14	Análisis de varianza y significancia para el olor de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos 55
Tabla 15	Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo olor 55
Tabla 16	Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo olor 56
Tabla 17	Análisis de varianza y significancia para el sabor de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos 56
Tabla 18	Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo sabor 57
Tabla 19	Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo sabor 57
Tabla 20	Análisis de varianza y significancia para la consistencia de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos 58
Tabla 21	Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo consistencia 58
Tabla 22	Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo consistencia 59
Tabla 23	Evaluación de pH en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días. 59
Tabla 24	Evaluación de °Brix en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días. 61
Tabla 25	Evaluación de % acidez en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días. 62
Tabla 26	Evaluación de turbidez en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días. 64
Tabla 27	Evaluación de viscosidad en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días 65
Tabla 28	Evaluación de contenido de ácido ascórbico en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días 67
Tabla 29	Evaluación de la pérdida porcentual del contenido de ácido ascórbico en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días 68
Tabla 30	Evaluación del vacío en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días 70

Tabla 31	Evaluación del crecimiento de aerobios mesófilos en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.	71
Tabla 32	Evaluación del crecimiento de mohos en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días	73
Tabla 33	Evaluación del crecimiento de levaduras en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días	74
Tabla 34	Evaluación del recuento de coliformes (ufc/mL) en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.	75
Tabla 35	Evaluación de la aceptabilidad de las bebidas, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.	76
Tabla 36	Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida sin quitosano, en función de la disminución del ácido ascórbico.	77
Tabla 37	Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre-exponencial), para el tratamiento de bebida sin quitosano.	77
Tabla 38	Bebida sin quitosano. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento	78
Tabla 39	Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.02%, en función de la disminución del ácido ascórbico.	79
Tabla 40	Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre –exponencial), para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.02%.	79
Tabla 41	Bebida con quitosano al 0.02%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento	80
Tabla 42	Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.03%, en función de la disminución del ácido ascórbico.	81
Tabla 43	Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre-exponencial), para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.03%.	81
Tabla 44	Bebida con quitosano al 0.03%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento	82
Tabla 45	Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con sorbato de potasio al 0.005% en función de la disminución del ácido ascórbico.	83
Tabla 46	Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre-exponencial), para el tratamiento de la bebida con sorbato de potasio al 0.005%	83
Tabla 47	Bebida con sorbato de potasio al 0.005%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento	84
Tabla 48	Resultados del análisis químico proximal de la bebida con quitosano	85

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1	Unidad repetitiva de la quitina y unidad repetitiva del quitosano 17
Fig. 2	Esquema de la producción de quitina, quitosano y quitano 17
Fig. 3	Planta y semillas de <i>Linum usitatissimum</i> (linaza) 29
Fig. 4	Planta de cola de caballo 30
Fig. 5	Planta y semillas tostadas de cebada 31
Fig. 6	Proceso de purificación del quitosano. 40
Fig. 7	Dilución de quitosano en solución de ácido ascórbico (1%) 40
Fig. 8	Diagrama de proceso para la obtención de la bebida emoliente 43
Fig. 9	Panelistas consumidores, realizando la prueba de evaluación 47
Fig. 10	Quitosano sin purificar y quitosano purificado 50
Fig. 11	Bebidas tipo emoliente A: Sin adición de quitosano. B: Con adición de quitosano al 0.01 % (solución en ácido ascórbico). C: Con adición de quitosano al 0.01 % (solución en ácido cítrico). 51
Fig. 12	Solución producto de la decocción del membrillo con adición de quitosano al 0.01% (en ácido ascórbico 1%). Presencia de precipitados. 52
Fig. 13	Solución, producto de la decocción de piña con adición de quitosano al 0.01% (en ácido ascórbico 1%). Presencia de precipitados 52
Fig. 14	Evaluación de pH. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C 60
Fig. 15	Evaluación de pH. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 60
Fig. 16	Evaluación de pH. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 60
Fig. 17	Evaluación de pH. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 60
Fig. 18	Evaluación de °Brix. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C 61
Fig. 19	Evaluación de °Brix. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 61
Fig. 20	Evaluación de °Brix. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 62
Fig. 21	Evaluación de °Brix. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 62
Fig. 22	Evaluación del %acidez. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 63
Fig. 23	Evaluación del %acidez. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 63
Fig. 24	Evaluación de % acidez. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 63
Fig. 25	Evaluación de % acidez. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C 63
Fig. 26	Evaluación de turbidez. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 64
Fig. 27	Evaluación de turbidez. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 64
Fig. 28	Evaluación de turbidez. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C. 65

Fig. 29	Evaluación de turbidez. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	65
Fig. 30	Evaluación de viscosidad. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	66
Fig. 31	Evaluación de viscosidad. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	66
Fig. 32	Evaluación de viscosidad. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	66
Fig. 33	Evaluación de viscosidad. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	66
Fig. 34	Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	67
Fig. 35	Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	67
Fig. 36	Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C	68
Fig. 37	Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.	68
Fig. 38	Tratamiento sin quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C	69
Fig. 39	Tratamiento con 0.02% de quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C	69
Fig. 40	Tratamiento con 0.03% de quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C	69
Fig. 41	Tratamiento con sorbato de potasio. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C	70
Fig. 42	Bebida sin quitosano (A1). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento	76
Fig. 43	Bebida con quitosano al 0.02% (A2). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.	78
Fig. 44	Bebida con quitosano al 0.03% (A3). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento	80
Fig. 45	Bebida con sorbato de potasio al 0.05 g/L. Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.	82

1. INTRODUCCIÓN

El sector pesquero (a nivel industrial y artesanal) constituye un gran generador de divisas y empleo. Su elevada y rápida rentabilidad ha traído grandes innovaciones tecnológicas y de comercialización, lo que conlleva a efectos positivos y negativos. Dentro de ellos tenemos la generación de una gran cantidad de residuos en el manejo, almacenamiento, distribución y comercialización, los cuales representan alrededor de 29 millones de toneladas de desechos a nivel mundial, según la FAO (2009)¹.

En el Perú anualmente se captura aproximadamente 6 millones de toneladas de recursos hidrobiológicos (peces, moluscos, crustáceos y otras especies), estos recursos son importantes en nuestra economía². Sin embargo ocasionan también desperdicios orgánicos y un aumento de la contaminación ambiental. Viendo esta problemática es necesaria la investigación en la reutilización de estos desechos. Dentro de esta actividad comercial, también se incluyen los desechos del caparazón de los crustáceos, que están compuestos por proteínas, sales de calcio, magnesio, colorantes y quitina³. La quitina es un compuesto no tóxico y biodegradable, el cual constituye el principal precursor del quitosano, el cual es un polisacárido compuesto por unidades repetitivas de β (1-4)-D-glucosamina. En la industria alimenticia este polímero ofrece un amplio espectro de posibles aplicaciones, destacándose como agente antimicrobiano, antioxidante y como embalaje activamente funcional⁴.

En los laboratorios de la Sección de Química de la PUCP, se ha desarrollado tecnología hasta el nivel piloto para la producción de quitosano. Sin embargo, aún es de interés desarrollar aplicaciones de este producto, transformándolos según su uso y dando un significativo valor agregado a los mismos.

Por otro lado, en el Perú, existe una bebida no carbonatada denominada “emoliente”, cuya elaboración y consumo es de alta y rápida rotación, constituyéndose en una fuente de ingreso para muchas familias y parte del hábito alimenticio de muchos peruanos.

En consecuencia, el objetivo general de la presente investigación es evaluar la aplicación del quitosano como aditivo en una bebida natural y tradicional como la bebida “emoliente”, evaluándolo a diferentes concentraciones y comparándola con un aditivo comercial como el sorbato de potasio.

OBJETIVOS.

GENERAL

- Evaluar el efecto conservante del quitosano aplicando dos niveles de concentración comparado con sorbato de potasio en una bebida no carbonatada, tipo emoliente.

ESPECÍFICOS

- Determinar las concentraciones de quitosano de mayor aceptabilidad, aplicado en la bebida tipo emoliente, en escala hedónica en los atributos de olor, color, sabor y consistencia.
- Determinar la vida útil media de la bebida tipo emoliente con incorporación de quitosano, mediante pruebas aceleradas.
- Caracterizar la bebida tipo emoliente con adición de quitosano mediante análisis microbiológico y químico proximal.

2. GENERALIDADES

2.1 Antecedentes de la investigación

En los últimos años, investigaciones orientadas a la capacidad antimicrobiana del quitosano, han demostrado que se puede proponer como un conservante alternativo aplicado a alimentos. Cunha I. (2011)⁵, propone “el uso de quitosano como alternativa natural para conservación de jugo de acerola”, donde evalúa la acción antifúngica para hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*. También determina la acción conservante del quitosano en la vida útil del jugo de acerola; donde se demuestra su potencial conservante con 2.5 mg de quitosano/mL de jugo, para conservar por un máximo de 7 días de almacenamiento, manteniendo la calidad nutricional y sensorial.

En el año 2012, Palupi S, et al.⁶, realizaron la “Formulación de bebida instantánea a base de quitosano (obtenido a partir de cangrejo pequeño) y té verde”. Desarrollando un nuevo producto alimenticio que contiene quitosano, se establecieron 2 etapas: la formulación del quitosano instantáneo más aceptado (solvente: ácido acético, ácido láctico), y la formulación de la combinación más preferible entre el quitosano instantáneo (5 g/L) y el extracto de té verde (2,5; 5 y 10 g/L). La combinación de 5 g/L de quitosano instantáneo y 2,5 g/L extracto de té verde fue elegido como el más aceptado.

Correa K, et al. (2014)⁷, realizaron la investigación “Evaluación de bebida de chocolate con leche formulada con quitosano modificado”. Desarrollaron una bebida usando el quitosano modificado (hidrogel) como un agente espesante e hicieron una evaluación sensorial y reológica de la bebida. No hubo diferencias entre las bebidas en cuanto a aceptabilidad general. A pesar de ello; la bebida desarrollada tuvo una mejor puntuación, comparada con una bebida de mercado. La evaluación reológica demostró que las bebidas no diferían en viscosidad. Por lo tanto, el quitosano de hidrogel fue eficaz como un agente espesante y proporciona una buena aceptabilidad de la bebida.

Martínez E. (2012)⁸ realizó el trabajo de investigación “Diseño y aplicación de un recubrimiento comestible de quitosano para alargar la vida de anaquel del queso Oaxaca”, evaluó el efecto de los recubrimientos comestibles a base de quitosano para extender la vida útil y mantener la calidad y seguridad del queso asadero.

Concluyendo que al emplear el recubrimiento a base de quitosano, disminuye la pérdida de humedad en el queso Oaxaca, y mantiene los sólidos solubles totales sin cambio alguno, también se demostró que el recubrimiento le proporcionó brillantez al queso; por lo tanto le da mejor apariencia, aunque disminuye con el tiempo. El recubrimiento comestible a base de quitosano logró alargar la vida de anaquel del queso hasta 25 días.

López M, et.al. (2012)⁹ evaluaron el “Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas”; aplicando en fresas películas de quitosano con o sin adición de aceite esencial de canela, las fresas sin quitosano se utilizan como control. Los frutos tratados fueron almacenados por 15 días a 5°C y se evaluaron cambios en la calidad a intervalos de 3 días. Las fresas tratadas y control no mostraron diferencias en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante. Todos los tratamientos redujeron significativamente la población microbiana con respecto al control. El tratamiento con mayor % de aplicación de quitosano, redujo en mayor magnitud el crecimiento microbiano, sin afectar la calidad después de 14 días a 5°C. El control presentó 8 días de vida de anaquel; todos los recubrimientos presentaron la mayor aceptabilidad en comparación con el control. Los resultados indican que los recubrimientos de quitosano con aceite de canela pueden prolongar la vida de anaquel de fresas por 15 días a 5°C.

Rico, F. (2013)¹⁰, demostró el “Estudio de la aplicación de recubrimientos comestibles de quitosano y su combinación con aceites esenciales sobre la vida útil de mango” que el quitosano presenta un gran potencial como ingrediente en la elaboración de películas y recubrimientos comestibles con capacidad biopreservante en la industria de las frutas mínimamente procesadas.

Celeste M. (2014)¹¹ realizó el trabajo de investigación “Aplicación del quitosano en mayonesa”. En donde evalúa el grado de aceptación y caracteres organolépticos de una mayonesa elaborada con quitosano como emulsificante sustituyente parcial del huevo, comparando dichos parámetros con una mayonesa tradicional. Se elaboró una mayonesa casera, se obtuvo una mayonesa en la que se sustituyó parte del huevo por quitosano. El promedio de aceptación fue del 77% mientras

que para la mayonesa tradicional fue del 75%. No se encontraron diferencias en apariencia, color y aroma. En cambio, el grado de aceptación del sabor y la textura fue levemente superior en la mayonesa tradicional.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Sustancias con efectos conservantes:

Son sustancias que, por separado o mezcladas, pueden inhibir, retardar o detener procesos de deterioro de los alimentos. Aumentan la vida útil de los productos alimenticios, detienen los procesos de fermentación, enmohecimiento, putrefacción y otras alteraciones biológicas¹².

Los conservantes más empleados son sorbato de potasio y benzoato de potasio, los cuales inhiben microorganismos, como lo hacen los antibióticos de amplio espectro. Son sustancias químicas poco complejas, con estructura similar a otras naturales que cumplen la función de conservar los alimentos. Por ejemplo: el ácido benzoico que se encuentra de forma natural en frutas. El sorbato de potasio se puede presentar en forma de gránulos o polvos, teniendo un potencial antimicrobiano del 74%; así mismo, presenta una alta solubilidad en medio acuoso y por ello su gran aplicación en alimentos¹³.

2.2.2 Quitina

La quitina se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza, después de la celulosa es el polímero natural más abundante y más ampliamente distribuido en seres vivos después de esta, presenta una tasa de reposición tan alta en la biósfera que –se estima- duplica a la de la celulosa, por lo que constituye un importante recurso renovable. Se estima que cada año se producen en la naturaleza alrededor de 100 billones de toneladas de quitina presente en crustáceos, insectos, moluscos y hongos, lo cual convierte a la quitina en la fuente de biomasa disponible en el planeta menos explotada¹⁴.

La principal fuente de quitina son exoesqueletos de crustáceos: como el camarón, cangrejo, langostinos, provenientes en su mayoría de las industrias de estos alimentos enlatados.

La quitina posee una estructura lineal (Fig.1) de alto peso molecular, es completamente insoluble en agua o en medio ácido, presenta baja reactividad.¹⁵ Estas propiedades son las que limitan sus aplicaciones.

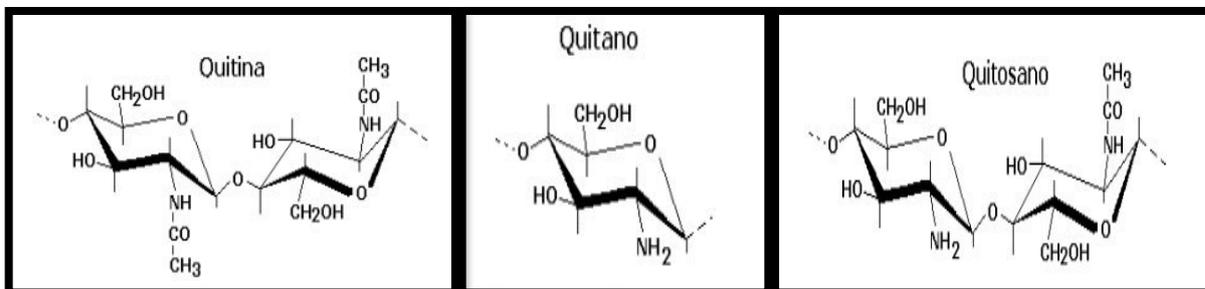


Fig. 1 Izq.: Unidad repetitiva de la quitina. Centro: Quitano. Der.: Unidad repetitiva del quitosano

2.2.3 Quitosano

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano (Fig.2). Sin embargo; cuando la desacetilación del material es incompleta o parcial se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades β(1-4)- 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y β(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera materiales con distintas propiedades denominados quitosanos¹⁴ (Fig.1).

Por su parte, el quitosano es también un polisacárido que se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos, sin embargo; su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas^{14,15}.

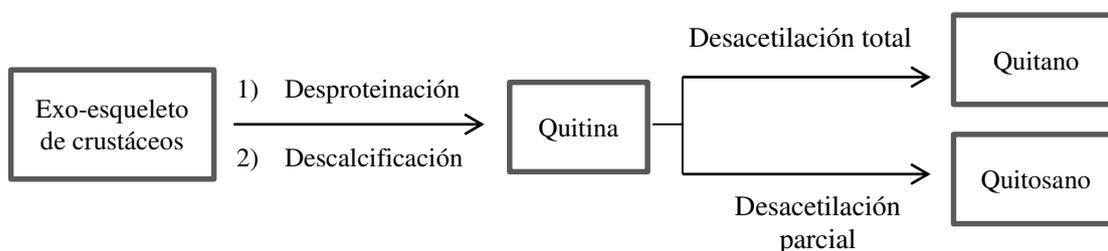


Fig. 2 Esquema de la producción de quitina, quitosano y quitano
Fuente: Colina M. (2014)

Una diferencia en las propiedades del quitano y el quitosano es la distinta solubilidad en medio acuoso que puede llegar a tener. La presencia de grupos aminas en la cadena polimérica ha hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se estudian desde hace ya algún tiempo, por la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones, tales como las reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto, obtención de películas, etc., de las cuales se obtienen materiales con propiedades adecuadas para aplicaciones inmediatas y futuras en biotecnología, biomedicina, agricultura, tratamiento de aguas, en cosmética, en papeles y envases, en fibras y reactivos para la industria textil^{16,17}.

2.2.3.1 Métodos de obtención del quitosano

Se han desarrollado varios procedimientos para la obtención de quitosano en los últimos años. El método más utilizado es la reacción de conversión de quitina en este polisacárido natural principalmente por N-desacetilación alcalina. Dicho proceso se realiza mediante el tratamiento directo de la quitina con una solución concentrada de hidróxido de sodio o potasio (40-50 %) a una temperatura de 100°C o más, con hidrólisis de la mayoría o todos los grupos acetilos del polímero. Otro de los procedimientos de obtención de este polímero, es también la desacetilación de la quitina pero mediante el uso de reactivos ácidos; sin embargo, este método puede provocar la hidrólisis del polisacárido y traer como consecuencia, bajos rendimientos del producto final (quitosano). Por esta razón, los métodos alcalinos son los procesos comúnmente empleados para la desacetilación de la quitina¹⁶. El tercer método para la obtención de quitosano es con la aplicación de enzimas. La ventaja de este método respecto al químico, es la obtención de un material uniforme en sus propiedades físicas y químicas, hecho muy apreciado para aplicaciones biomédicas. La quitina desacetilasa es la enzima que cataliza la conversión de quitina a quitosano por la desacetilación de los residuos N-acetil D-Glucosamina. La limitación de este método es que la enzima no es muy efectiva en la desacetilación de quitina insoluble, y por lo tanto es necesario un pre tratamiento^{15, 17}.

2.2.3.2 Propiedades físico – químicas del quitosano

Debido a su alto peso molecular y a su estructura lineal no ramificada, el quitosano es un potente agente viscosante en medio ácido y se comporta como un material pseudoplástico. Por ende, la viscosidad de las soluciones de quitosano aumenta al incrementar la concentración de éste, mientras que disminuye al elevar la temperatura y el grado de desacetilación del producto¹⁸.

Es insoluble a pH alcalino y neutro, siendo soluble en ácidos, sobre todo en ácidos orgánicos, presentando solubilidad limitada en ácidos inorgánicos. En disolución, los grupos amino del polímero se protonan dando como resultado un polisacárido soluble cargado positivamente ($R-NH_3^+$)⁴.

2.2.3.3 Actividad antimicrobiana del quitosano

El quitosano tiene una actividad antimicrobiana y puede actuar sobre ciertas bacterias, levaduras y hongos, siendo menos efectivo en aquellas que lo poseen en sus paredes celulares¹⁹. Tienen un amplio espectro contra microorganismos que comúnmente contaminan alimentos como bacterias de los géneros *Escherichia*, *Listeria*, *pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, identificados como los más potentes patógenos asociados en enfermedades alimentarias²⁰.

La actividad antimicrobiana no está totalmente dilucidada. Se proponen 3 mecanismos de acción:

2.2.3.3.1 Carácter catiónico

Las cargas positivas del quitosano (NH_3^+), interaccionan con las cargas negativas de las membranas de las células microbianas. Se ha propuesto por ejemplo, que la acción del quitosano frente a los hongos filamentosos puede ser explicada por la alteración directa de la membrana funcional. Se propone que el quitosano actúa de dos maneras distintas en la superficie externa del microorganismo. A bajas concentraciones, interactúa con las cargas negativas superficiales, mientras que, a altas concentraciones, el gran número de cargas positivas puede impartir un cambio de cargas superficiales y mantener el microorganismo en suspensión²¹.

El medio de la solución es muy importante para cumplir su actividad antimicrobiana, es decir, a pH mayores a 5.5 se ha estimado que los grupos aminos se encuentran parcialmente protonados. En cambio, a pH menor a 5.5 se encuentran protonados,

reaccionando con los grupos hidrofílicos aniónicos (como lipopolisacáridos, ácido teicoico) de las bacterias Gram-negativas y proteínas celulares de los microorganismos. Se ha ensayado a pH 7, y la acción bactericida del biopolímero disminuye por 2 razones: la disminución de grupos aminos protonados y la solubilidad²⁰.

2.2.3.3.2 Agente quelante

El quitosano puede actuar como agente quelante formando complejos con trazas de metales, lo que inhibe el desarrollo microbiano y producción de toxinas. Es decir, el quitosano limita en forma indirecta el crecimiento de microorganismos, haciendo que nutrientes minerales esenciales para las actividades celulares vitales no estén disponibles para ellos²⁰. También se ha observado que el quitosano es capaz de quelar cationes divalentes estableciendo interacciones electrostáticas con moléculas aniónicas (fosfato, carboxilato), que componen los lipopolisacáridos, desestabilizando la membrana celular de las bacterias²¹.

2.2.3.3.3 Penetración al interior de la célula

El quitosano de bajo peso molecular inhibe la acción de varias enzimas, ya que interfiere en la síntesis de proteínas por interacción con el ADN y por inhibición de la síntesis de ARNm, procesos que tienen lugar debido a la penetración del quitosano en el núcleo de los microorganismos²¹. En el caso de *E. coli*, la acción bactericida del quitosano se explica por la unión de los policationes del polímero con los aniones de la superficie bacteriana, alterando la permeabilidad de la membrana⁸.

La composición nutricional de la matriz del alimento puede influir en la actividad antimicrobiana de quitosano. Devlieghere et. al. (2004)²² estudiaron la interacción de quitosano con componentes de los alimentos. Encontraron que a altas concentraciones de almidón (30% w/v) inhibía la actividad antimicrobiana de quitosano. Este resultado, sin embargo, no podría generalizarse a todos los tipos de almidón. A su vez, la influencia de las proteínas dependía de su carga, cargado negativamente interactuará con las cargas positivas de quitosano, neutralizando, y evitando que actúe sobre la superficie celular, reduciendo de ese modo la actividad antimicrobiana. También el NaCl interfiere con las fuerzas electrostáticas entre el quitosano y la célula microbiana. En cuanto a la grasa, se encontró que su influencia en la actividad antimicrobiana de quitosano es insignificante.

2.2.3.4 Actividad antioxidante del quitosano

El estudio de la actividad antioxidante de quitosano y derivados de este, está siendo objeto de estudio en numerosos trabajos de investigación en los últimos años. El mecanismo mediante el cual el quitosano presenta capacidad antioxidante no es aún muy claro, pero parece ser que se atribuye a los grupos amino y a los grupos hidroxilos unidos a carbono en las posiciones C-2, C-3 y C-6 del anillo de piranosa, autores plantean que podrían producirse tres mecanismos distintos en el atrapamiento de radicales libres: la reacción de los grupos hidroxilos del propio polisacárido con los radicales $\cdot\text{OH}$, la reacción de los grupos $-\text{NH}_2$ con los radicales $\cdot\text{OH}$ para formar radicales macromoleculares estables y la reacción de los grupos amino protonados ($-\text{NH}_3^+$) con los $\cdot\text{OH}$ a través de reacciones de adición²³.

2.2.3.5 Biodegradación del quitosano:

Algunos estudios han demostrado que la quitina y el quitosano se biodegradan in vivo debido a su susceptibilidad a la hidrólisis enzimática de los enlaces β (1 \rightarrow 4) mediada por la enzima lisozima, presente en el organismo humano. Sus productos de degradación son oligosacáridos o monosacáridos, metabolitos naturales que una vez absorbidos pueden ser incorporados a las rutas metabólicas de glicoaminoproteínas²⁰, o bien pasa al estómago y al encontrarse en un medio ácido, ataca a los lípidos presentes en lo que se está digiriendo, secuestrándolos en su estructura, siendo posteriormente eliminados mediante las heces intactos sin haber pasado al torrente sanguíneo. Debido a la presencia del grupo amino en su estructura, puede ligarse a las superficies cargadas negativamente tales como las membranas mucosas. Cuando pasa a nuestro intestino y ya en contacto con la mucosa intestinal, forma un gel que adquiere carga eléctrica positiva. Esa carga positiva interacciona con una gran parte de las grasas que ingerimos y con los ácidos biliares, puesto que éstos tienen carga negativa, atrapándolas e impidiendo su absorción. La grasa capturada puede ser hasta 10 veces su peso y se convierte en no absorbible, siendo por eso su valor calórico nulo. Es por ello también que el quitosano puede cumplir el rol de fibra funcional²¹.

2.2.3.6 Qitosano como aditivo alimentario

El uso del quitosano como aditivo alimentario fue aprobado en Japón y Korea en 1983 y 1995, respectivamente. Su inclusión en el Codex Alimentarius fue considerada por su comisión en el 2003, pero actualmente no se recoge su uso en las listas generales estandarizadas de aditivos alimentarios ya que no ha sido aprobado ni por la FDA (Food and Drug Administration) ni por la EFSA (Agencia Europea de Seguridad Alimentaria). Los estudios en humanos son escasos y se sigue trabajando al respecto y en su reconocimiento como aditivo alimentario en el marco legal. Actualmente además de su uso como aditivo alimentario en países asiáticos existe un producto comercial ChitoClear® que fue reconocido como producto GRAS (Generally Recognised As Safe) en Estados Unidos en el 2001²⁰. El quitosano ha sido aceptado como suplemento dietario o como aditivo alimentario por la legislación de varios países, entre ellos: Italia, Francia, Noruega, Polonia, Estados Unidos, Argentina y Japón. Su dosis letal (DL₅₀) en ratas, es de 16 g/kg de peso corporal, valor que lo sitúa en un nivel similar a la azúcar y lo hace menos tóxico que la sal²¹.

2.2.3.7 Especificaciones para la aplicación de quitosano

La Farmacopea USP 40/NF 35, establece algunas especificaciones con las que debe contar el quitosano para su aplicación en uso farmacéutico. Las especificaciones se detallan en la Tabla 1:

Tabla 1: Especificaciones para el quitosano

	Handbook of Pharmaceutical Excipients ²⁴	FARMACOPEA USP 40/NF 35 ²⁵
Identificación	+	
Aspecto de solución	+	
Materia insoluble en agua	≤ 0.5%	
pH (1% p/v)	4.0 – 6.0	
Viscosidad	+	
Grado de desacetilación	+	70 – 95%
Cloruros	10.0 – 20.0%	
Metales pesados	≤ 40 ppm	≤ 10 ppm
Humedad	≤ 10 %	
Cenizas	≤ 1.0 %	≤ 1.0 %

Fuente: Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6° edición. 2009 y FARMACOPEA USP 40/ NF 35, Vol. 4. Edición 2017

2.2.3.8 Usos y aplicaciones del quitosano

La amplia actividad antimicrobiana del quitosano junto con sus bondades como agente floculante, coagulante, antioxidante; ha hecho posible sus diversas aplicaciones como se detalla en la tabla 2.

Tabla 2: Usos y aplicaciones del quitosano

1. Tratamientos de aguas	Actúa como removedor de iones metálicos (Hg, Cd, Pb, Ag, Ni), como floculantes, coagulantes para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad; y precipitantes de proteínas, aminoácidos, tintes, colorantes, algas, aceites, metales radioactivos, partícula en suspensión y pesticidas en soluciones acuosas. ^{8,26}
2. Medicina	Por sus propiedades antimicrobianas, su histocompatibilidad y su capacidad de retención de humedad y de liberación controlada de sustancias, así como por sus propiedades mecánicas (elasticidad), las moléculas de quitosano forman parte de vendajes, lentes de contacto, gotas oftalmológicas, cremas y recubrimientos para quemaduras, heridas y úlceras, suturas quirúrgicas, implantes, cultivos de tejido y microencapsulación de fármacos ^{16, 17} .
3. Biotecnología	El quitosano actúa en la inmovilización de enzimas, en la separación de proteínas, en biosensores, en recubrimientos celulares, cromatografía, inmovilización celular, reacción con aldehídos, captación de células y enzimas ²⁷⁻²⁹ .
4. Agricultura	En recubrimientos de semillas, como fertilizante y spray foliar, en la conservación de las frutas (películas comestibles), como nematocida e insecticida, en la protección frente a plagas y ataque de hongos (induciendo la inducción de las quitinasas frente a hongos), como virucida y estimulante del crecimiento (transporte de nutrientes) ²⁷ .
5. Cosmética	Se emplea como activo en el cuidado bucal, en el tratamiento para la piel (celulitis-patentado) y cabello. Tiene funciones humectantes, abrasivas (limpieza de la piel), su polaridad positiva (fijación de los productos a piel y pelo) y su no alergenicidad ^{27, 29} .
6. Industria papelera	Ayuda en el aumento del rendimiento de la pulpa y de la capacidad de retención de agua (pañuelo de papel), como adhesivo, tratamiento de superficie en el papel (mayor resistencia y mejor fijación de la tinta) ²⁹ .
7. Industria textil	El quitosano se utiliza como agente para evitar el encogimiento de los tejidos y fijador de color ²⁹ .
8. Alimentos	<p>A. <i>Como espesantes, gelificantes, emulsificantes y como mejoradores de textura:</i> Fijan agua y grasas.²⁹</p> <p>B. <i>Envoltura y recubrimiento protector de alimentos:</i> Tienen propiedades de resistencia, son flexibles y duraderos con propiedades mecánicas similares a polímeros comerciales. Las películas de quitosano conservan la calidad de frutas y vegetales, crean una barrera a los gases, reduciendo la disponibilidad de oxígeno e incrementa la concentración de dióxido de carbono,</p>

	<p>aumentan la vida de anaquel de frutas y verduras^{27, 29}.</p> <p>C. <i>Conservante</i>: Actúa como agente antimicrobiano, presentan capacidad contra levaduras, bacterias y mohos in vitro e in vivo. Su actividad antimicrobiana, depende de diversos factores como el pH, grado de desacetilación y polimerización¹⁹.</p> <p>D. <i>Suplemento dietario</i>: Como fibra dietaria, gracias a su interacción con grasas y su capacidad por retener agua²⁰.</p>
--	---

2.2.4 Bebidas:

Son todos los alimentos líquidos, naturales o industrializados, que sirven para satisfacer nuestros requerimientos alimentarios, cuyo consumo e industrialización está sujeta a las normas y legislación vigente que los regula³⁰.

La Norma General del CODEX para los aditivos alimentarios (CODEX STAN 192-1995) considera a las bebidas refrescantes dentro del grupo de bebidas no alcohólicas, las cuales comprenden aguas naturales (minerales y de manantial) y otras aguas embotelladas (las cuales pueden ser sin o con gas)³¹.

Según la reglamentación peruana (NTP-Normas Técnicas Peruanas) las bebidas no alcohólicas se clasifican en: Refrescos, Bebidas jarabeadas gasificadas, jugos de fruta, néctar de fruta, bebidas de fruta.

2.2.4.1 Refrescos

Según la Norma Técnica Peruana NTP 203.111:2010³², el refresco es el producto elaborado con agua potable tratada, ingredientes y aditivos permitidos, sometidos a un tratamiento de conservación adecuado, envasado y que es de consumo directo. Debe cumplir con los requisitos expuestos en la Tabla 3.

A. REFRESCOS. Requisitos, según la NTP 203.111:2010

Tabla 3. Requisitos físico-químicos de la NTP 203.111 para refrescos

Parámetros físico-químicos	Mín.
Sólidos solubles, % (en grados brix a 20°C)	7,0
pH	2,0
Acidez titulable, g/100 cm ³ (expresado como ácido cítrico anhidro)	0,10

Los refrescos deben tener un color uniforme, olor y sabor característicos a la fruta, verduras o legumbre declarada, excepto aquellos con sabor indefinido.

B. JUGOS, PULPA, CONCENTRADOS, NÉCTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. Según la NTE INEN 2 337:2008 ³³

En requisitos complementarios, se declara:

- El espacio libre tendrá como valor máximo el 10 % del volumen total del envase.
- El vacío referido a la presión atmosférica normal, medido a 20°C, no debe ser menor de 320 hPa (250 mm Hg) en los envases de vidrio, ni menor de 160 hPa (125 mm Hg) en los envases metálicos.

2.2.5 Microbiología de bebidas no carbonatadas

Las principales causas de deterioro de los alimentos, son las biológicas o microbiológicas, que son producidas por las enzimas naturales de los alimentos y las causadas por los microorganismos³⁴.

Según la RM .591-2008 NTS 071³⁵ (Tabla 4), se establecen los criterios microbiológicos de calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, que para las bebidas no carbonatadas son las siguientes:

Tabla 4. Requisitos microbiológicos. NTS 071. XVI BEBIDAS. Bebidas no carbonatadas³⁵.

	n	c	m	M
Aerobios mesófilos (ufc/mL)	5	2	10	100
Mohos (ufc/mL)	5	2	1	10
Levaduras (ufc/mL)	5	2	1	10
Coliformes (NMP/mL)	5	0	< 3	---

Fuente: R.M. 591, MINSA 2008

En donde:

n = número de muestras por analizar

c = número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.

m = índice máximo permisible para indicar el nivel de buena calidad

M = índice máximo permisible para identificar el nivel aceptable de calidad.

A. Aerobios Mesófilos

Bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30° C, pero pueden hacerlo en rangos bien amplios de temperaturas inferiores y mayores a los 30° C. Todas las bacterias patogénicas de origen alimenticio son mesófilas. Se analizan porque son útiles como indicadores de calidad, es decir evidencian las condiciones de manejo, la eficiencia del proceso de fabricación o la inmediata alteración del producto³⁴.

B. Mohos:

Los mohos invaden con rapidez cualquier sustrato, gracias a su eficiente diseminación, a su crecimiento rápido y a que poseen una rica carga enzimática. La alteración que estos producen, se deben a las modificaciones que desarrollan durante su desarrollo, ya que toman del sustrato todos los elementos que necesitan para su crecimiento y para producir energía necesaria para los procesos vitales.

La mayoría de estos microorganismos se desarrollan entre los 15 y 30°C, con un óptimo crecimiento alrededor de 20 a 25°C, sin embargo existen especies que presentan un lento pero significativo crecimiento a los -6°C. Las esporas de los mohos resisten temperaturas sumamente bajas, pero también muy altas, permaneciendo aptas para germinar cuando se recuperen las condiciones ambientales³⁴.

C. Levaduras:

Las levaduras que con frecuencia contaminan los alimentos, son especies bien conocidas que provocan cambios indeseables en ellos. Los cambios se pueden manifestar de dos formas, puramente estéticas, debido a la presencia física de las levaduras y otra, más profunda, resultado del metabolismo de las levaduras, que puede provocar aumento de pH, aromas particulares entre otros.

La temperatura de crecimiento está comprendida entre los 5 y 37°C, siendo la óptima a 25°C, además a 0°C puede existir crecimiento, pero es muy lento ^{30,34}.

D. Coliformes:

Los coliformes son bacilos cortos que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las principales especies de bacterias coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter*

aerogenes; no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose entre las mismas especies de otros géneros de la familia Enterobacteriaceae e incluso especies de *Aeromonas*. El grupo de coliformes fecales incluye a los coliformes capaces de crecer a temperatura elevada ó 45°C)³⁴.

2.2.6 Emoliente

La Real Academia de la Lengua³⁶ lo define como un medicamento “que sirve para ablandar una dureza o tumor o una inflamación”. Sin embargo; el concepto actual popular en el Perú es el de una bebida caliente que se consume en todas épocas del año, y que se expenden de forma ambulatoria en las calles y ahora también se encuentra envasado y en establecimientos (tipo cafés)³⁷.

Su origen se remonta en el Virreinato, cuando el emoliente llegó al Perú, inicialmente como agua de cebada y otras especias. Su fama medicinal se esparció rápidamente. Hermilio Valdizán cuenta que la preparación “fue muy empleada en la época Colonial, tanto que llegó a construir base de una verdadera industria en Lima, donde había pequeños establecimientos dedicados exclusivamente al expendio de emoliente y por cuyas calles deambulaban unos súbditos chinos que vendían la bebida. Esto ya en plena época republicana”³⁷.

El término "emoliente" para una bebida es completamente incierto, dado que un "emoliente" es unguento aplicado normalmente y externamente, que se supone para calmar la piel inflamada y membranas mucosas, o para suavizar la piel dura y el tumor. El término emoliente fue probablemente acuñado porque la bebida originalmente se suponía que mejoraba la digestión³⁸. Confirmando el valor nutricional, la nutricionista Geraldine Maurer manifiesta que, al contener linaza, entrega fibras en forma de goma (lignina y lignanos), la cual es muy buena para el organismo, estimula la peristaltis intestinal, ayuda a reducir el colesterol y mejora la flora gástrica, lo que optimiza el sistema inmunológico³⁹.

En el 2014, se aprueba la Ley 30198: *Ley que reconoce la preparación y expendio o venta de bebidas elaboradas con plantas medicinales en la vía pública, como microempresas generadoras de autoempleo productivo*. Esta norma dispone que los gobiernos locales puedan suscribir convenios de cooperación con las

asociaciones de expendedores en la vía pública de bebidas tradicionales dentro de su jurisdicción, en el marco de acciones que contribuyan a un desarrollo integral, sostenible y ordenado de la comunidad. A su vez se declara cada 20 de febrero el “Día del emoliente, quinua, maca, kiwicha y demás bebidas naturales tradicionales”^{40,41}.

El biólogo Jorge Cabrera del Instituto Nacional de Salud (INS) señala que dentro de nuestro país Perú, el mismo emoliente va variando de ingredientes de acuerdo a las costumbres y a las plantas características de la región^{42,43}.

Actualmente en el Perú, existe la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros del Perú (FENTEPE), quienes son un gremio legal de trabajadores independientes que buscan el desarrollo integral de sus asociados, capacitaciones para brindar servicios de calidad, acorde con las normativas de seguridad y salubridad vigentes en el país. El actual secretario general es Edgar Sáenz Cunza, quién cordialmente aceptó una entrevista y nos facilitó la información sobre los ingredientes que incluye el emoliente tradicional⁴⁴.

A continuación, se describen las características de las especias vegetales usualmente utilizadas para la elaboración del emoliente.

2.2.6.1 Especies vegetales en el emoliente

2.2.6.1.1 Linaza:

- Nombre científico: *Linum usitatissimum*
- Nombre común: Linaza
- Descripción botánica: Hierba anual de tallo erecto y liso que puede alcanzar hasta de 70 cm de alto, ramificándose en el ápice. Hojas alternas, pequeñas, delgadas y alargadas. Flores terminales de color azul pálido. Su fruto es una pequeña cápsula globular que contiene diez semillas, en cada cavidad⁴⁵.

Esta oleaginosa, contiene 41% de grasa, 21% de proteína, 28% de fibra dietaria, además de vitaminas, minerales y carbohidratos. Posee alto contenido del ácido graso poliinsaturado alfa-linoléico (Omega-3), que representa en su composición 50

- 55% de los ácidos grasos totales, y las fibras representan cerca de 40% de su peso total, siendo el 10% soluble y el 30% insoluble⁴³. Tales sustancias se relacionan al potencial efecto beneficioso, como reducción en el riesgo del desarrollo de las enfermedades cardiovasculares, cáncer, actividad anti-inflamatoria, efecto laxante y antioxidante, además de la prevención de síntomas de la menopausia. Respecto a las fibras de la linaza, las insolubles aumentan el volumen de las heces fecales y reducen el tiempo del tránsito intestinal; y las solubles ejercen efecto hipoglicemiante e hipocolesterolémico, con la formación de un gel intra-luminal que disminuya la superficie de contacto con las vellosidades, reduciendo la absorción de colesterol y glucosa^{45,46}.



Fig.3 Planta y semillas de *Linum usitatissimum* (linaza)

2.2.6.1.2 Cola de caballo

- Nombre científico: *Equisetum giganteum* L.
- Nombres comunes: Yerba del platero, limpiaplata, cola de caballo, huiñal, cavalinho gigante, rabo de cavalo, cauda de cavalo.
- Descripción botánica: Planta perenne, que alcanza por lo común 1.20 metros de altura, con tallos articulados erectos, huecos, excepto en los nudos, estriados (con finas líneas longitudinales), con ramas verticiladas.

Contiene minerales (Sílice, calcio, magnesio, cromo, hierro, manganeso, potasio); ácidos (salicílico, málico, esquís ético), saponinas, nicotina, glucósidos, heteroxidos flavónicos, taninos y fitosteroles. La "cola de caballo" es una planta muy rica en sales minerales: además de silicio, contiene abundante potasio. Por el efecto del potasio y también de las sustancias flavonoides, posee efecto diurético, tiene gran capacidad para eliminar agua del cuerpo. Su administración da lugar a un moderado incremento de la eliminación de agua con excreción de cloruros, sodio y potasio, aunque de éste último muy poco significativa⁴⁷.



Fig. 4 Planta de cola de caballo

2.2.6.1.3 Cebada

- Nombre científico: *Hordeum vulgare*.
- Nombres comunes: barley (Inglés), cebada (Español), cevada (Portugués).
- Descripción botánica: Planta herbácea con tallo fistuloso de 60 cm a 1 m. de altura, hojas anchas y lanceoladas, flores pequeñas agrupadas en espiguillas que presentan unas prolongaciones finas llamadas aristas. Los frutos son carióspside⁴⁸.

La fibra de la cebada tiene la propiedad de atrapar el colesterol e impedir su absorción en el tracto digestivo. Lo cual contribuye a reducir el colesterol y a mejorar el metabolismo de los ácidos grasos. Igualmente el estreñimiento y ciertas enfermedades como el cáncer de colon. En cuanto al contenido de minerales la

cebada es una fuente importante de zinc (43 mg/Kg promedio), fósforo, potasio y hierro. Entre las vitaminas, están las del grupo B, que contribuyen a mantener saludable el sistema nervioso⁴⁹.



Fig. 5 Planta y semillas tostadas de cebada

2.2.6.1.4 Canela

- Nombre científico: *Cinnamomum ceylanicum*
- Descripción botánica: La canela es un árbol tropical, originario de Asia, crece a una altura comprendida entre los 8 y los 17 m. Son arboles de hojas perennes, con flores blancas que encierran casi todos sus órganos de aceites esenciales, pero sus esencias varían, según el órgano donde se hallan y según la edad de estos órganos. Su aroma alivia la tensión y contribuye a estabilizar los nervios. Las propiedades de esta planta son producidas por los aceites esenciales que contiene⁵⁰.

2.2.6.1.5 Clavo de olor

- Nombre científico: *Syzygium aromaticum*
- Descripción botánica: Se obtiene de un árbol perenne que florece dos veces al año. Los botones florales tienen inicialmente un color pálido que poco a poco se convierte en verde para después tornar a un color rojo o marrón oscuro. Los clavos, son los capullos sin abrir y se cosechan cuando las hojas verdes han cambiado de color verde a un amarillo-rosa. Su aceite esencial y extractos posee efecto antimicrobiano.⁵¹

2.2.7 Aditivos alimentarios utilizados en bebidas

Se utilizan con el objetivo de mejorar las características organolépticas y aumentar la vida útil del producto. Su uso y composición está establecido de acuerdo a las normas nacionales de aditivos alimentarios: Norma Técnica Peruana (NTP) y normas internacionales: CODEX ALIMENTARIUS³¹.

a. Edulcorantes⁵²:

Su principal función es la de ofrecer dulzor a los alimentos. Sin embargo, para ser aceptado por la industria alimentaria, necesita reunir las siguientes características: ser inocuo, su sabor dulce debe ser rápidamente percibido, no debe cambiar el sabor original del alimento, mantener su dulzor después de tratamientos mecánicos, físicos y químicos.

b. Estabilizantes⁵²:

Son aquellos aditivos que posibilitan el mantenimiento de una dispersión uniforme de dos o más sustancias no miscibles en un alimento.

Cumplen funciones tecnológicas específicas, por ello actúan como: agentes endurecedores, agentes de regulación de la densidad, agente de retención de la humedad o agua, estabilizadores de espuma.

El estabilizante más usado en la industria alimentaria es el carboximetilcelulosa (CMC). Se utiliza por varias razones, entre ellas, por poseer un amplio rango de viscosidad y formar geles que son estables a rangos de pH ácidos, lo cual es óptimo para bebidas, refrescos y néctares.

c. Acidulantes⁵²:

Son un grupo de aditivos que se caracteriza por cumplir la función de dar sabor ácido al alimento o incrementar su acidez. A su vez controlan el pH, actuando como amortiguadores, inhibir microorganismos, etc.

En el hombre tanto los aditivos ácidos como sus sales – por tener estructuras tan simples- son absorbidos pasando directamente a la vellosidad intestinal sin necesidad de ser digeridos, ya en la sangre se metabolizan exactamente como los ácidos acéticos, láctico, cítrico. El ácido ascórbico es un polvo cristalino blanco, químicamente, el ácido ascórbico comparte las características de otros ácidos carboxílicos.

2.2.8 Análisis sensorial:

Disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones hacia las características de los alimentos. Al consumir un alimento se estimulan diferentes sentidos: Estímulos visuales (color, forma, brillo del alimento), estímulos táctiles (percibidos con la superficie de los dedos y el epitelio bucal), estímulos olorosos (aromático, fetídico, ácido), estímulos auditivos (crujientes, burbujeante), estímulos gustativos percibidos por las papilas gustativas (dulce, salado, agrio, ácido)⁵³.

La *textura o consistencia* del producto es la propiedad sensorial de los alimentos que es detectada por los sentidos del tacto, la vista y el oído y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación. Entre las características captadas por los receptores bucales (lengua, dientes y paladar) están: fibrosidad, grumosidad, harinosidad, adhesividad, elasticidad, viscosidad^{54, 55}.

La evaluación sensorial también nos proporciona información sobre la calidad de los alimentos evaluados y las expectativas de aceptabilidad de parte del consumidor. Uno de los tipos de pruebas sensoriales son las pruebas afectivas o hedónicas⁵⁶, su objetivo es determinar la aceptabilidad de consumo de un producto. El juez expresa su reacción subjetiva ante un producto indicando si le gusta o disgusta, si lo acepta o lo rechaza. Las pruebas deben ser lo más espontáneas posibles. Para obtener una respuesta estadística significativa se hace una consulta entre 30 a más personas⁵⁷. La escala más utilizada es la escala hedónica de 9 puntos, aunque también existen variantes de ésta, como son la de 7, 5 y 3 puntos o la escala gráfica de cara sonriente que se utiliza generalmente con niños. Es la prueba recomendada para la mayoría de estudios, o en proyectos de investigación estándar, donde el objetivo es simplemente determinar si existen diferencias entre los productos en la aceptación del consumidor⁵⁸.

2.2.8.1 Selección y entrenamiento de evaluadores ⁵⁹

Un panel de análisis sensorial constituye un verdadero “instrumento de medición”, ya que los resultados de los análisis realizados dependen de sus miembros. La evaluación sensorial puede ser realizada por tres tipos de jueces: “jueces”, “jueces calificados” o “jueces expertos”. Los jueces pueden ser “jueces

novatos” que no tienen que cumplir con un criterio preciso de selección y entrenamiento (consumidores); los jueces calificados son jueces que han sido seleccionados y entrenados para una prueba sensorial en particular.

Cuando deba realizarse un procedimiento de selección, algunos criterios importantes para seleccionar evaluadores serán los siguientes:

- a) Capacidad general para realizar la tarea sensorial específica, lo cual puede incluir una sensibilidad especial a los estímulos que se está estudiando.
- b) Disponibilidad
- c) Motivación (buena disposición e interés)
- d) Buena salud (incluyendo la ausencia de alergias específicas o tratamiento con medicamentos).

2.2.9 Vida útil, vida en anaquel o shelf life

La vida útil de un alimento se define como el tiempo que transcurre entre la producción/envasado del producto y el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales⁶⁰. La vida útil de un alimento finaliza cuando el producto presenta un riesgo para la salud del consumidor o porque las propiedades organolépticas y de calidad se han deteriorado⁶¹.

Se debe definir cuál será la variable de mayor impacto en el deterioro del producto para analizarla respecto al tiempo, con la finalidad de utilizarla como variable de respuesta. Cuando no se conoce esta variable, por lo general, se realizan pruebas sensoriales, microbiológicas y fisicoquímicas en forma simultánea⁶⁰.

2.2.9.1 Factores que intervienen en la vida útil o características del deterioro de alimentos

Durante el almacenamiento y distribución los alimentos son expuestos a una serie de factores que pueden afectar su vida útil, estos factores pueden ser clasificados en intrínsecos (actividad de agua, pH, acidez total, potencial redox, nutrientes, entre otros) y extrínsecos (temperatura, humedad, oxígeno, sistemas de procesamiento, tipo de empaque y luz)⁶¹.

- A. Deterioro Físico: Uno de los principales cambios físicos que se dan, es la transferencia de humedad, aunque también puede darse migración de grasas, estos fenómenos deterioran el alimento. Otro cambio físico es el que

se produce a nivel de envase al reaccionar este con la composición del alimento; esta interacción afecta la permeabilidad del envase y consecuentemente modificará la atmósfera interna del alimento lo que originará contaminación microbiana⁶².

- B. Deterioro químico: Suelen producirse por el alimento o por los componentes del alimento al interactuar con factores externos como el oxígeno. Entre los principales cambios que pueden presentarse se encuentran: la rancidez de los alimentos con altos contenidos de grasa, reacciones de oxidación, reacciones enzimáticas (pueden causarse por acción de las enzimas propias de los alimentos), hidrólisis química, pardeamiento no enzimático entre otros⁶².
- C. Deterioro microbiológico: Los microorganismos son la causa más frecuente de alteración de los alimentos y el principal motivo de toxiinfecciones. Dentro de este amplio grupo se incluyen mohos, levaduras y células bacterianas⁶³.

2.2.9.2 Diseño experimental en estudios de vida útil

Existen dos tipos de diseño aplicables a los estudios de vida útil⁶³:

- Diseño básico: consiste en almacenar un único lote de muestras en las condiciones seleccionadas e ir haciendo un muestreo en los tiempos prefijados.
- Diseño escalonado: consiste en almacenar diferentes lotes de producción en las condiciones seleccionadas a diferentes tiempos, de forma de obtener en un mismo día todas las muestras con los diferentes grados de deterioro y en ese día analizarlas.

2.2.9.3 Estudio Acelerado de vida útil

Los métodos acelerados de estimación de la vida de anaquel de alimentos se basan en la aplicación de los principios de la cinética química sobre el efecto que las condiciones ambientales tienen sobre la velocidad de deterioro (temperatura, presión, humedad, gases de la atmósfera y luz)⁶⁴.

Se describe la ecuación general de velocidad de reacción:

$$d[A]/dt = -k[A]^n$$

- Donde: [A] = Concentración de A; d [A]/dt = Velocidad de pérdida o ganancia de A; t=tiempo; k=constante de velocidad; n=orden de la reacción.

La velocidad de reacción es decir, la velocidad de aparición o desaparición de una sustancia, necesita ser adaptada a cada sistema. Por ello es importante identificar cuál es la orden de reacción que se aplicará, y esto se consigue experimentalmente ^{64,65}.

- **Orden de reacción cero (n=0)**

Para reacciones de orden cero, el porcentaje de pérdida de vida en anaquel en el tiempo es constante a una temperatura constante.

$$A = A_0 - kt$$

- Donde: A = Valor de la característica de calidad en el tiempo; A₀ = Valor inicial de la característica de calidad; t=tiempo; k=constante de velocidad.

- **Orden de reacción uno(n=1)**

Muchos alimentos que no se deterioran por orden cero siguen un modelo donde n=1, que resulta de un deterioro exponencial. Los tipos de deterioro que siguen una reacción de primer orden son: crecimiento microbiano, pérdida de vitaminas, pérdida de calidad proteica.

$$\ln[A] = -kt + \ln[A_0]$$

- Donde: A = Valor de la característica de calidad en el tiempo; A₀ = Valor inicial de la característica de calidad; t=tiempo; k=constante de velocidad.

Varias reacciones químicas y biológicas pueden darse en alimentos, dependiendo de la temperatura a la cual sean almacenados. Por ende, almacenar los productos a temperaturas elevadas provocará cambios más rápidos y el alimento se tornará inaceptable en un tiempo más corto que si estuviera almacenado a una

temperatura menor, por lo que se puede deducir que la estabilidad depende tanto del tiempo como de la temperatura de almacenamiento⁶⁰.

La variable que más afecta la velocidad de las reacciones de deterioro es la temperatura; los métodos que aceleran el deterioro por efecto de ésta se basan en el cumplimiento de la *ley de Arrhenius*⁶⁴:

$$k = k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)}$$

- Donde k: velocidad de reacción a temperatura T (°K); k₀: factor pre exponencial o velocidad de reacción pseudo-cero; E_a es la energía de activación para la reacción de deterioro; R es la constante de los gases ideales (R=1.987 cal/mol), y T es temperatura en °K.

Utilizando el modelo de Arrhenius se calcula la constante de velocidad para las diferentes temperaturas, estableciendo una relación lineal entre k y 1/T (T en °K).

La vida útil (t_s) usando la ecuación de Arrhenius se calcula de la siguiente manera:

$$t_s = ([A_0] - [A]) / (k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)}) \text{ orden cero (n=0)}$$

$$t_s = \text{Ln}([A_0]/[A]) / (k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)}) \text{ primer orden (n=1)}$$

- Donde t_s: vida útil; [A]: concentración final del atributo de calidad; [A₀]: concentración inicial del atributo de calidad. K₀: facto pre exponencial.
- **Vida útil media:** Es el tiempo en que una determinada concentración de un compuesto se reduce a la mitad de su valor⁶⁵.

$$t = t_{1/2} \rightarrow A = A_0 / 2$$

$$t_{1/2} = \frac{\text{ln}(2)}{k}$$

3. METODOLOGÍA

El trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio de “Procesos Tecnológicos alimentarios” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

3.1 MATERIALES:

3.1.1 Materia prima e insumos:

a. Materia prima:

Los siguientes insumos se adquirieron envasados en bolsa de polipropileno de la Marca “Naturandes” (Lote: 12.12.16/ F.V:12.12/17), en los centros comerciales de la ciudad de Lima, Perú:

- Cola de caballo - *Equisetum giganteum L*
- Cebada (tostada) - *Hordeum vulgare*
- Linaza - *Linum usitatissimum*
- Canela - *Cinnamomum verum*
- Clavo - *Syzygium aromaticum*

b. Aditivos:

- Azúcar blanca refinada, marca: “Paramonga”
- Ácido cítrico, grado alimenticio.
- Ácido ascórbico, grado alimenticio.
- CMC sódica
- Quitosano (conservante), entregado por la Pontificia Universidad Católica del Perú – Laboratorio de la Sección Química, con fines de investigación.
- Conservante alimentario: Sorbato de Potasio.

3.1.2 Reactivos:

- Ácido acético al 1%, NaOH (0.1 N, 1 N), solución de fenolftaleína al 1%, solución de almidón al 1%, ácido sulfúrico, biftalato de potasio, agua destilada, test kit de ácido ascórbico (HACH-ASC-1).

3.1.3 Materiales

- Termómetros digitales Mod.WT-1, probetas, cronómetro, embudos, crisol, fiolas, placas Petri, pipetas, papel filtro, coladores, goteros, baguetas, vasos precipitados, matraces, olla a presión de aluminio – RECORD 12L.

3.1.4 Equipos

- Refrigeradora Coldex,
- Potenciómetro portátil (pH-metro) – HANNA (Mod:Checker)
- Refractómetro manual portátil. BOECO
- Estufa Memmert. Modelo: UM 400
- Balanza Analítica KERN. Mod:ABT 220 – 4M
- Agitador Magnético. FISHER. Mod:139
- Viscosímetro rotacional Brookfield. Modelo RVT
- Vacuómetro con aguja, para lata. Punta de acero 304
- Mufla LINDBERG. Mod: 51894
- Turbidímetro portátil HACH 2100 Q
- Cocinilla eléctrica FINEZZA

3.2 MÉTODOS:

La investigación se realizó según los siguientes procedimientos:

3.2.1 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO

La obtención y caracterización del quitosano se realizó en la planta piloto PUCP de obtención de quitosano, a partir de cabezas de langostinos (*Litopenaeus Vannamei*) **ANEXO N° 1**.

3.2.2 PURIFICACIÓN DEL QUITOSANO, según Signini e Campana – Filho⁶⁶

La purificación del quitosano (fig. 6) se realizó con el objetivo de reducir las partículas insolubles y el porcentaje de minerales en la muestra de quitosano. Para comprobar que el quitosano purificado ha tenido reducción de cenizas y/o impurezas, se realiza el análisis de humedad y cenizas.

La humedad se realizó con el método gravimétrico AOAC 925.45 Edition 2016⁶⁷, y cenizas con el método gravimétrico por vía seca. AOAC 950.14 Edition 2016⁶⁷.

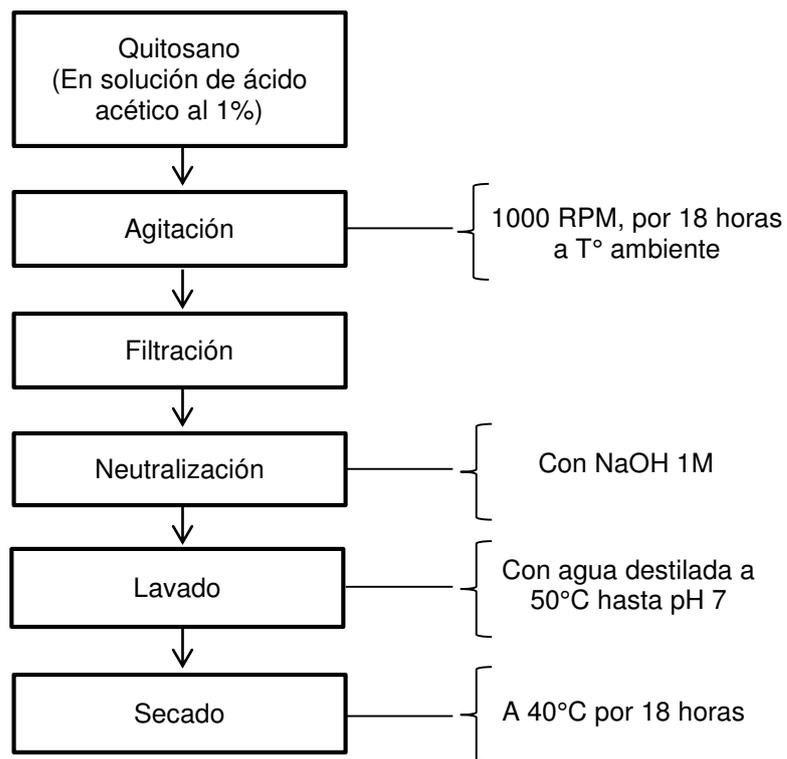


Fig. 6 Proceso de purificación del quitosano. Fuente: Santos J. E. et al.⁶⁶

3.2.3 QUITOSANO EN SOLUCIÓN

El quitosano purificado (fig.7) fue diluido al 1% en 2 diferentes soluciones: ácido ascórbico (1%) y ácido cítrico (1%), por 18 horas a 500 RPM⁷. Estas soluciones se utilizarán en la primera prueba preliminar (ítem 3.2.4.2 (A)).



Fig.7 Dilución de quitosano en solución de ácido ascórbico (1%)

3.2.4 FORMULACIÓN DEL EMOLIENTE:

3.2.4.1 Entrevista a secretario del FENTEPE

Como fuente de información se realizó una entrevista al Sr. Edgar Sáenz Cunza, secretario de la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros del Perú (FENTEPE) - ANEXO N°2.

3.2.4.2 Evaluación de las formulaciones preliminares:

A. Emoliente + quitosano (en solución de ácido ascórbico al 1%); Vs. emoliente + quitosano (en solución de ácido cítrico al 1%)

Considerando los insumos para el emoliente, según el ANEXO N°2, se procedió a elaborar el emoliente y evaluar sus características sensoriales, durante los primeros 7 días de almacenamiento. Se realizaron 3 diferentes bebidas: A: Bebida tipo emoliente sin quitosano; B: Bebida tipo emoliente con quitosano al 0.01% (en solución de ácido ascórbico al 1%); C: Bebida tipo emoliente con quitosano al 0.01% (en solución de ácido cítrico al 1%).

B. Insumos + quitosano:

En relación a los resultados de la prueba A, se procedió a evaluar cada insumo de la bebida tipo emoliente, utilizando los insumos: linaza, cebada, cola de caballo, membrillo, piña, canela, clavo y azúcar blanca. Se utilizaron envases diferentes para cada insumo (insumo + agua purificada), en cada envase se incorporó quitosano a una concentración de 0.01% (ácido ascórbico al 1%) y se almacenó por 7 días. Cada envase tuvo la misma dosis de quitosano y fueron almacenados en las mismas condiciones (temperatura ambiente)

El objetivo fue identificar cuáles eran los insumos que generan mayores sedimentos, característica no deseable que se identifica al envasar el producto. La metodología utilizada fue visual.

3.2.5 ELABORACIÓN DEL EMOLIENTE ⁵²:

Se siguió el siguiente proceso (fig.8), para llegar al producto final: bebida emoliente con adición de quitosano.

- 1. Recepción de Materia prima:** La linaza, cola de caballo, cebada tostada, canela y clavo fueron los principales componentes de la bebida emoliente, estas fueron conseguidas en un centro comercial, envasados en polietileno, con la marca "Naturandes" con Registro Sanitario autorizado, rotulado de lote y fecha de vencimiento.
- 2. Acondicionamiento de la materia prima:** Los insumos se extrajeron en buenas condiciones. Realizando la inspección y limpieza, extrayendo los restos de plantas extrañas.
- 3. Pesado:** Para ello el agua represento el 100% en base a los componentes de la bebida de emoliene. Se pesó la linaza, la cola de caballo, la cebada tostada, canela, clavo, azúcar, CMC y ácido cítrico.
- 4. Decocción (método de extracción) ⁶⁸:** Para extraer los principios activos de las semillas y tallos, se debe aplicar la decocción, que consiste en hervir las semillas, plantas o tallos, en agua a fuego lento. Este proceso se realizó en agua hirviendo por 10 min.
- 5. Filtrado:** Para esta operación se utilizaron mallas finas, esterilizadas.
- 6. Mezclado y homogeneizado:** Se agrega el CMC (estabilizante) junto con el azúcar. Y se agita con el fin de que toda la solución sea homogénea.
- 7. Estandarización:** Se agrega ácido cítrico para estandarizar la acidez en todas las bebidas, a pH: 3.5 y °Brix: 8.
- 8. Pasteurizado^{69, 70}:** Se realizó con la finalidad de reducir la carga microbiana y asegurar la inocuidad del producto. Este proceso se realizó en una marmita de cocción a una temperatura de 75 °C a 80°C por 15 minutos.
- 9. Envasado:** Se envasa el producto en botellas de vidrio (las botellas vacías pasan por un tratamiento en agua a temperatura de 110°C por 8 min). Las botellas ya selladas se introducen en agua fría, para provocar un shock térmico y de esta manera por diferencia de presiones el producto se encuentre bien sellado.
- 10. Almacenamiento:** Las botellas fueron almacenadas a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

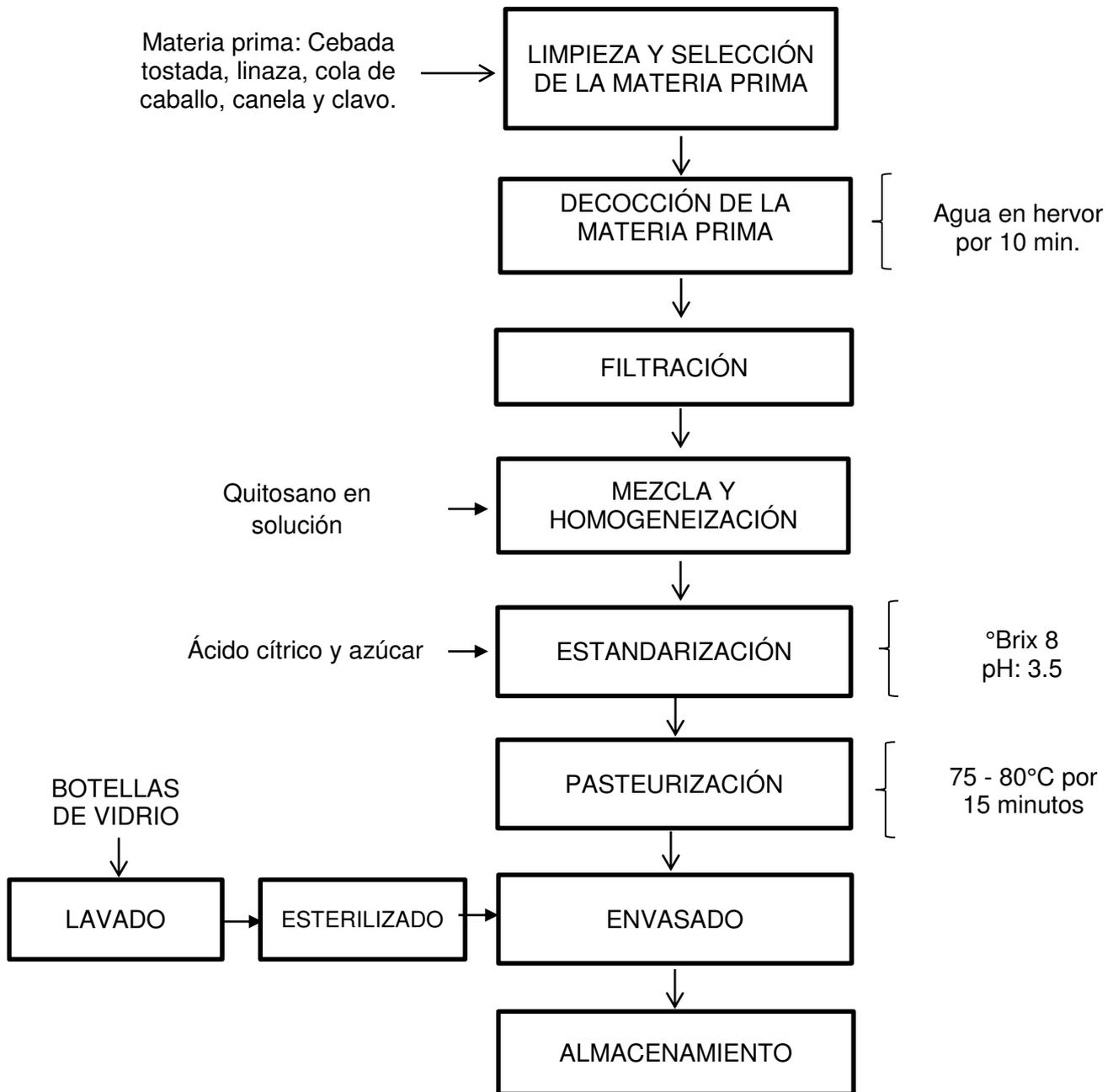


Fig. 8 Diagrama de bloques para la obtención de la bebida tipo emoliente.

Fuente: Elaboración propia

3.2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental de la investigación se dividió en 2 etapas:

3.2.6.1 Determinación de las concentraciones de quitosano de mayor aceptabilidad en los atributos de olor, color, sabor y consistencia; mediante la prueba sensorial afectiva: escala hedónica⁵⁶.

La primera etapa consistió en elaborar cuatro bebidas tipo emoliente, de los cuales tres son procesados con el conservante quitosano cada uno con diferente porcentaje de adición, (tabla 5) y uno es procesado sin quitosano. Para la prueba se contó con 45 panelistas consumidores.

- A. Tratamientos:** Bebidas tipo emoliente procesadas según el contenido de quitosano incorporado en su formulación (Tabla 5).
- B. Variable dependiente:** la evaluación hedónica del producto, en los atributos de color, olor, sabor y consistencia.
- C. Variable independiente:** el porcentaje de quitosano adicionado (0.02%, 0.03% y 0.04%).

Tabla 5: Descripción de cada tratamiento en la evaluación sensorial

Tratamiento	Bebida tipo emoliente
1 (A1)	Sin quitosano
2 (A2)	0.02 % p/v de quitosano (*)
3 (A3)	0.03 % p/v de quitosano (*)
4 (A4)	0.04 % p/v de quitosano (*)

(*)Solución de quitosano en solución de ácido ascórbico (1%).

Los tratamientos fueron dispuestos en un Diseño de bloques completamente al azar (DBCA), cuyos factores serán el contenido de quitosano y la respuesta de preferencia de los consumidores. Los datos serán analizados considerando una

distribución normal mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un α de 0,05 y la validación de los datos mediante prueba no paramétrica de Friedman. Para el análisis de los datos se utilizará el paquete estadístico R commander, versión R-UCA-3.3.1, para Windows 8 y Excel 2013.

3.2.6.2 Evaluación de la vida útil de la bebida tipo emoliente con incorporación de quitosano, sin quitosano y adición de sorbato de potasio

La segunda etapa consistió en evaluar el tiempo de vida en anaquel de las bebidas con mayor preferencia (ítem 3.2.6.1). Se evaluaron 4 bebidas, considerando las 2 primeras de mayor preferencia (0.02 % y 0.03 % p/v), la muestra control (sin quitosano) y una bebida con adición de un conservante comercial utilizado en bebidas, el Sorbato de Potasio al 0.05 g/L.

- A. **Tratamientos:** A cada bebida tipo emoliente procesada se le codificó según el contenido de quitosano incorporado en su formulación. (Tabla 6)
- B. **Variable dependiente:** Resultados fisicoquímicos (pH, °Brix, % acidez titulable, % ácido ascórbico, turbidez); resultados microbiológicos (aerobios mesófilos, mohos, levaduras, coliformes); resultados sensoriales (aceptación o rechazo).
- C. **Variable independiente:** Tiempo, temperatura y concentración de quitosano.

Tabla 6: Descripción de cada tratamiento en el estudio de vida en anaquel

Tratamiento	Código	Bebida tipo emoliente
1	A1	Sin quitosano
2	A2	0.02% p/v de quitosano (*)
3	A3	0.03% p/v de quitosano (*)
4	SK	0.05 g/L de sorbato de potasio

(*)Solución de quitosano en solución de ácido ascórbico (1%).

3.2.7 EVALUACIÓN SENSORIAL: Prueba hedónica⁵⁶

Se realizó en un local preuniversitario, con panelistas entre 18 a 50 años⁵⁶ (profesores, alumnos, personal administrativo).

1. Selección de jueces consumidores⁵⁸: Los panelistas consumidores interesados en participar en el presente estudio llenaron una encuesta preliminar. Con el fin de conocer si es un consumidor activo, de bebidas envasadas, y si presenta algún tipo de enfermedad que le impida percibir de forma adecuada los atributos del producto. **ANEXO 3:** Encuesta previa a la evaluación sensorial
2. La evaluación sensorial se realizó mediante la prueba de aceptabilidad a 45 consumidores que afirmaron consumir al menos 2 veces a la semana una bebida envasada (agua mineral, refrescos, té, etc.), y no presentan enfermedades respiratorias.
3. Se utilizó una escala hedónica de 5 puntos⁵⁵, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7: Escala hedónica para la evaluación sensorial

Puntuación	
5	Me gusta mucho
4	Me gusta ligeramente
3	No me gusta, ni me disgusta
2	Me disgusta ligeramente
1	Me disgusta mucho

Para la evaluación sensorial se presentaron 4 bebidas de emoliente (fig.9), codificadas de la siguiente manera como se muestra en la tabla 8.

Tabla 8: Codificación de las muestras para la evaluación hedónica

CODIFICACIÓN	Concentración de quitosano en la bebidas
738	Sin quitosano
574	0.02%
469	0.03%
294	0.04%

A cada evaluador se le presentó el **ANEXO 4: FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL**.



Fig. 9 Panelistas consumidores, realizando la prueba de evaluación sensorial

3.2.8 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA MEDIA, POR MÉTODO DE PRUEBAS ACELERADAS⁶⁴:

Para estimar la vida útil se aplicó un diseño básico⁶³ (ítem 2.2.9.2), realizando pruebas aceleradas durante un período de 40 días. Para este estudio se establecieron las temperaturas de almacenamiento de 20°C, 35°C y 45°C, temperaturas similares a las aplicadas en otros estudios de vida útil acelerados ^{62, 63, 64,71}.

Se evaluaron las siguientes características, por triplicado:

3.2.8.1 Fisicoquímicas:

- a) **pH:** Método potenciométrico (AOAC, 2016)⁶⁷
- b) **Sólidos solubles totales:** Método refractométrico (AOAC, 2016)⁶⁷
- c) **Acidez titulable:** Titulación ácido - base (AOAC 2016)⁶⁷
- d) **Ácido ascórbico:** Método Yodométrico por recuento de gotas. – Kit “Ascorbic Acid Test Kit, Model ASC-1” de HACH USA⁷².
- e) **Turbidez.** Turbidímetro portátil HACH 2100 Q. (Método US-EPA 180.1⁷³). Determinación turbidimétrica de la relación mediante una señal de dispersión de luz (90°) nefelométrica primaria y una señal de dispersión de luz transmitida. Los resultados se expresan en NTU.
- f) **Viscosidad** Viscosímetro de Brookfield, spin N°2, a temperatura ambiente (22,5 °C). Los análisis se realizaron a velocidad de corte 100 RPM (factor: *4, según tabla del equipo, para viscosímetro RVT). Los resultados se expresaron en centipoise (cP)⁷⁴.
- g) **Determinación del vacío:** NMX-F-144-1978⁷⁵: Determinación del vacío en recipientes rígidos herméticamente sellados.

3.2.8.2 Microbiológicas

Las placas petrifilm son medios de cultivos listos para ser empleados.

- a) **Aerobios mesófilos**⁷⁶: el cultivo contiene nutrientes del Agar Standard y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de colonias (Placas 3M™ Petrifilm. Validado y comparado con el método ISO 4833)
- b) **Mohos y levaduras**⁷⁶: El cultivo contiene nutrientes de Saboraud, dos antibióticos, un agente gelificante y un indicador de fosfatos que promueve el contraste y facilita el recuento de colonias (Placas 3M™ Petrifilm. Validado y comparado con el método ISO 21527-1).
- c) **Coliformes**⁷⁶: El cultivo contiene nutrientes de bilis rojo-violeta, un agente gelificante y un indicador de tetrazolium (Placas 3M™ Petrifilm. Validado y comparado con el método ISO 4833).

3.2.8.3 Análisis Sensorial:

Se realizó mediante la prueba de escala de respuestas⁷⁷: aceptable/no aceptable, teniendo los descriptores de la bebida, para cada escala, en una tabla referencial (Tabla de Karlsruhe). Ver ANEXO N°5

Se realizó con 10 panelistas semientrenados⁷⁸ de una empresa privada, a los cuáles se les informó sobre su participación activa en el trabajo de investigación.

3.2.9 COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL DE LA BEBIDA TIPO EMOLIENTE

Se realizó en el laboratorio de Calidad Total - Universidad Nacional Agraria La Molina, donde se determinaron:

- Cenizas totales (g/ 100mL): AOAC 950.14 Cap.29. Edition 2016
- Grasa cruda (g/ 100mL): AOAC 905.02 Cap.33. Edition 2016
- Humedad (g/ 100mL): AOAC 925.45 Cap.44. Edition 2016
- Proteína (g/ 100mL): AOAC 920.152 Cap.37. Edition 2016
- Carbohidratos (g/ 100mL): Por diferencia MS-INN. Collazos 1993

4. RESULTADOS

4.1 Obtención y caracterización del quitosano: ANEXO N°1

4.2 Purificación del quitosano

Se obtuvo como resultado de la purificación (fig.10): 0.32% de cenizas y una humedad de 15.6%. Al contener menos impurezas, es más soluble en medio ácido, y facilita su uso como solución para su posterior aplicación.

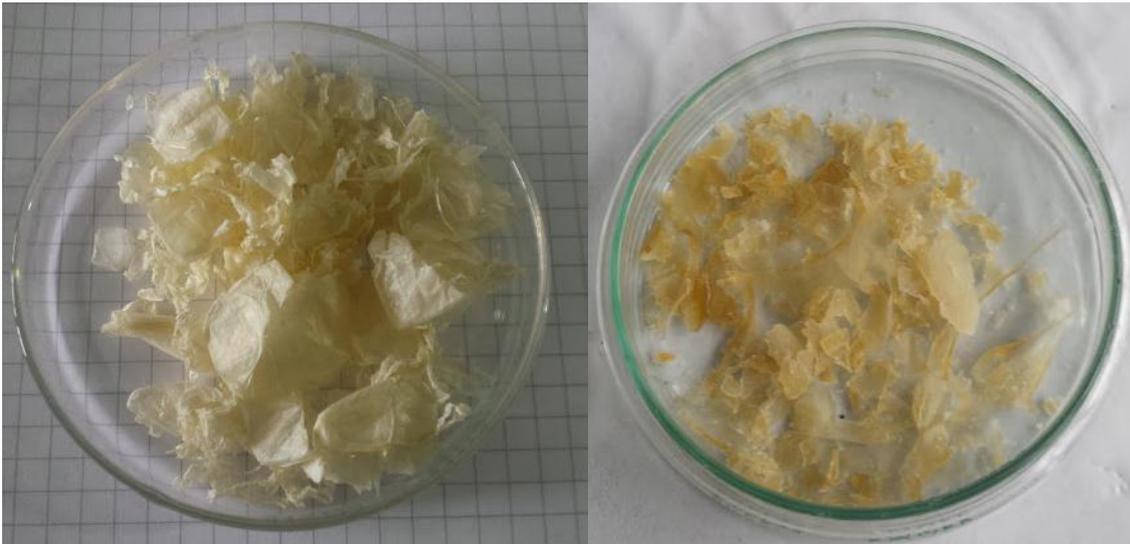


Fig. 10 Izquierda: Quitosano sin purificar; Derecha: Quitosano purificado

4.3 Información previa y pruebas preliminares del emoliente

4.3.1 Entrevista a secretario del FENTEP

ANEXO N°2: Los ingredientes varían según la preferencia de los consumidores; sin embargo, generalmente los insumos que se utilizan son: linaza, cebada tostada, cola de caballo, canela, clavo, azúcar. Los cuáles serán los ingredientes para las próximas pruebas.

4.3.2 Pruebas preliminares

**A. Emoliente + quitosano 0.01 % (en solución de ácido ascórbico al 1%);
Vs. emoliente + quitosano 0.01% (en solución de ácido cítrico al 1%)**

Las bebidas envasadas fueron evaluadas durante los 7 primeros días de almacenamiento (fig.11).

Se evidenció presencia de precipitados en las 3 bebidas; también se evidencio que en la bebida C: Bebida tipo emoliente con quitosano al 0.01% (en solución de ácido

cítrico al 1%), luego de 7 días, tomaba un color marrón oscuro (pardeamiento), característica que no es deseable en el producto. Por ello la bebida C, se descarta para las próximas etapas del estudio.



Fig. 11 Bebidas tipo emoliente A: Sin adición de quitosano. B: Con adición de quitosano al 0.01 % (solución en ácido ascórbico). C: Con adición de quitosano al 0.01 % (solución en ácido cítrico).

B. Insumos + Quitosano

Mediante evaluación visual se determinó la relación entre la insumos y presencia de precipitados en el emoliente con adición de quitosano al 0.01% (en solución de ácido ascórbico al 1%), durante almacenamiento de 7 días.

Tabla 9. Presencia de precipitados durante almacenamiento de 7 días

INSUMO	RESULTADOS – PRECIPITADOS (*)
Cebada tostada	+++
Linaza	++
Cola de caballo	+
Membrillo	++++
Piña	+++
Canela y clavo	+
Azúcar blanca	+

En donde (*):

–: Ausencia

+: Presencia escasa

++: Presencia moderada

+++ : Presencia relativamente abundante

++++: Presencia abundante

Se evidencia que la cebada, el membrillo (fig. 12) y la piña (fig.13) generan mayor precipitado. Con base a esta premisa se definen los ingredientes a utilizar en el emoliente envasado.

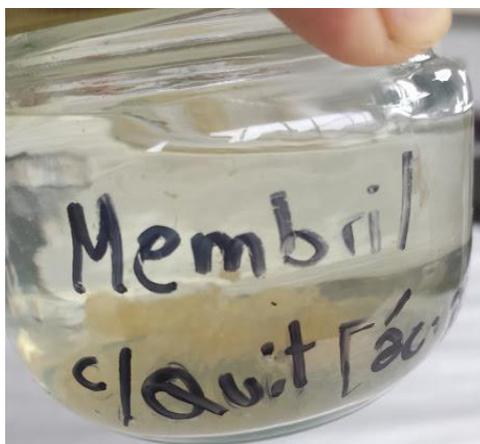


Fig. 12 Solución producto de la decocción del membrillo con adición de quitosano al 0.01% (en ácido ascórbico 1%). Presencia de precipitados.

Concluyendo que los ingredientes para la formulación del emoliente serán: linaza, cola de caballo, cebada tostada, canela, clavo, ácido cítrico y azúcar. La cebada tostada se utilizará en menor proporción, puesto que se evidencia que genera precipitados, sin embargo; al ser un ingrediente esencial y usual en la bebida es inevitable no utilizar este insumo.



Fig. 13 Solución, producto de la decocción de piña con adición de quitosano al 0.01% (en ácido ascórbico 1%). Presencia de precipitados.

4.4 Formulación del emoliente

Tabla 10. Formulación del emoliente, con base en 1L de agua tratada

Materia prima e insumos	Cantidad en g para 1L	Materia prima e insumos	Cantidad en g para 1L
Linaza	12	Carboximetilcelulosa sódico (CMC)	1
Cebada	25	Canela	0.7
Cola de caballo	5	Clavo	0.4
Azúcar	50	Ácido cítrico	0.7

4.5 EVALUACIÓN SENSORIAL: Prueba hedónica:

Los resultados para cada atributo se encuentran en el ANEXO N°6: Resultados de la evaluación sensorial: escala hedónica

4.5.1 Atributo: COLOR

- **Planteamiento de hipótesis estadística**

Ho: No existen diferencias significativas en el atributo COLOR entre tratamientos

Ha: Existen diferencias significativas en el atributo COLOR entre tratamientos

A. Análisis de varianza

Tabla 11. Análisis de varianza y significancia para el color de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Valor F	Probabilidad
Concentración de Quitosano (tratamientos)	27.79	3	9.265	14.145	4.76 x 10 ⁻⁷ *
Jueces(bloques)	54.30	44	1.234	1.884	0.00317 *
Residual	86.46	132	0.655		

Código de significancia (): 0.05*

El análisis estadístico ANOVA (tabla 11) demuestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos con un 95% de confiabilidad. Se procede a realizar el análisis estadístico de Friedman.

B. Prueba de Friedman

- **Medias de los tratamientos**

Tabla 12. Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo color

	Promedio de Calificación	Desviación estándar	r	Mínima Calificación	Máxima Calificación
A1	3.488889	0.94441	45	1	5
A2	3.844444	0.85162	45	2	5
A3	3.933333	0.83666	45	2	5
A4	2.933333	0.93905	45	1	5

- **Comparación de medias entre tratamientos**

Tabla 13. Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo COLOR

Comparación	P-Value	Significancia
A1 - A2	0.0523	-
A1 - A3	0.0523	-
A1 - A4	0.0007	*
A2 - A3	1.0000	-
A2 - A4	0.0000	*
A3 - A4	0.0000	*

Código de significancia (): 0.05*

Con la prueba de Friedman se demuestra que existen diferencias significativas entre A1(S/Q) y A4 (0.04%Q); A2 (0.02%Q) y A4 (0.04%Q); A3 (0.03%Q) y A4 (0.04%Q) con un 95% de confiabilidad.

4.5.2 Atributo: OLOR

- **Planteamiento de hipótesis estadística**

Ho: No existen diferencias significativas en el atributo OLOR entre tratamientos

Ha: Existen diferencias significativas en el atributo OLOR entre tratamientos

A. Análisis de varianza

Tabla 14. Análisis de varianza y significancia para el olor de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Valor F	Probabilidad
Quitosano (tratamientos)	3.84	3	1.2796	2.127	0.0998 (NS)
Jueces(bloques)	41.08	44	0.9336	1.552	0.0299 (*)
Residual	79.41	132	0.6016		

Código de significancia (): 0.05 ; NS: No hay significancia al 0.05*

La evaluación estadística ANOVA para el olor (tabla 14) expresó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos con un 95% de confiabilidad.

B. Prueba de Friedman:

- **Medias de los tratamientos**

Tabla 15. Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo olor

	Promedio de Calificación	Desviación estándar	r	Mínima Calificación	Máxima Calificación
A1	3.600000	0.863397	45	1	5
A2	3.844444	0.796456	45	2	5
A3	3.977778	0.839071	45	2	5
A4	3.933333	0.80903 9	45	2	5

- **Comparación de medias entre tratamientos**

Tabla 16. Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo OLOR

Comparación	P-Value	Significancia
A1 - A2	0.1985	-
A1 – A3	0.0245	*
A1 – A4	0.0165	*
A2 – A3	0.3278	-
A2 – A4	0.2574	-
A3 – A4	0.8770	-

Código de significancia (): 0.05*

Existe diferencia significativa entre A1 (S/Q) y A3 (0.03%); A1 (S/Q) y A4 (0.04%) a un 95% de confiabilidad.

4.5.3 Atributo: SABOR

- **Planteamiento de hipótesis estadística**

Ho: No existen diferencias significativas en el atributo SABOR entre tratamientos

Ha: Existen diferencias significativas en el atributo SABOR entre tratamientos

A. Análisis de varianza:

Tabla 17. Análisis de varianza y significancia para el sabor de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Valor F	Probabilidad (> F)
Quitosano (tratamientos)	4.91	3	1.6352	1.715	0.167(NS)
Jueces(bloques)	41.80	44	0.9500	0.996	0.489 (NS)
Residual	125.84	132	0.9534		

Código de significancia (: 0.05), (NS: No hay significancia al 0.05)*

El análisis estadístico ANOVA (tabla 17) realizado en el atributo sabor demostró que no existe diferencia significativa entre los tratamientos con un 95% de confiabilidad.

B. Prueba de Friedman:

- **Medias de los tratamientos**

Tabla 18. Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo sabor

	Calificación	Desviación estándar	r	Mínima Calificación	Máxima Calificación
A1	3.777778	0.9744203	45	1	5
A2	3.777778	0.9508104	45	1	5
A3	4.022222	0.8915994	45	2	5
A4	3.555556	1.0777830	45	1	5

- **Comparación de medias entre tratamientos**

Tabla 19. Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo SABOR

Comparación	P-Value	Significancia
A1 - A2	0.5501	-
A1 - A3	0.0995	-
A1 - A4	0.6790	-
A2 - A3	0.2911	-
A2 - A4	0.3125	-
A3 - A4	0.0400	*

Código de significancia (): 0.05*

Existe diferencia significativa entre A3 (0.03%Q) y A4 (0.04%) a un 95% de confiabilidad.

4.5.4 Atributo: CONSISTENCIA

- **Planteamiento de hipótesis estadística**

Ho: No existen diferencias significativas en el atributo CONSISTENCIA entre tratamientos

Ha: Existen diferencias significativas en el atributo CONSISTENCIA entre tratamientos

A. Análisis de varianza:

Tabla 20. Análisis de varianza y significancia para la consistencia de la bebida tipo emoliente en los diferentes tratamientos.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Valor F	Probabilidad (> F)
Quitosano (tratamientos)	7.79	3	2.5891	2.958	0.0348(*)
Jueces(bloques)	56.31	44	1.2798	1.457	0.0537 (NS)
Residual	115.96	132	0.8785		

Código de significancia (: 0.05), (NS: No hay significancia)*

La evaluación estadística ANOVA para la variable consistencia (tabla 20) expresó que existen diferencias significativas entre los tratamientos con un 95% de confiabilidad.

B. Prueba de Friedman:

- **Medias de los tratamientos**

Tabla 21. Valores estadísticos para cada tratamiento en el atributo consistencia

	Calificación	Desviación estándar	r	Mínima Calificación	Máxima Calificación
A1	3.311111	0.924963	45	1	5
A2	3.488889	0.842675	45	2	5
A3	3.622222	1.248433	45	1	5
A4	3.066667	0.889331	45	1	5

- **Comparación de medias entre tratamientos**

Tabla 22. Comparación de medias entre tratamientos y evaluación de significancia para el atributo consistencia

Comparación	P-Value	Significancia
A1 - A2	0.0909	-
A1 - A3	0.0152	*
A1 - A4	0.7057	-
A2 - A3	0.4504	-
A2 - A4	0.0393	*
A3 - A4	0.0052	*

Código de significancia (): 0.05*

Existen diferencias significativas entre A1(S/Q) y A3 (0.03%Q); A2 (0.02%Q) y A4 (0.04%Q); A3 (0.03%Q) y A4 (0.04%Q) a un 95% de confiabilidad.

4.6 RESULTADOS FÍSICOQUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y SENSORIALES DE LA EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA EN ANAQUEL, POR EL MÉTODO DE PRUEBAS ACELERADAS

4.6.1 Resultados fisicoquímicos

- **pH:**

Tabla 23. Evaluación de pH en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	3.42 ± 0.01	3.42 ± 0.01	3.42 ± 0.01	3.43 ± 0.01	3.43 ± 0.01	3.43 ± 0.01
10	3.29 ± 0.01	3.33 ± 0.01	3.18 ± 0.01	3.34 ± 0.01	3.34 ± 0.01	3.15 ± 0.01
20	2.96 ± 0.02	2.93 ± 0.01	2.59 ± 0.01	3.23 ± 0.02	3.12 ± 0.02	2.72 ± 0.02
30	2.84 ± 0.01	2.74 ± 0.01	2.32 ± 0.02	3.01 ± 0.02	2.84 ± 0.01	2.47 ± 0.01
40	2.73 ± 0.01	2.51 ± 0.01	2.10 ± 0.02	2.91 ± 0.02	2.75 ± 0.01	2.28 ± 0.02
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	3.44 ± 0.01	3.44 ± 0.01	3.44 ± 0.02	3.55 ± 0.01	3.55 ± 0.01	3.55 ± 0.01
10	3.37 ± 0.01	3.37 ± 0.01	3.20 ± 0.02	3.52 ± 0.01	3.51 ± 0.01	3.45 ± 0.01
20	3.29 ± 0.01	3.24 ± 0.02	2.86 ± 0.02	3.51 ± 0.01	3.47 ± 0.02	3.29 ± 0.01
30	3.19 ± 0.02	3.13 ± 0.02	2.55 ± 0.02	3.46 ± 0.01	3.43 ± 0.01	3.13 ± 0.02
40	3.12 ± 0.01	2.94 ± 0.01	2.39 ± 0.02	3.42 ± 0.01	3.36 ± 0.01	2.99 ± 0.02

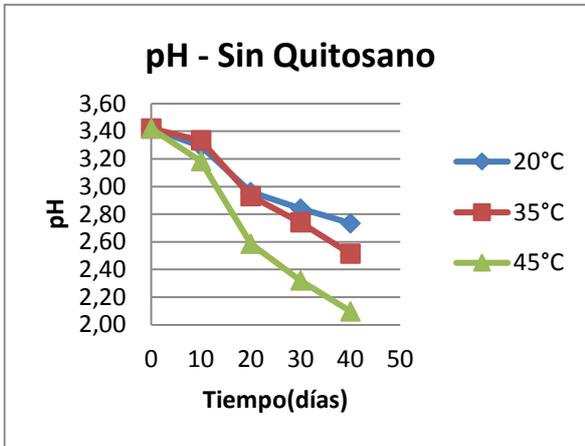


Fig. 14 Evaluación de pH. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

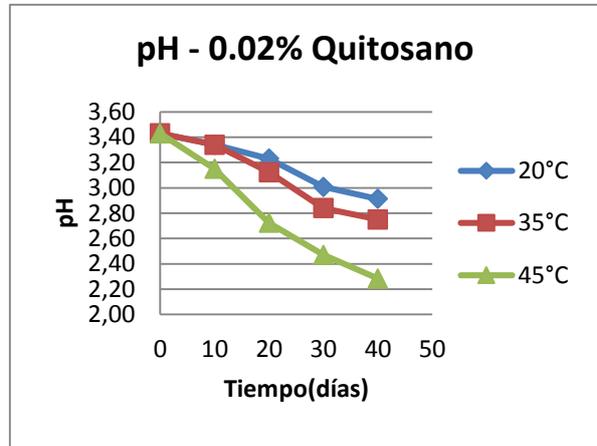


Fig. 15 Evaluación de pH. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

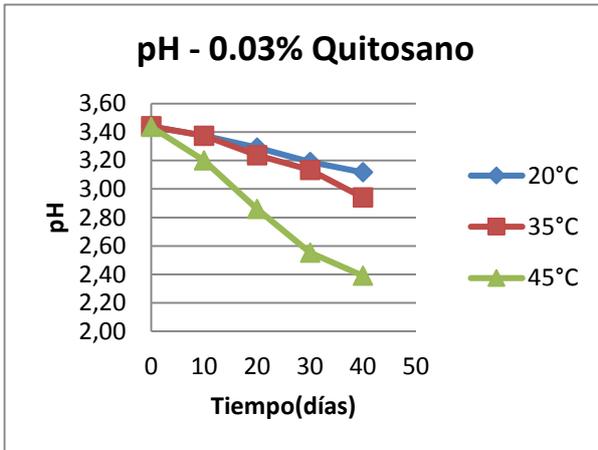


Fig. 16 Evaluación de pH. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

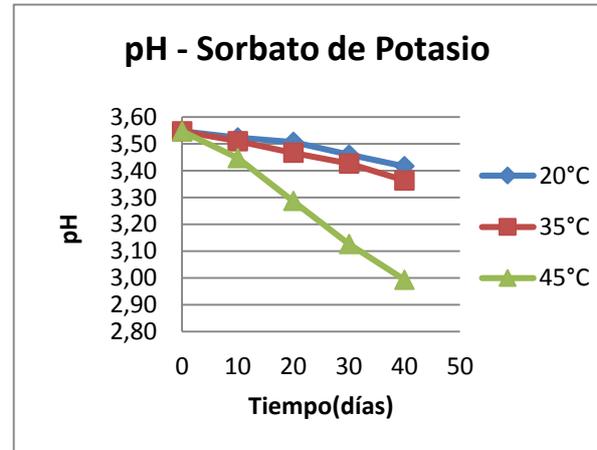


Fig. 17 Evaluación de pH. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- **Sólidos solubles (°Brix)**

Tabla 24. Evaluación de °Brix en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.

Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
10	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
20	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	7.83 ± 0.29	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
30	8.00 ± 0.00	7.83 ± 0.29	7.67 ± 0.29	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
40	8.00 ± 0.00	7.83 ± 0.29	7.50 ± 0.50	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	7.67 ± 0.29
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
10	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
20	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
30	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
40	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	7.83 ± 0.29	8.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00	7.83 ± 0.29

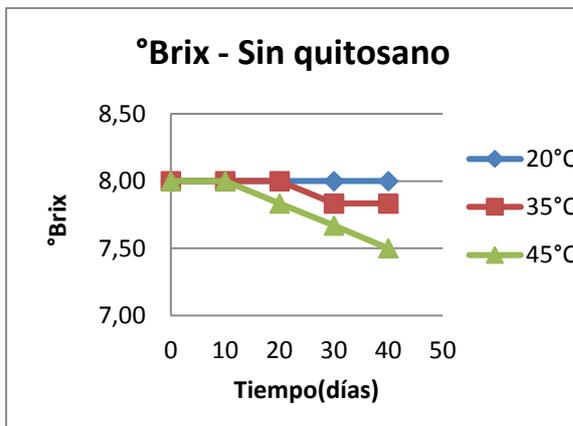


Fig. 18 Evaluación de °Brix. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

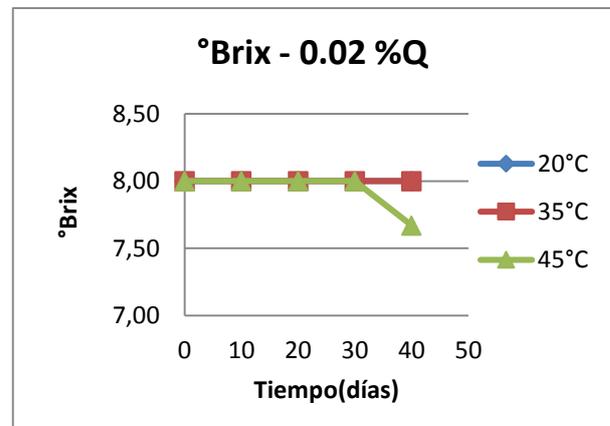


Fig. 19. Evaluación de °Brix. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

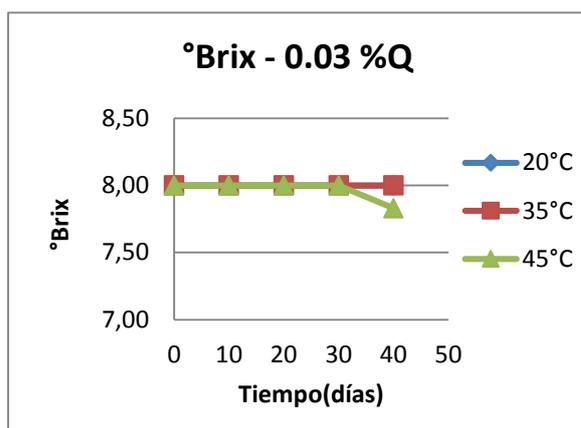


Fig. 20 Evaluación de °Brix. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

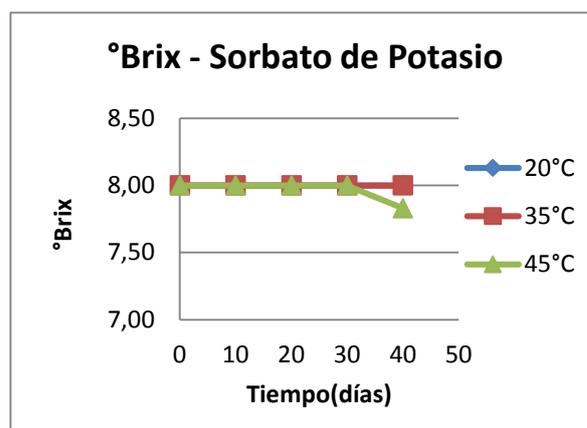


Fig.21 Evaluación de °Brix. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- **Acidez titulable (expresado en % ácido cítrico)**

Tabla 25. Evaluación de % acidez en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000
10	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000
20	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000	0.12 ± 0.000	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000	0.11 ± 0.001
30	0.11 ± 0.000	0.12 ± 0.000	0.12 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.001
40	0.11 ± 0.000	0.12 ± 0.000	0.13 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.001	0.13 ± 0.000
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000	0.10 ± 0.000
10	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000
20	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.000	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001
30	0.11 ± 0.001	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.001	0.11 ± 0.000	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.001
40	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.000	0.13 ± 0.000	0.11 ± 0.001	0.12 ± 0.001	0.13 ± 0.001

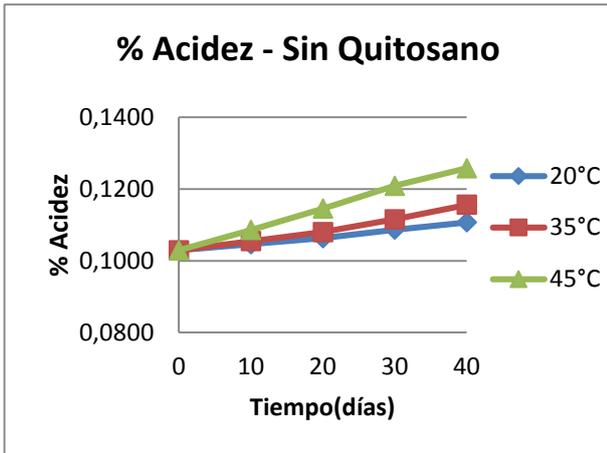


Fig. 22 Evaluación del %acidez. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

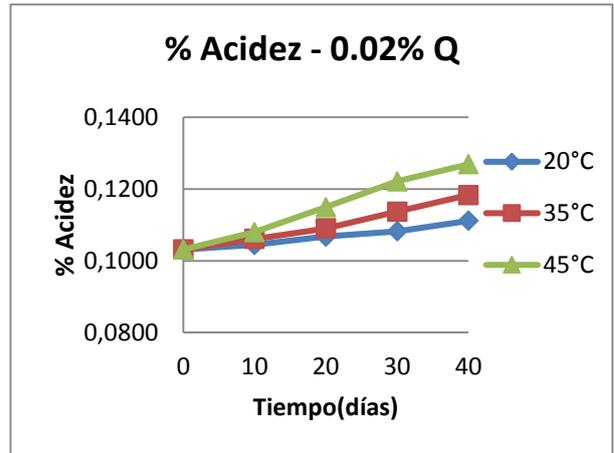


Fig. 23 Evaluación del %acidez. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

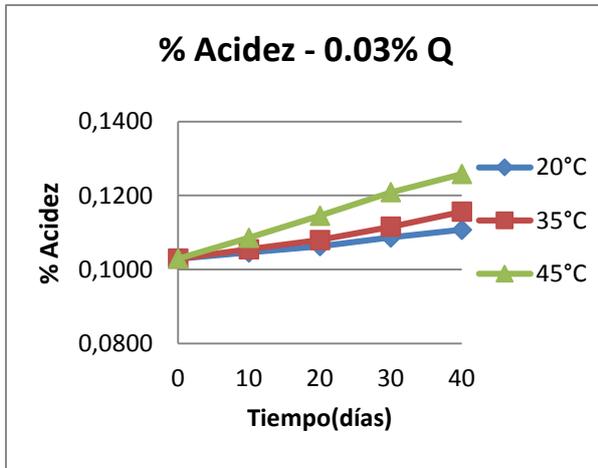


Fig. 24 Evaluación de % acidez. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

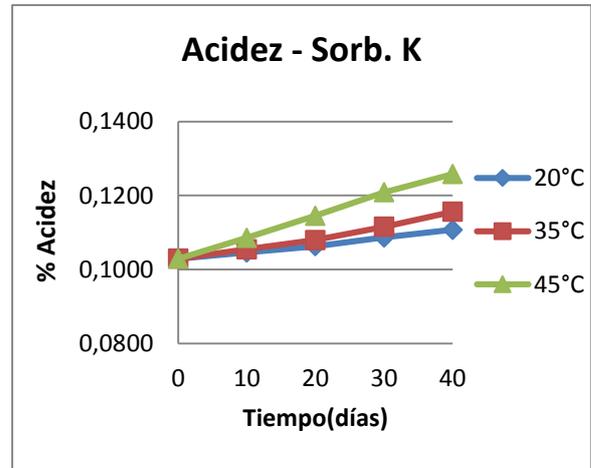


Fig. 25 Evaluación de % acidez. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- **Turbidez (expresado en NTU)**

Tabla 26. Evaluación de turbidez en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	395.0 ± 1.7	395.3 ± 1.5	394.7 ± 2.1	534.0 ± 2.0	534.0 ± 2.0	534.0 ± 2.0
10	397.7 ± 1.5	399.7 ± 2.1	401.0 ± 1.7	537.0 ± 1.0	540.3 ± 1.5	542.0 ± 2.0
20	400.3 ± 2.1	409.3 ± 1.5	411.0 ± 2.0	547.3 ± 2.1	551.3 ± 2.1	557.7 ± 2.1
30	414.3 ± 1.5	416.3 ± 1.5	420.7 ± 1.5	557.7 ± 1.5	564.0 ± 2.0	568.0 ± 1.0
40	418.7 ± 1.2	421.0 ± 1.7	425.7 ± 2.1	569.7 ± 2.1	574.7 ± 1.5	578.7 ± 1.5
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	545.7 ± 2.1	544.0 ± 2.0	545.7 ± 2.1	407.3 ± 2.1	407.3 ± 2.1	407.3 ± 2.1
10	552.0 ± 2.0	555.7 ± 2.1	556.3 ± 1.5	413.0 ± 1.7	412.7 ± 2.1	413.3 ± 1.5
20	568.0 ± 1.0	564.3 ± 0.6	570.0 ± 1.7	420.7 ± 1.5	421.0 ± 1.0	420.3 ± 2.1
30	577.7 ± 1.5	574.0 ± 2.0	580.7 ± 2.1	426.0 ± 2.0	432.0 ± 1.7	430.7 ± 1.5
40	586.7 ± 2.1	583.7 ± 1.5	589.7 ± 2.1	439.0 ± 1.0	439.7 ± 2.1	440.0 ± 2.0

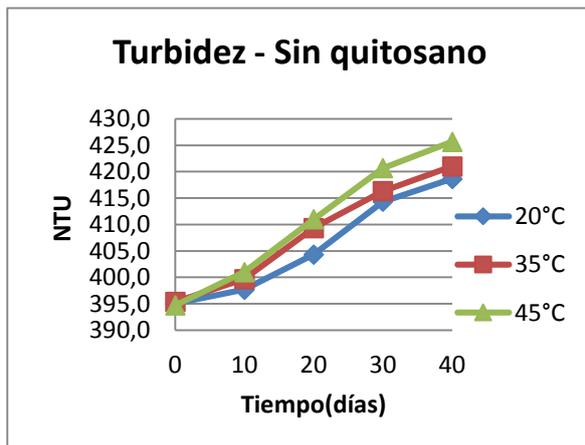


Fig. 26 Evaluación de turbidez. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

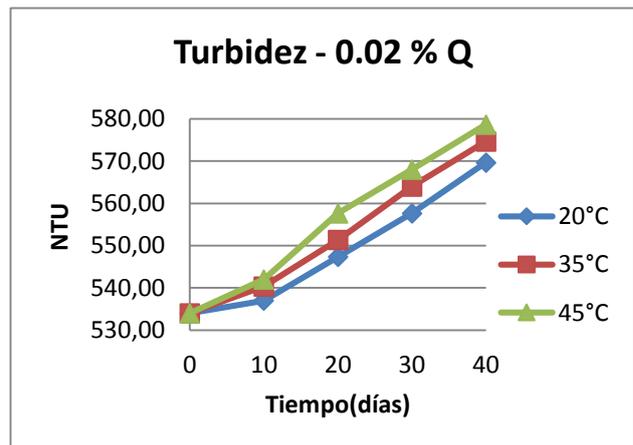


Fig. 27 Evaluación de turbidez. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

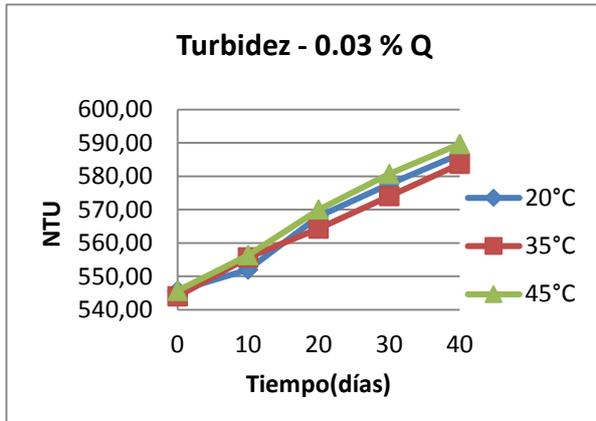


Fig. 28 Evaluación de turbidez. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

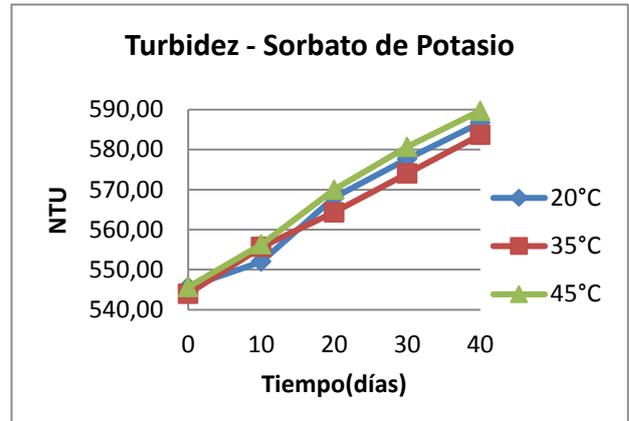


Fig. 29 Evaluación de turbidez. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- **Viscosidad (expresado en cP)**

Tabla 27. Evaluación de viscosidad en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.

Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	20.0 ± 0.40	20.0 ± 0.40	20.0 ± 0.40	20.3 ± 0.23	20.3 ± 0.23	20.3 ± 0.23
10	18.7 ± 0.46	18.4 ± 0.40	18.4 ± 0.40	19.1 ± 0.23	18.9 ± 0.23	18.8 ± 0.40
20	17.5 ± 0.23	17.3 ± 0.23	16.9 ± 0.23	18.5 ± 0.23	18.1 ± 0.23	17.7 ± 0.23
30	16.9 ± 0.23	16.5 ± 0.23	16.1 ± 0.23	17.7 ± 0.23	17.5 ± 0.23	16.9 ± 0.23
40	16.7 ± 0.23	16.3 ± 0.23	15.7 ± 0.23	16.8 ± 0.00	16.5 ± 0.23	16.0 ± 0.40
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	20.7 ± 0.23	20.7 ± 0.23	20.7 ± 0.23	20.1 ± 0.23	20.1 ± 0.23	20.1 ± 0.23
10	18.8 ± 0.40	18.5 ± 0.23	18.1 ± 0.23	19.2 ± 0.40	19.2 ± 0.40	18.9 ± 0.23
20	17.5 ± 0.40	17.3 ± 0.23	17.1 ± 0.23	18.7 ± 0.40	18.3 ± 0.23	17.9 ± 0.23
30	16.9 ± 0.23	16.5 ± 0.23	16.3 ± 0.23	17.9 ± 0.23	17.6 ± 0.40	16.9 ± 0.23
40	16.4 ± 0.00	16.1 ± 0.23	15.7 ± 0.23	17.2 ± 0.40	16.9 ± 0.23	16.7 ± 0.23

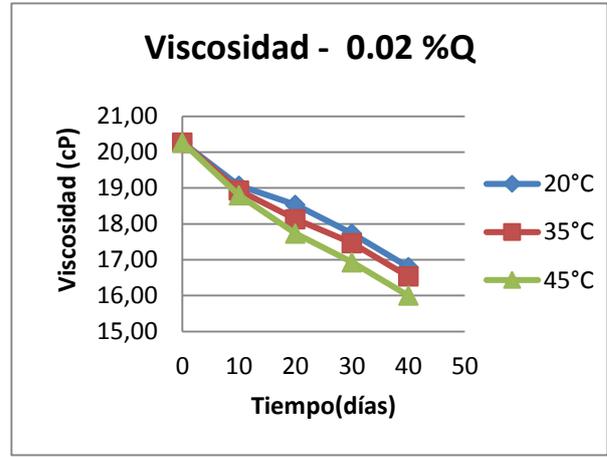
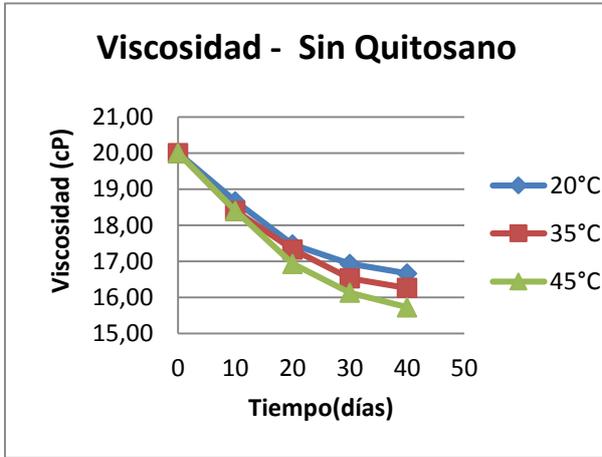


Fig. 31 Evaluación de viscosidad. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

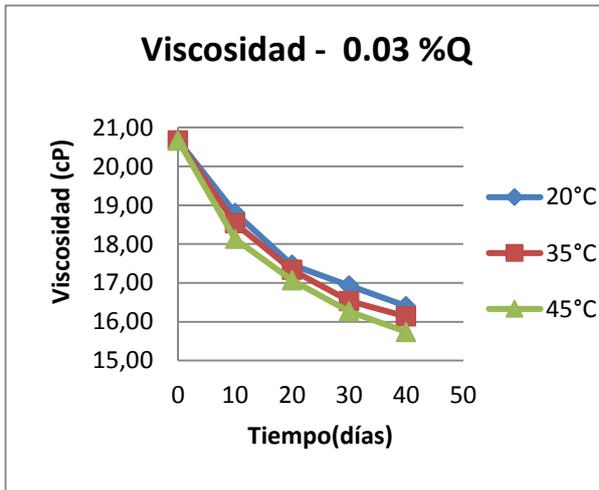


Fig. 32 Evaluación de viscosidad. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

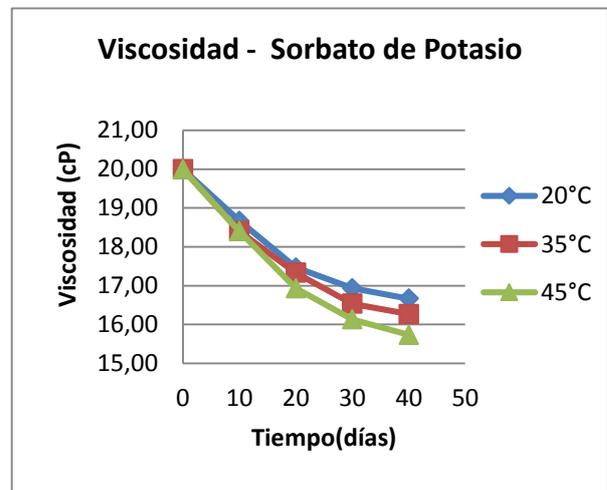


Fig. 33 Evaluación de viscosidad. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- Contenido de ácido ascórbico (ppm)

Tabla 28. Evaluación de contenido de ácido ascórbico en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	550.0 ± 10.0	550.0 ± 10.0	550.0 ± 10.0	550.0 ± 10.0	550.0 ± 10.0	550.0 ± 10.0
10	506.7 ± 5.77	493.3 ± 5.77	486.7 ± 5.77	520.0 ± 0.00	506.7 ± 5.77	486.7 ± 5.77
20	473.3 ± 5.77	453.3 ± 5.77	440.0 ± 5.77	486.7 ± 0.00	463.3 ± 5.77	440.0 ± 0.00
30	443.3 ± 5.77	416.7 ± 5.77	403.3 ± 5.77	453.3 ± 5.77	426.7 ± 5.77	406.7 ± 5.77
40	410.0 ± 0.00	376.7 ± 5.77	363.3 ± 5.77	416.7 ± 5.77	396.7 ± 5.77	380.0 ± 0.00
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	546.7 ± 5.77	546.7 ± 5.77	546.7 ± 5.77	553.3 ± 5.77	553.3 ± 5.77	553.3 ± 5.77
10	516.7 ± 5.77	513.3 ± 5.77	500.0 ± 0.00	526.7 ± 5.77	516.7 ± 5.77	506.7 ± 5.77
20	490.0 ± 0.00	480.0 ± 0.00	466.7 ± 5.77	506.7 ± 5.77	493.3 ± 5.77	476.7 ± 5.77
30	466.7 ± 5.77	450.0 ± 0.00	436.7 ± 5.77	476.7 ± 5.77	456.7 ± 5.77	446.7 ± 5.77
40	436.7 ± 5.77	420.0 ± 0.00	403.3 ± 5.77	453.3 ± 5.77	436.7 ± 5.77	416.7 ± 5.77

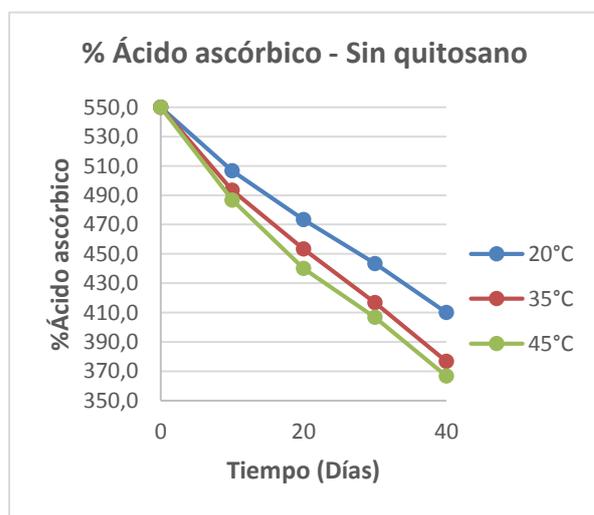


Fig. 34 Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento sin quitosano, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

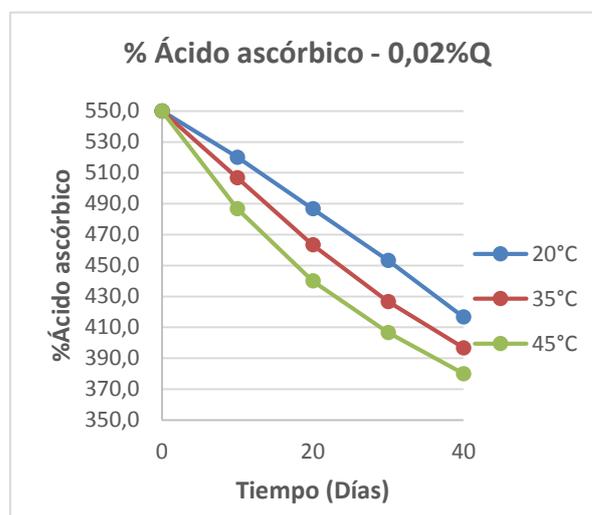


Fig. 35 Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con quitosano al 0.02%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

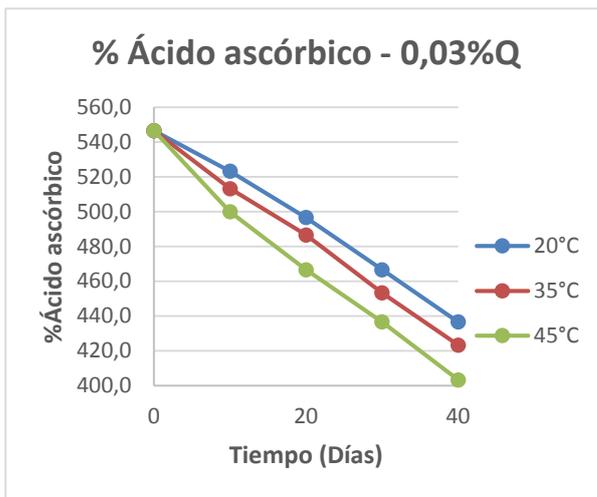


Fig. 36 Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con quitosano al 0.03%, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

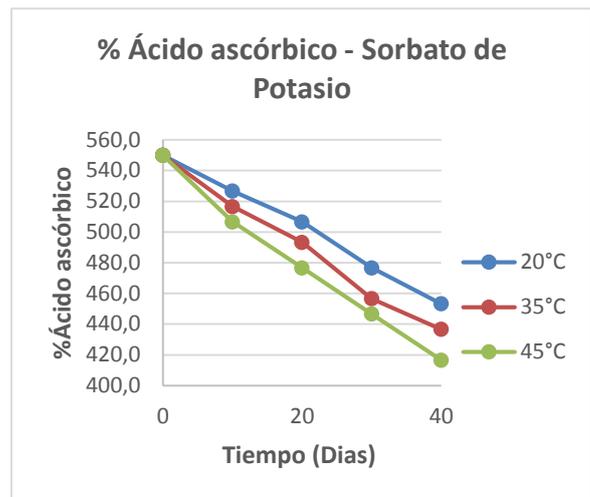


Fig. 37 Evaluación de ácido ascórbico. Tratamiento con sorbato de potasio al 0.05 g/L, durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C.

- **Pérdida porcentual de ácido ascórbico (ppm)**

Tabla 29. Evaluación de la pérdida porcentual del contenido de ácido ascórbico en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
10	92.12	89.70	88.48	94.55	92.12	88.48
20	86.06	82.42	80.00	88.48	84.24	80.00
30	80.61	75.76	73.94	82.42	77.58	73.94
40	74.55	68.48	66.67	75.76	72.12	69.09
Pérdida porcentual (de 0 a 40 días)	25.45	31.52	33.33	24.24	27.88	30.91
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de Potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
10	94.51	93.90	91.46	95.18	93.37	91.57
20	89.63	87.80	85.37	91.57	89.16	86.14
30	85.37	82.32	79.88	86.14	82.53	80.72
40	79.88	76.83	73.78	81.93	78.92	75.30
Pérdida porcentual (de 0 a 40 días)	20.12	23.17	26.22	18.07	21.08	24.70

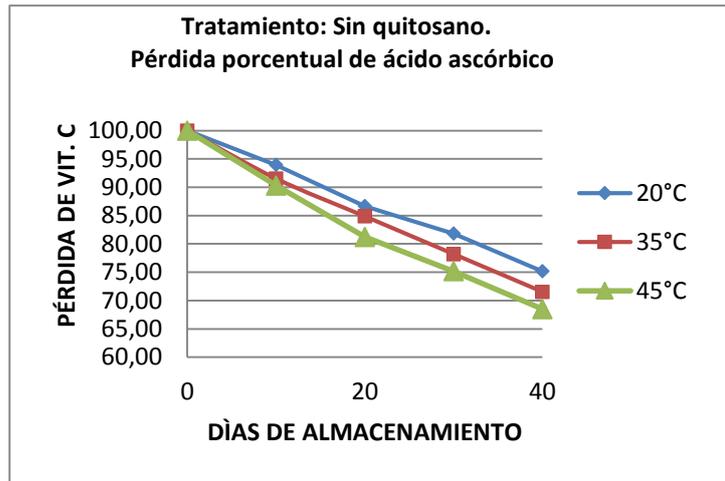


Fig. 38 Tratamiento sin quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C

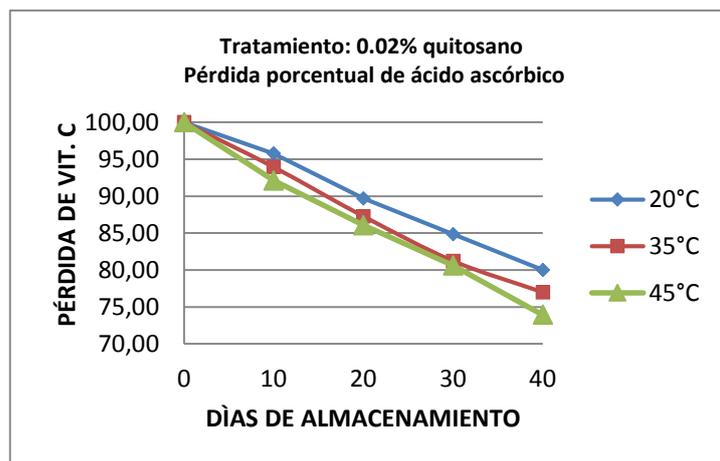


Fig. 39 Tratamiento con 0.02% de quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C

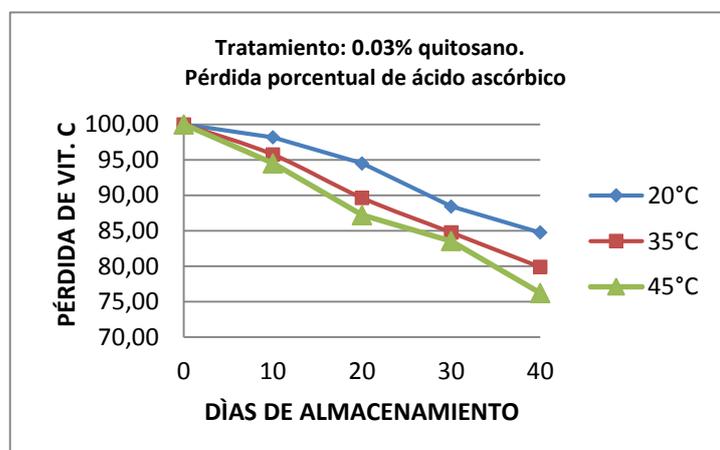


Fig. 40 Tratamiento con 0.03% de quitosano. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C

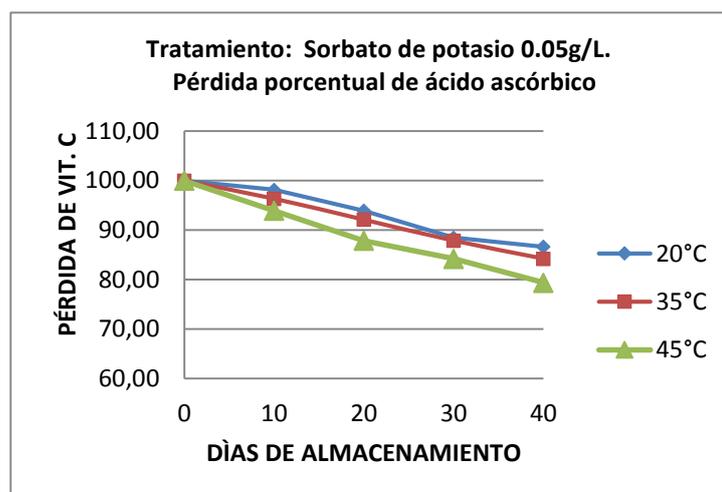


Fig. 41 Tratamiento con sorbato de potasio. Pérdida porcentual de %ácido ascórbico durante almacenamiento a temperaturas de 20°C, 35°C y 45°C

- **Determinación del vacío (hPa):**

Tabla 30 Evaluación del vacío en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.

Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	360	360	360	360	360	360
10	414	414	414	414	414	414
20	360	360	360	360	360	360
30	360	360	360	360	360	360
40	365	365	365	365	365	365
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	360	360	360	360	360	360
10	414	414	414	414	414	414
20	360	360	360	360	360	360
30	360	360	360	360	360	360
40	365	365	365	365	365	365

4.6.2 Resultados microbiológicos:

- **Aerobios mesófilos**

Tabla 31. Evaluación del crecimiento de aerobios mesófilos (ufc/ mL) en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.

Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
20	<10	<10	<10	<10	<10	<10
30	<10	<10	10	<10	<10	<10
40	<10	<10	12	<10	<10	<10
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
20	<10	<10	<10	<10	<10	<10
30	<10	<10	<10	<10	<10	<10
40	<10	<10	<10	<10	<10	<10

■ Valores fuera del límite de la NTS-MINSA 2008

- **Mohos**

Tabla 32. Evaluación del crecimiento de mohos (ufc/ mL) en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.

Días \ T°	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
30	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
40	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Días \ T°	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
30	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
40	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

■ Valores fuera del límite de la NTS-MINSA 2008

- **Levaduras:**

Tabla 33. Evaluación del crecimiento de levaduras (ufc/mL) en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
30	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
40	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
20	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
30	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
40	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

■ Valores fuera del límite de la NTS-MINSA 2008

- **Coliformes:**

Tabla 34. Evaluación del recuento de coliformes (ufc/mL) en cada tratamiento, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
10	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
20	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
30	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
40	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
10	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
20	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
30	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
40	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

■ Valores fuera del límite de la NTS-MINSA 2008

El tratamiento control no cumple, durante su almacenamiento a diferentes temperaturas, con los criterios microbiológicos según la NTS del MINSA ³³, por lo cual se establece un punto de corte en la estimación de la vida útil en el día 40 a 35°C (condición de almacenamiento) y en el día 30 a 45°C.

La evaluación sensorial no se realiza, a partir del día en donde se evidencia crecimiento microbiano que excede con los criterios microbiológicos según la NTS N°071- MINSA.

4.6.3 Resultados de evaluación sensorial:

- **Escala de respuesta: Aceptable/No aceptable**

Tabla 35. Evaluación de la aceptabilidad de las bebidas, a diferentes temperaturas, durante almacenamiento por 40 días.						
	Tratamiento A1= Sin Quitosano			Tratamiento A2= 0.02 % Quitosano		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	A	A	A	A	A	A
10	A	A	A	A	A	A
20	A	A	A	A	A	A
30	A	A	-	A	A	A
40	A	-	-	A	A	A
	Tratamiento A3 = 0.03 % Quitosano			Tratamiento A4 = Sorbato de potasio		
Días \T°	20°C	35°C	45°C	20°C	35°C	45°C
0	A	A	A	A	A	A
10	A	A	A	A	A	A
20	A	A	A	A	A	A
30	A	A	A	A	A	A
40	A	A	A	A	A	A

A: Aceptable; NA: No aceptable; - : No se realizó

La evaluación sensorial en la estimación del tiempo de vida, fue aceptable para todos los tratamientos y para los 10 panelistas entrenados.

Para el tratamiento sin quitosano, a partir del día 40 a 35°C y a partir del día 30 a 45°C el producto no fue evaluado sensorialmente, por presentar carga microbiana por encima de los límites microbiológicos, según la NTS MINSA²⁹.

4.7 CÁLCULO Y ESTIMACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA MEDIA, POR EL MÉTODO DE PRUEBAS ACELERADAS.

Para la estimación del tiempo de vida media se considera la reducción del ácido ascórbico como factor determinante, ya que es la característica que presenta mayor variación en el tiempo de almacenamiento.

- Se determina la orden de la reacción (**ANEXO N° 7**). Para el estudio se obtiene resultados de pseudo primer orden (velocidad de deterioro exponencial).

$$\ln[A] = kt + \ln[A_0]$$

4.7.1 Tratamiento A1: CONTROL - Sin quitosano

Tabla 36. Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida sin quitosano, en función de la disminución del ácido ascórbico.				
	Días	20°C	35°C	45°C
Ácido ascórbico (ppm) A ₀ =	0	550.0	550.0	550.0
	10	506.7	493.3	486.7
	20	473.3	453.3	440.0
	30	443.3	416.7	403.3
	40	410.0	376.7	363.3
Ln (A ₀)=	0	6.30991828	6.30991828	6.30991828
	10	6.22785333	6.20118508	6.18757943
	20	6.15979986	6.11662769	6.08677473
	30	6.09432193	6.03228654	5.9996807
	40	6.01615716	5.93136062	5.89522894
Pendiente (k)=		-0.00721	-0.00926	-0.01017
Intercepción=		6.30582084	6.30347841	6.29929189
Coeficiente R ² =		0.9984794	0.99784982	0.99678395

La asunción más común y generalmente válida es que la dependencia de la temperatura y la velocidad de deterioro seguirán la ecuación de Arrhenius:

$$k = k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)}$$

La energía de activación (Ea) es derivada de la pendiente del ploteo de Ln(k) vs 1/T.

Tabla 37. Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre – exponencial), para el tratamiento de bebida sin quitosano.			
	20°C	35°C	45°C
1/T (°K)=	0.00341122	0.00324517	0.00314317
Ln(k)=	-4.93221195	-4.68203628	-4.58804034
Ea/R=	-1305.53645		(R= 1.987 cal/mol)
Ea=	2594.101 cal/mol		
K ₀ =	0.62529476		
R ² =	0.98587138		

Al no contar con alguna normalización nacional o internacional en límites de ácido ascórbico para la bebida en estudio, se determinará el tiempo de vida media^{64,65} que es el tiempo en que una determinada concentración de un compuesto se reduce a la mitad de su valor.

$$t = t_{1/2} \rightarrow A = A_0 / 2$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

Se tiene que el cálculo de vida útil media, para una cinética de reacción de orden uno, se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Vida U. m.} = \ln(2) / (K_0 \cdot e^{(-E_a/RT)})$$

Tabla 38. Bebida sin quitosano. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento

T (°C)	Vida útil media (días)	T (°C)	Vida útil media (días)
0	131.9704302	55	59.23389002
5	121.1053656	60	55.80055885
10	111.472548	65	52.65913394
15	102.9014899	70	49.77854794
20	95.2490539	75	47.13163301
25	88.3945154	80	44.69456305
30	82.2356088	85	42.44638481
35	76.68534331	90	40.36862232
40	71.669426	95	38.44494218
45	67.12416573	100	36.66086927
50	62.99476025		

La bebida tipo emoliente sin quitosano, almacenado a una temperatura de 25°C, tiene una vida útil media de **88 días**.

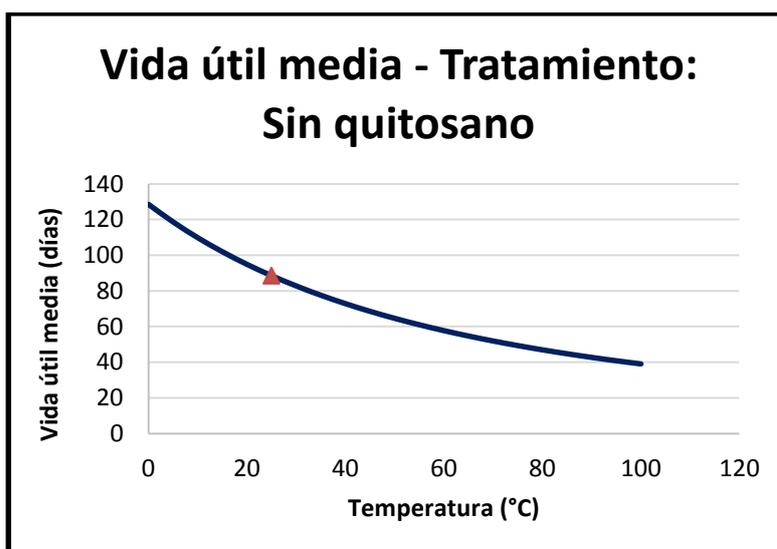


Fig. 42 Bebida sin quitosano (A1). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.

4.7.2 Tratamiento A2: 0.02% Quitosano

Tabla 39. Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.02%, en función de la disminución del ácido ascórbico.

	Días	20°C	35°C	45°C
Ácido ascórbico (ppm) Ao=	0	550.0	550.0	550.0
	10	520.0	506.7	486.7
	20	486.7	463.3	440.0
	30	453.3	426.7	406.7
	40	416.7	396.7	380.0
Ln (Ao)=	0	6.30991828	6.30991828	6.30991828
	10	6.25382881	6.22785333	6.18757943
	20	6.18757943	6.13844674	6.08677473
	30	6.11662769	6.05600307	6.00799385
	40	6.03228654	5.9830963	5.94017125
Pendiente (k)=		-0.00692	-0.00825	-0.00919
Intercepción=		6.31854107	6.30816239	6.29030343
Coeficiente R ² =		0.99437018	0.99888449	0.98553351

La energía de activación (Ea) es derivada de la pendiente del ploteo de Ln(k) vs 1/T.

Tabla 40. Cálculo de energía de activación (Ea) y K₀ (factor pre – exponencial), para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.02%.

	20°C	35°C	45°C
1/T (°K)=	0.00341122	0.00324517	0.00314317
Ln(k)=	-4.97266835	-4.79694321	-4.6895527
Ea/R=	-1056.39902		(R= 1.987 cal/mol)
Ea=	2099.065 Cal/mol		
K ₀ =	0.25436874		
R ² =	0.99999811		

Se utiliza la siguiente fórmula para el cálculo de vida útil media:

$$\text{Vida U. m.} = \text{Ln}(2) / (\text{ko} \cdot e^{(-Ea/RT)})$$

Tabla 41. Bebida con quitosano al 0.02%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento

T (°C)	Vida útil (días)	T (°C)	Vida útil (días)
0	130.3112656	55	68.15018952
5	121.5595985	60	64.93576289
10	113.6744511	65	61.96141875
15	106.5484856	70	59.20415156
20	100.0900214	75	56.64359456
25	94.22043746	80	54.26167128
30	88.87205356	85	52.04229875
35	83.98639426	90	49.97113387
40	79.51275969	95	48.03535611
45	75.40704389	100	46.22348072
50	71.63075346		

La bebida tipo emoliente con adición de quitosano al 0.02% tiene una vida útil media de **94 días**.

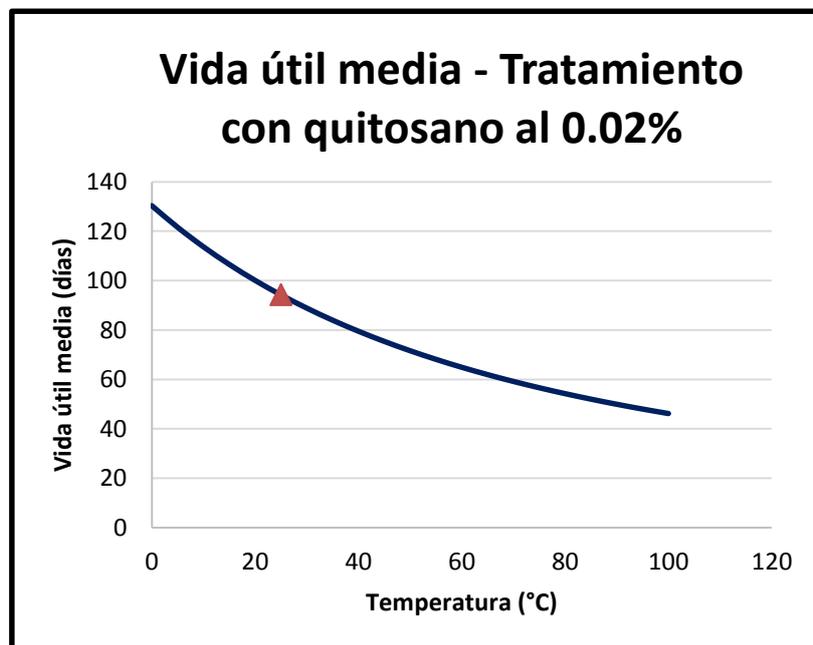


Fig. 43 Bebida con quitosano al 0.02% (A2). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.

4.7.3 Tratamiento A3: 0.03% Quitosano

Tabla 42. Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.03%, en función de la disminución del ácido ascórbico.				
	Días	20°C	35°C	45°C
Ácido ascórbico (ppm) A_0 =	0	546.7	546.7	546.7
	10	516.7	513.3	500.0
	20	490.0	480.0	466.7
	30	466.7	450.0	436.7
	40	436.7	420.0	403.3
$\ln(A_0)$ =	0	6.30383923	6.30383923	6.30383923
	10	6.24739792	6.24086047	6.2146081
	20	6.19440539	6.1737861	6.14561523
	30	6.14561523	6.10924758	6.07917013
	40	6.07917013	6.04025471	5.99976335
Pendiente (k)=		-0.00551	-0.00659	-0.00744
Intercepción=		6.30430976	6.30535401	6.29731715
Coeficiente R^2 =		0.99771103	0.99979037	0.99737575

La energía de activación (E_a) es la pendiente del ploteo de $\ln(k)$ vs $1/T$ y K_0 es la intercepción.

Tabla 43. Cálculo de energía de activación (E_a) y K_0 (factor pre – exponencial), para el tratamiento de la bebida con quitosano al 0.03%.			
	20°C	35°C	45°C
$1/T$ (°K)=	0.00341122	0.00324517	0.00314317
$\ln(k)$ =	-5.20097125	-5.0225329	-4.90143601
E_a/R =	-1113.30494		($R = 1.987$ cal/mol)
E_a =	2212.137 cal/mol		
K_0 =	0,245364307		
R^2 =	0.99927065		

Se utiliza la siguiente fórmula para el cálculo de vida útil media:

$$\text{Vida U. m.} = \ln(2) / (k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)})$$

Tabla 44. Bebida con quitosano al 0.03%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento

T (°C)	Vida útil (días)	T(°C)	Vida útil (días)
0	166.3840886	55	88.55845829
5	154.6296137	60	84.02960127
10	144.0778783	65	79.85808048
15	134.5758696	70	76.00801392
20	125.9934111	75	72.4478113
25	118.2192967	80	69.14958503
30	111.1581501	85	66.08865179
35	104.7278621	90	63.24310929
40	98.85748943	95	60.5934757
45	93.48552343	100	58.12238157
50	166.3840886		

La bebida tipo emoliente con adición de quitosano al 0.03% tiene una vida útil media de **118 días**.

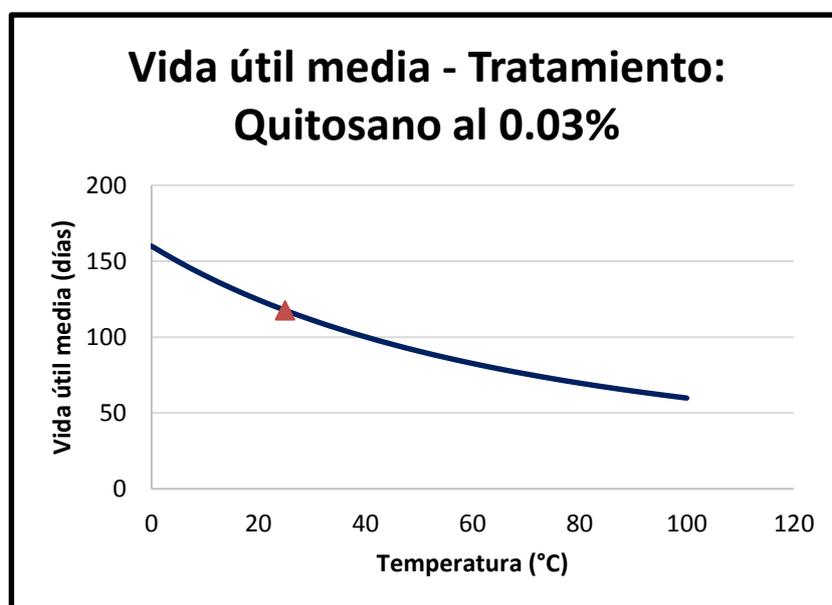


Fig. 44 Bebida con quitosano al 0.03% (A3). Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.

4.7.4 Tratamiento SK: Sorbato de potasio

Tabla 45. Cálculo de k (constante de velocidad) para el tratamiento de la bebida con sorbato de potasio al 0.005% en función de la disminución del ácido ascórbico.				
	Días	20°C	35°C	45°C
Ácido ascórbico (ppm) Ao=	0	553.3	553.3	553.3
	10	526.7	516.7	506.7
	20	506.7	493.3	476.7
	30	476.7	456.7	446.7
	40	453.3	436.7	416.7
Ln (Ao)=	0	6.31590035	6.31590035	6.31590035
	10	6.26656784	6.24739792	6.22785333
	20	6.22785333	6.20118508	6.16681743
	30	6.16681743	6.12395373	6.1018126
	40	6.11662769	6.07917013	6.03228654
Pendiente (k)=		-0.00498	-0.00597	-0.00693
Intercepción=		6.31841247	6.31290237	6.30758772
Coeficiente R ² =		0.99584089	0.99374186	0.99604613

La energía de activación (Ea) es derivada de la pendiente del ploteo de Ln(k) vs 1/T.

Tabla 46. Cálculo de energía de activación (Ea) y K ₀ (factor pre – exponencial), para el tratamiento de la bebida con sorbato de potasio al 0.005%			
	20°C	35°C	45°C
1/T (°K)=	0.00341122	0.00324517	0.00314317
Ln(k)=	-5.30173174	-5.1211681	-4.97150833
Ea/R=	-1217.94414		(R= 1.987 cal/mol)
Ea=	2420.055 Cal/mol		
K ₀ =	0,31567957		
R ² =	0.99310873		

Se utiliza la siguiente fórmula para el cálculo de vida útil media:

$$\text{Vida U. m.} = \text{Ln}(2) / (k_0 \cdot e^{(-E_a/RT)})$$

Tabla 47. Bebida con sorbato de potasio al 0.005%. Valores de la vida útil media, para cada temperatura de almacenamiento

T (°C)	Vida útil (días)	T (°C)	Vida útil (días)
0	189.6914055	55	89.8428144
5	175.0805343	60	84.97505944
10	162.0531393	65	80.50354857
15	150.3981221	70	76.38757394
20	139.9371832	75	72.59138441
25	130.5190669	80	69.08349538
30	122.0149233	85	65.83610593
35	114.3145504	90	62.82460507
40	107.3233349	95	60.02715195
45	100.9597499	100	57.42431794
50	95.15329808		

La bebida tipo emoliente con adición de sorbato de potasio al 0.005% tiene una vida útil media de **131 días**.

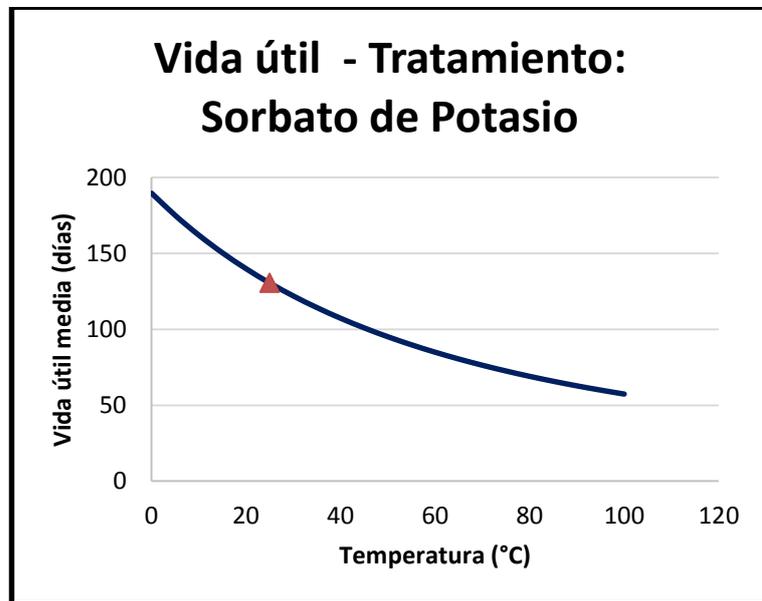


Fig. 45 Bebida con sorbato de potasio al 0.05 g/L. Estimación de vida útil a diferentes temperaturas de almacenamiento.

4.8 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LA BEBIDA TIPO EMOLIENTE.

Tabla 48. Resultados del análisis químico proximal de la bebida con quitosano al 0.03%

ANÁLISIS	RESULTADOS
Cenizas totales (%)	0.091
Grasa (%)	0.02
Humedad (%)	92.1
Proteína cruda (%) (Factor:6.25)	0.13
Carbohidratos (%)	7.7
Energía total (Kcal/100g)	31.2

En la tabla 48, se resume los resultados fisicoquímicos de la bebida tipo emoliente. El informe de ensayo N°007535-2017 (**ANEXO N°8**) fue emitido por el laboratorio de Calidad total – Universidad Nacional Agraria La Molina.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del ANEXO N°1 demuestran que el quitosano obtenido a partir de cabezas de langostinos cumplen con las especificaciones recomendadas por la Farmacopea^{24, 25} (tabla 1), para cenizas: $\leq 1.0\%$; grado de desacetilación: (+), es decir éste quitosano puede tener aplicaciones de uso alimentario.

La fuente y el método de obtención del quitosano, determinan la composición de las cadenas de quitosano y su tamaño. Por este motivo, el grado de desacetilación (GD) y el peso molecular son dos de los parámetros de obligado conocimiento para la caracterización de este polímero y para su empleo en distintas aplicaciones^{20, 23,24}.

Parada et al.⁷⁹ y López P⁸⁰, afirman que para ser considerado como quitosano, el grado de desacetilación de la quitina debe estar comprendido entre 60 – 98%, la muestra en estudio presenta un grado de desacetilación de 89%. También al tener mayor grado de desacetilación, aumenta su solubilidad en soluciones acuosas

ácidas comportándose como una molécula polielectrolítica, y por ende mejora su actividad antimicrobiana¹⁴.

Rico F¹⁰, señala que el peso molecular es importante para predecir su actividad biológica y sus posibles aplicaciones. La muestra en estudio presenta 1070 KDa, un peso molecular elevado, lo cual genera elevada viscosidad en medios ácidos, mayor actividad quelante y por ende mayor actividad antimicrobiana²¹, lo cual es una característica óptima para el cumplimiento del objetivo del estudio.

El contenido de proteínas que presenta el quitosano fue de 7.9%, lo cual confirma que el proceso de desproteínización (durante la obtención de quitina) fue eficiente¹². Por otro lado, de acuerdo con López P. (2014)⁸⁰, el resultado del porcentaje de cenizas se ve influenciado por la presencia de impurezas de tipo mineral, como los carbonatos, presentes en el exoesqueleto. Por lo cual el 0.75% de cenizas en la muestra nos ayuda a determinar la eficacia de la desmineralización en el proceso de obtención de la quitina a partir de las cabezas de langostinos.

5.1 Purificación del quitosano

Tal como se explica en el ítem 3.2.2 la purificación se realiza con el objetivo de eliminar las partículas insolubles y reducir el porcentaje de minerales en la muestra de quitosano. Para comprobar la reducción de cenizas y material insoluble se realiza el análisis de humedad y cenizas, no se realizaron los análisis de peso molecular y grado de desacetilación, pues según los resultados de Fuentes L. (2007)⁸¹ estas propiedades cambian mínimamente luego de la purificación, puesto que, la temperatura del proceso de purificación es de máximo 50°C – 55°C, por ende, no hay desnaturalización de la cadena polimérica.

En el estudio de López M. (2011)²³ luego de la purificación hay reducción de sustancias minerales, situación similar al del presente estudio en donde se obtiene 0.32% de cenizas y 15.6% de humedad, lo cual lo convierte en una muestra con menos contenido de impurezas y más soluble en medio ácido, lo cual facilitará su posterior aplicación.

5.2 Formulación del emoliente:

Para que sea posible la aplicación del quitosano en la bebida emoliente, es necesaria su disolución. El quitosano al contar con la presencia de grupos aminos a

lo largo de su cadena permite la disolución en ácidos diluidos por medio de la protonación de sus grupos, lo que genera la correspondiente sal del quitosano en solución. Este carácter polielectrolítico influirá en las propiedades reológicas (viscosidad)²⁰ del producto final.

En las pruebas preliminares se evidencia que la velocidad de la reacción de oxidación (pardeamiento) es menor en la bebida tipo emoliente con adición de quitosano disuelto en ácido ascórbico, con respecto a la bebida con adición de quitosano en ácido cítrico. Por ello para las próximas etapas se trabajará con la solución de quitosano disuelto en ácido ascórbico al 1%.

Por lo expuesto en el ítem 5.1 el peso molecular del quitosano utilizado en el estudio es elevado, lo que provoca que forme precipitados con compuestos minerales²⁰, y considerando que los insumos de la bebida tipo emoliente son abundantes en minerales^{43,48} habrá tendencia en formar precipitados, lo cual es una característica organoléptica no tan deseable por los consumidores, gracias a las pruebas preliminares realizadas se obtienen los insumos con los cuales se trabajarán en las próximas etapas: linaza, cola de caballo, cebada tostada, canela, clavo y azúcar.

5.3 EVALUACIÓN SENSORIAL - Prueba hedónica:

- **Color:**

La evaluación estadística de la variable color por medio del análisis de varianza (tabla 11) expresó que existe diferencia significativa entre los tratamientos, con un 95% de confiabilidad, lo que indica que el atributo color influyó en la aceptabilidad del consumidor. Analizando las medias aritméticas de los 4 tratamientos; el tratamiento A3 (0.03% quitosano) es el de mayor aceptabilidad con un puntaje promedio de 3,93 y el de menor aceptación A4 (0.04% Quitosano) con un puntaje promedio de 2,93 (Tabla 12).

Se realizó la prueba de Friedman⁵⁵, y se comparan las medias entre tratamientos, se tiene que existen diferencias significativas entre A1 (sin quitosano) y A4 (0.04% Quitosano); entre A2 (0.02% Quitosano) y A4; y entre A3 (0.03% quitosano) y A4. Estas diferencias se deben a que el tratamiento A4 presenta sedimentos (precipitados), a diferencia de los otros tratamientos que contienen menor concentración de quitosano, y el tratamiento control (sin quitosano).

- **Olor y sabor:**

La evaluación estadística de la variable olor y sabor por medio del análisis de varianza (tabla 14 y 17) expresó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos, con un 95% de confiabilidad, lo que indica que el atributo olor y sabor no influyó en la aceptabilidad de los consumidores.

Haciendo el análisis de las medias aritméticas se tiene que para olor y sabor, el tratamiento con mayor aceptabilidad fue A3 (0.03% Quitosano) con un puntaje promedio de 3,98 y 4.02, respectivamente. Para el olor el tratamiento con menor aceptación fue A1 (sin quitosano) con un puntaje promedio de 3.6 (Tabla 15); mientras que para el sabor los tratamientos con menor aceptación fueron A4 (0.04% quitosano) con un puntaje promedio de 3.6 y A2 (0.02%quitosano) con un puntaje promedio de 3.8 (Tabla 18). Los tratamientos A2 y A3 (con quitosano) presentan buena aceptación por parte de los consumidores en cuánto a olor y sabor. Pastor A (2004)²¹ manifiesta que el quitosano presenta una característica sensorial adversa (astringencia), al utilizar mayores concentraciones; más aún si presenta un alto peso molecular. En el presente estudio evidenciamos que las concentraciones del tratamiento control, 0.02 y 0.03% de quitosano presentan una calificación de “me gusta ligeramente”. Mientras que el tratamiento con 0.04% tiene una calificación menor; por ello en la próxima etapa del diseño experimental, este tratamiento se dejará de evaluar.

De igual manera se realiza la prueba de Friedman⁵⁵, analizando los 4 tratamientos. Para el atributo olor (tabla 16), se evidencia que existen diferencias significativas entre A1 (sin quitosano) y A3 (0.03% quitosano); y entre A1 y A4 (0.04% quitosano) a un 95% de confiabilidad. Para el atributo sabor (tabla 19), se demuestra que existe diferencia significativa entre A3 (0.03%Q) y A4 (0.04%) a un 95% de confiabilidad.

Se obtiene a partir de los resultados que, a pesar de que no existen diferencias significativas entre todos los tratamientos, en cuánto olor y sabor, el consumidor presenta mayor aceptación por los tratamientos que presentan quitosano, frente al que no contiene quitosano.

- **Consistencia:**

La evaluación estadística de la variable consistencia por medio del análisis de varianza (tabla 20) expresó que existe diferencia significativa entre los tratamientos,

con un 95% de confiabilidad, lo que indica que el atributo consistencia influyó en la aceptabilidad de los consumidores.

Analizando la media aritmética de los 4 tratamientos se tiene que el tratamiento A3 (0.03% Quitosano) es el de mayor aceptabilidad con un puntaje promedio de 3,62 y el de menor aceptación A4 (0.04% Quitosano) con un puntaje promedio de 3.07 (Tabla 21).

También, se realizó la prueba de Friedman⁵⁵ y se compara las medias entre tratamientos. Tenemos que existen diferencias significativas entre A1 (sin quitosano) y A3 (0.03% quitosano); A2 (0.02% quitosano) y A4 (0.04% quitosano); A3 (0.03% quitosano) y A4 (0.04%Q) a un 95% de confiabilidad. La viscosidad del quitosano en solución depende principalmente de su peso molecular, a pH < 5.5 puede emplearse como espesante, estabilizante o agente de dispersión¹¹. El pH de la bebida tipo emoliente es de 3.5, y al ser el quitosano utilizado de alto peso molecular conferirá al producto una característica espesante, lo cual es positivo ya que la bebida emoliente tradicional presenta una gran viscosidad gracias a las gomas segregadas por la linaza (lignina).

Sin embargo, al agregar gran concentración de quitosano (0.04%) la propiedad de formar precipitados es mayor que la propiedad espesante; es por ello que no es aceptable para los consumidores. Correa K, (2014)⁷; logra solucionar el problema de formación de precipitados en una bebida con leche, desarrollando quitosanos modificados. Con estos resultados, para la siguiente etapa del estudio, se evaluará el tiempo de vida en anaquel de los tratamientos de 0.02% y 0.03%.

5.4 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE VIDA EN ANAQUEL

5.4.1 Análisis físicoquímicos

- **pH**

En general el pH, de las bebidas no carbonatadas se encuentran entre 2.07 a 4.0⁵ si son néctares o jugos el pH lo confiere la acidez propia de los frutos utilizados; en el estudio el pH lo confiere la solución de quitosano (disuelto en ácido ascórbico) y la incorporación de ácido cítrico para la estandarización entre todos los tratamientos.

Las variaciones del pH (tabla 23) desde el primer día hasta los 40 días de almacenamiento, van en descendencia para todos los tratamientos. En estudios similares como el de Porras Y. (2015)⁵² ocurre una situación similar, la disminución

de pH se debe a la degradación del ácido ascórbico e hidrólisis ácida de la sacarosa, lo cual podría estar asociado con las diferencias obtenidas en el pH de las bebidas³⁰.

- **Sólidos solubles**

En el estudio los sólidos solubles lo confieren el azúcar añadido, las gomas y azúcares de la linaza; para todos los tratamientos la estandarización de sólidos solubles fue de 8.00 °Brix.

Para el tratamiento control (sin quitosano) las variaciones desde el primer día hasta los 40 días de almacenamiento para sólidos solubles (Tabla 24), son mínimos, aunque si hay reducción y esto es debido al crecimiento microbiano durante el almacenamiento, puesto que los microorganismos utilizan los azúcares presentes en la bebida como sustrato para su desarrollo³⁴.

- **Acidez titulable:**

Al igual que en el pH la acidez lo confiere el quitosano en solución de ácido ascórbico y el ácido cítrico incorporado para lograr la estandarización de todos los tratamientos. Los insumos de la bebida por sí solos no confieren acidez a la bebida. Los niveles de acidez en todos los tratamientos (Tabla 25) aumentan mínimamente durante el almacenamiento de las bebidas, similar resultado obtenido en el trabajo realizado por Cunha I. (2011)⁵.

- **Turbidez:**

La adición de quitosano en cada tratamiento influye en la turbidez inicial de las bebidas esto se debe a la capacidad del quitosano de interactuar con iones metálicos²⁰ presentes en la bebida tipo emoliente^{43, 47,49}. Por ello el tratamiento control presenta una turbidez de 392.67 NTU, con 140 unidades menos que el tratamiento A2 (0.02% quitosano). La turbidez varía para todos los tratamientos (tabla 26), y durante el almacenamiento los resultados van en ascendencia en función del tiempo y también de la concentración de quitosano.

- **Viscosidad:**

La adición de quitosano en los tratamientos aumenta la viscosidad de la bebida, tal se demuestra con los resultados al primer día de almacenamiento (tabla 27); para

el tratamiento control (sin quitosano) la viscosidad es de 20.0 cP, para A2 (0.02% quitosano) es de 20.3 cP, para A3 (0.03% quitosano) es de 20.7 cP y para A4 (sorbato de potasio) es de 20.1. Lo cual comprueba lo expuesto por Cunha I. (2011)⁵, al adicionar quitosano, se obtiene viscosidades mayores que las de los tratamientos controles; esto se debe a la actividad polielectrolítica del quitosano que en medios ácidos tienden a formar geles y/o soluciones más viscosas¹¹.

La disminución de la viscosidad en el tiempo se debe a que la cadena polimérica del quitosano en solución; tiende a relajarse con el tiempo, lo que ocasiona que las cadenas se desenreden y se relajen²⁰.

- **Ácido ascórbico:**

Los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos en estudio confirman que durante el almacenamiento hubo una pérdida de ácido ascórbico, situación similar al del estudio de Delgado J. (2012) en la estimación de vida útil para bebidas envasadas⁸². Esto se debe a que el ácido ascórbico es una vitamina muy inestable, los factores que aceleran la reacción de degradación u oxidación son: la presencia de luz, pH, temperatura y presencia de oxígeno³⁰. La degradación del ácido ascórbico durante su almacenamiento es común en bebidas envasadas (pardeamiento no enzimático), puesto que el ácido ascórbico se degrada a compuestos carbonílicos altamente reactivos (3-desoxipentosa y 3,4-didesoxipentosa-3-eno) los cuales reaccionan con aminas para dar el color.

Los resultados obtenidos durante el almacenamiento a diferentes temperaturas para los diferentes tratamientos en estudio; afirman que para la muestra control (sin quitosano) la pérdida porcentual de ácido ascórbico durante su almacenamiento por 40 días a 45°C es de 33.33%; para el tratamiento A2 (0.02% quitosano) la pérdida es de 30.91%; para A3 (0.03%) la pérdida es de 26.22% y para el tratamiento con sorbato de potasio es de 24.7% (Tablas 29). Comparado con la muestra control, los resultados comprueban que el quitosano reduce la pérdida de ácido ascórbico, al igual que el sorbato de potasio.

El mecanismo mediante el cual el quitosano, presenta capacidad antioxidante no es aún muy claro, aunque parece ser que se atribuye a la capacidad de donar protones o de ceder electrones de transferencia de los grupos amino, y también a la capacidad de donar protones de los grupos hidroxilos unidos a carbono en las posiciones C-2, C-3 y C-6 del anillo de glucopiranososa^{20,23}.

- **Determinación del vacío en el envasado**

La determinación del vacío se realizó con el objetivo de verificar que el envasado haya sido eficiente y/o en el tiempo haya habido posible fuga de aire y contacto del ambiente externo con la bebida pasteurizada. El vacío debe cumplir las especificaciones de la NTE INEN para bebidas envasadas en botellas de vidrio, la cual indica que el vacío debe ser mayor a 320 hPa³³. En el estudio todos los tratamientos cumplen con las especificaciones del INEN (Tabla 30).

5.4.2 Análisis microbiológicos y sensoriales:

El control de la carga microbiana es fundamental en el estudio, puesto que, si se excede los límites máximos permisibles por el MINSA³⁵, la bebida ya no se encuentra apta para el consumo y por ende su tiempo de vida finaliza.

Cunha I.⁵ afirma que la adición de quitosano en una etapa previa a la pasteurización de los jugos, disminuye la carga microbiana inicial, permitiendo tratamientos menos enérgicos, y, por ende, la conservación de las vitaminas propias de los alimentos. López M, et.al (2012)⁹; ha comprobado su acción bactericida en recubrimientos de fresas, logrando inhibir el crecimiento de aerobios mesófilos comparados con una muestra control.

- **Aerobios mesófilos, mohos, levaduras:**

Los aerobios mesófilos, mohos y levaduras son indicadores de calidad que comprueban que el método de pasteurización ha sido el óptimo durante el proceso de elaboración; y en la determinación de vida útil identifica el tiempo en el que la bebida ya no puede ser consumida y/o expandida. Las técnicas para controlar el desarrollo de los microorganismos son muchas, entre ellas tenemos: el tratamiento térmico, preservantes, empaques, pH, entre otros³⁰.

En el estudio, se utiliza el quitosano como alternativa de conservante, comprobando que tiene efectos satisfactorios en sus 2 concentraciones utilizadas de 0.02% y 0.03% (Tabla 34). Durante su almacenamiento de 40 días a diferentes temperaturas, los tratamientos con quitosano cumplen satisfactoriamente con los parámetros microbiológicos establecidos por el MINSA, para bebidas no carbonatadas³⁵.

Mientras que el tratamiento control (sin quitosano) no cumple con los criterios microbiológicos: Para aerobios mesófilos, la norma establece que los valores deben ser < 10 ufc/mL, por lo cual el tratamiento incumple a partir del día 30 a temperatura de 45°C. Por lo tanto, la bebida control (sin quitosano) es inaceptable bajo el punto de vista microbiológico, según la NTS del MINSA, a partir del día 30 a 45°C y a partir del día 40 a 35°C. Gracias a los análisis microbiológicos podemos confirmar que el quitosano presenta un efecto antimicrobiano, comparado con el tratamiento control (sin quitosano).

Resultados similares de reducción de carga microbiana se demuestran en los estudios de Cunha I (2011)⁵ y López M. et.al (2012)⁹, quienes comprueban que el aplicar quitosano reduce la carga microbiana en comparación con las muestras controles. Esto ocurre gracias a la actividad antimicrobiana del quitosano explicada en el ítem 2.2.3.4 del presente estudio.

- **Coliformes:**

La determinación de coliformes se realiza con el objetivo de comprobar que la bebida es inocua y que se han cumplido con las buenas prácticas de manufactura durante su elaboración. Los coliformes son microorganismos patógenos, por lo cual es calificado como un indicador de inocuidad³⁴, de tal forma en cualquier producto de consumo debe haber ausencia absoluta de estos microorganismos, tal como lo indica la NTS del MINSA³⁵; en el estudio todos los tratamientos cumplen con este criterio microbiológico (tabla 33).

- **Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial se realizó luego de obtener los resultados microbiológicos de cada tratamiento.

La evaluación sensorial tuvo 2 escalas: aceptable y no aceptable. Para el estudio, el tratamiento de 0.02, 0.03% de quitosano y 0.005% de sorbato de potasio, fueron aceptables durante toda la evaluación de tiempo de vida útil. Sin embargo; para el tratamiento sin quitosano a partir del día 30 a 45°C se obtiene resultados microbiológicos fuera de los límites aceptables según el MINSA³⁵, por lo cual no se realizó la prueba de evaluación sensorial.

5.5 Estimación de vida útil por método de pruebas aceleradas:

El proceso de degradación del ácido ascórbico puede ser utilizado como indicador de calidad, ya que puede modificar algunas de las características organolépticas de la bebida. Por tal motivo, el cálculo y la estimación de vida útil se realizará considerando la degradación del ácido ascórbico.

La estimación de la vida útil se realiza con pruebas aceleradas, por un periodo de almacenamiento de 40 días a 20°C, 35°C y 45°C. Los resultados a una temperatura de almacenamiento de 25°C; para el tratamiento control (sin quitosano) es 88 días, equivalente a 2 meses y 28 días (tabla 38). El tratamiento A2 (0.02%) presenta una vida útil de 94 días, un equivalente de 3 meses y 4 días (tabla 41). El tratamiento A3 (0.03%) presenta una vida útil de 118 días, un equivalente a 3 meses y 28 días (tabla 44). Mientras que el tratamiento SK (sorbato de potasio) presenta una vida útil de 130 días un equivalente a 4 meses y 10 días (tabla 47).

Comparando los resultados con la muestra control y los tratamientos con adición de quitosano, se comprueba la actividad conservante y la capacidad para reducir la pérdida de ácido ascórbico, del polímero en estudio. Sin embargo, el tratamiento con sorbato de potasio presenta mayor actividad conservante y antioxidante que el quitosano; por lo tanto, aunque el quitosano no exprese mayor actividad conservante es una alternativa de uso como aditivo alimentario con estos fines.

5.6 Composición química proximal de la bebida tipo emoliente

Para la bebida tipo emoliente, el % de carbohidratos lo confiere las fibras solubles de la linaza, los almidones de la cebada y el azúcar incorporado que confiere un sabor aceptable a la bebida. El % de cenizas en la bebida tipo emoliente los confieren los minerales de la cebada, linaza y cola de caballo; entre estos minerales tenemos potasio, calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y manganeso^{43, 45,46}. El contenido de lípidos en la bebida es mínima (0.02%), lo pueden conferir las semillas de linaza, ya que dentro de su contenido graso cuenta con los ácidos grasos omega 3 y 6⁴⁵, también pueden conferirlo la cebada o cola de caballo, utilizados como insumos en la bebida.

6. CONCLUSIONES

- El quitosano aplicado en bebidas envasadas, no carbonatadas, presenta actividad conservante. Se comprueba con la acción antimicrobiana y antifúngica del quitosano, aplicado en la bebida tipo emoliente. Ambos tratamientos (0.02% y 0.03%) cumplieron los criterios microbiológicos según la Norma Técnica Sanitaria del MINSA, durante todo su almacenamiento. Por otro lado; el quitosano con una concentración al 0.03%, presenta menor acción en el decrecimiento del ácido ascórbico comparado con el conservante comercial, sorbato de potasio al 0.005%.
- Las concentraciones de quitosano aplicadas a la bebida tipo emoliente con mayor aceptabilidad hedónica respecto al atributo sabor, utilizando la prueba hedónica a 45 consumidores, fue A3 (0.03% quitosano) con un promedio de 4.02 puntos, en una escala hedónica de 5 puntos. Seguida del tratamiento A2 (0.02% quitosano), luego el tratamiento control (sin quitosano) con 3.77 puntos, y el tratamiento A4 (0.04% quitosano) con 3.56 puntos. Para el atributo color y consistencia, las concentraciones con mayor preferencia fueron 0.03% y 0.02%. Sin embargo; para el atributo olor, las concentraciones con mayor aceptabilidad hedónica son 0.03% y 0.04%.
- La vida útil o vida de anaquel, para las bebidas tipo emoliente estudiadas en la presente investigación fueron de 88 días, para la bebida control (sin quitosano); para la bebida con adición de 0.02% de quitosano fue de 94 días (equivalente a 3 meses y 4 días) y para la bebida con adición de 0.03% de quitosano fue de 118 días (equivalente a 3 meses y 28 días). Mientras que utilizando sorbato de potasio a 0.05 g/L se obtuvo un tiempo de vida útil de 130 días un equivalente a 4 meses y 10 días. El tratamiento control (sin quitosano) presenta crecimiento microbiológico de aerobios mesófilos fuera de los límites de la norma sanitaria del MINSA a partir del día 40 a 35°C.
- La composición química proximal para la bebida no carbonatada tipo emoliente con 0.03% de quitosano fue de: proteína 0.13%, humedad 92.1%, cenizas 0.091%, lípidos 0.02% y carbohidratos 7.7%. Los resultados microbiológicos fueron: aerobios mesófilos < 10, mohos y levaduras <1 y ausencia de coliformes; por lo tanto cumplen con los criterios microbiológicos según la Norma Técnica Sanitaria del MINSA.

7. RECOMENDACIONES

- Para utilizar el quitosano como conservante en bebidas, es necesario considerar el peso molecular de éste, puesto que al tener alto peso molecular formará precipitados con compuestos minerales o aniónicos presentes, lo cual es una característica no aceptable en los consumidores.
- Realizar un estudio de vida en anaquel de una bebida con adición de quitosano, realizando pruebas en tiempo real, considerando los parámetros microbiológicos.
- La quitina y quitosano es un desecho industrial que tiene diversas aplicaciones, se debe promover la investigación y desarrollo a nivel del campo alimentario, toxicológico y/o farmacéutico.
- El uso de quitosano como aditivo, debe ayudar a complementar los procesos de conservación tradicional, sin descuidar las buenas prácticas higiénicas sanitarias durante la fabricación de alimentos.
- Realizar un estudio fitoquímico completo y cuantitativo de la bebida tipo emoliente, puesto que es una bebida de consumo tradicional y masivo en nuestro país.
- Realizar un estudio de prefactibilidad de una planta procesadora de quitina y quitosano.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Producción. Taller de gestión ambiental en las actividades pesqueras artesanales. Trujillo: Ministerio de Producción; Set 2017.
2. Ministerio del Ambiente. Estudio de desempeño ambiental 2003-2013. Cap.11. Lima: Ministerio del ambiente; 2014.
3. Belandria JC, Morillo de Montiel N. Recuperación de quitina a partir de los residuos sólidos generados del procesamiento industrial de crustáceos. Rev Cubana Quim. 2008; 20 (3): 17-26.
4. Cavalcante A, Montenegro T, Montenegro L. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. Rev Iberoam Polim. Julio 2008; 9(5): 435 – 451.
5. Cunha I. Uso de quitosana como alternativa natural para a conservação de suco de acerola [Tesis]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2011.
6. Palupi E, Suhartono M, Ploeger A. The instant beverage formulation based on small crab chitosan's (*Portunus pelagicus*) and green tea. Rev Bogor Agri Univ. 2012; 2(5): 5-6.
7. Correa K, Eduardo M, Polakiewicz B, Da Silva S. Evaluation of Chocolate Milk Beverage Formulated with Modified Chitosan. Rev Agr Sci Tech. 2014; 16: 1301-1312.
8. Martínez E. Diseño y aplicación de un recubrimiento comestible de quitosano para alargar la vida de anaquel del queso Oaxaca [Tesis]. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2012.
9. López M, Ruiz S, Navarro C, Ornelas J, Estrada M, Ortega L, *et al.* Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas. Rev. BIOtecnia. 2012; 14(1): 33 – 43.
10. Rico F. Estudio de la aplicación de recubrimientos comestibles de quitosano y su combinación con aceites esenciales sobre la vida útil del mango (*Mangifera indica L.*) mínimamente procesado [Tesis]. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2013.
11. Celeste G. Aplicación del quitosano en mayonesa [Tesis]. Mar de Plata: Universidad FASTA; 2014.

12. Rodríguez M. Los agentes conservadores en los alimentos. Rev. Eroski Consumer [Internet] – Jun. 2010 [Recuperado Ene 2018]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/php>.
13. Blanco de Alvarado T. Aditivos Alimentarios. 1ª Edición, Lima: Ed. Fundación Ajinomoto; 2006.
14. Hernández H, Almanza E, Flores O, Viveros E, Ramos E. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. Rev Superf Mat. Sep 2009; 22 (3): 57-60.
15. Colina M, Ayala A, Rincón D, Molina J, Medina J, Ynciarte R, *et al.* Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos, escala piloto e industrial. Rev Iberoam Polim. Ene 2014; 15(1): 21-43.
16. Larez C. Algunos usos del quitosano en Sistemas Acuáticos. Rev Iberoam Polim. Abril 2003; 4(2): 91–109.
17. Castro N, Vidal C. Obtención y Caracterización de Quitina y Quitosano del *Emerita Análoga* (“*muy muy*”) a escala piloto. Rev Tzhoecoen. 2015; 7 (2): 182–197.
18. Rodríguez A, Ramírez M, Rivero D, Molina E, Barrera L, Bautista S. Propiedades químico- estructurales y actividad biológica de la quitosana en Microorganismos Fitopatógenos. Rev. Chapingo. 2009; 15 (3): 307 – 317.
19. Ayala A, Colina M, Vargas J, Rincón D, Medina J, Rosales L, *et al.* Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano contra el hongo *Mycosphaerella Fijiensis Morelet* que produce la *Sigatoka negra* que ataca el plátano. Rev Iberoam Polim. Diciembre 2014; 15(6): 312-338.
20. Valenzuela C, Arias J. Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión. Rev Av Cienc Vet. 2012; 27(1): 33 – 47.
21. Pastor de Abram, Ana (Ed.). Quitina y Quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones. Lima: Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004.
22. Devlieghere F, Vermeulen A, Debevere J. Chitosan: antimicrobial activity, interaction with food components and applicability as a coating on fruits and vegetables. Rev Food Microbiol. 2004; 21(6): 703 – 714.

23. López M. Obtención y caracterización de quitosanos modificados: ingredientes funcionales con aplicaciones tecnológicas y biológicas en la industria alimentaria [Tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2011.
24. Rowe R, Paul J, Marian Q (Ed.). Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6^o edición. London: Ed. APHA; 2009.
25. Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 40/NF 35. Formulario Nacional. Volumen 4. Maryland: The United States Pharmacopeial; 2017
26. Espinoza E. Propiedades físicas y biológicas de dos tipos de esponjas de quitosano, para su aplicación como biomaterial [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
27. Larez C. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. Rev USDO Agrícola. 2008; 8(1):1 - 22.
28. Camacho V. Obtención de quitosano por desacetilación de quitina vía enzimática [Tesis]. México: Instituto politécnico Nacional México D.F.; 2007.
29. Marmol Z, Páez G, Rincón M, Araujo K, Aiello C, Chandler C, *et al.* Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. Rev Tecnosc. 2011; 53-58.
30. Kuklinsky C. Nutrición y Bromatología. 2^o Edición. Barcelona: Ed. Omega; 2003.
31. Norma general para los aditivos alimentarios. Codex Stan 192-1995. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) / Organización Mundial de la Salud (OMS); 1995.
32. INACAL – Instituto Nacional de Calidad. Norma Técnica Peruana: NTP 203.111. REFRESCOS. Requisitos. 1^a Edición; Lima: 2010.
33. INEN. Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 2 337:2008. Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos. Ecuador [Internet] 2008. [Recuperado Dic 2016]. Disponible en: <http://apps.normalizacion.gob.ec>
34. Frazier W, Westhoff D. Microbiología de los alimentos [Internet] 4^o Edición. España: Acribia; 1993 [Recuperado el 05 de oct 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/>

35. MINSA/DIGESA-V.01 NTS N°071 Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. RM N°591-2008-Perú [Internet] 2008. [Recuperado Dic 2016]. Disponible en: <http://www.digesa.minsa.gob.pe>
36. Diccionario de la Real Academia Española [Internet]. 23 ed. España: Real Academia Española. 2014 [Recuperado: 2018]. Disponible en <http://www.rae.es/rae.html>
37. Acosta M. La historia del emoliente, una bebida con esquina. Diario El Comercio [Internet] 21 Mayo 2011 [Recuperado 05 de ago 2017] Disponible en: <http://archivo.elcomercio.pe/gastronomia/peruana/historia-emoliente-bebida-esquina-noticia-760465>
38. Bussmann R, Paniagua N, Castañeda R, Prado Y, Mandujano J. The ethnobotany of Emolientes and Emolienteros in Peru. Rev N Y Bot Gard Press. 2015; 20 (10): 1-6.
39. Bao D. Emoliente Perú, infusión urbana. Revalorización del patrimonio cultural inmaterial del Perú, a través de los trabajadores emolienteros, en el proceso de inclusión social, Lima. Rev. Zoo; 2014; 5(1): 1-3.
40. Ley N° 30198 Ley que reconoce la preparación y expendio o venta de bebidas elaboradas con plantas medicinales en la vía pública, como microempresas generadoras de autoempleo productivo (Ley del Emolientero). Diario El Peruano [Internet] Mayo 2014 [Recuperado Ago 2017]. Disponible en: <https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ordenanza-adecuada-a-la-ley-n-30198-ley-que-reconoce-la-pr-ordenanza-no-259-mdl-1618356-1/>
41. Diario El Comercio. Congreso también aprobó Ley de formalización del Emolientero [Internet] Mayo 2014 [Recuperado Ago 2017]. Disponible en: <https://elcomercio.pe/peru/congreso-aprobo-ley-formalizacion-emolientero-310827>
42. INS PERÚ. Recomendación del consumo del emoliente por sus propiedades medicinales [Internet] Febrero 2016 [Recuperado Ago 2017]. Disponible <https://www.youtube.com/watch?v=jcN9v0m8-wg>
43. Seminario J. Etnobotánica del emoliente y otras bebidas de venta ambulatoria en la ciudad de Cajamarca [Perú]. Rev CAXAMARCA. 2004; 12(1): 9-28.
44. Sáenz E. Entrevista personal al secretario de la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros del Perú (FENTEPE). Lima, Setiembre. 2015

45. Ruiz A, Gaviria B, Arango C, Molina C, López B. Consumo de linaza molida para la reducción de peso corporal en personas con exceso de peso, Colombia. *Rev Perspect Nutr Hum*. 2011; 13(1): 45 – 56.
46. Lenzi K, Spreafico F, Teles G, Guzmán M. Efecto de la semilla de linaza (*Linum Usitatissimum*) en el crecimiento de ratas Wistar. *Rev Chil Nutr*. 2008; 35(4): 443 – 451.
47. León B. La cola de caballo (*Equisetum*) comercializada y exportada del Perú. *Rev. Peru Biol*. 2012; 19(3): 345 – 346.
48. Escobar B. Evaluación de parámetros de rendimiento de cultivares y líneas de cebada (*Hordeum vulgare L*) en Paucará-Acobamba-Huancavelica [Tesis]. Huancavelica: Universidad Nacional de Huancavelica; 2013.
49. Espin de Rivera S, Rivadeneira M (Ed.) La cebada: un cereal nutritivo. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. INIAP Departamento de Nutrición y calidad. Quito: Departamento de nutrición y calidad; 1996.
50. Guamanzara M. Estudio e investigación del cardamomo y la canela, sus beneficios y elaboración de nuevas recetas gastronómicas [Tesis]. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial; 2011.
51. Aguilar A, López A. Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Rev. Temas Select Ing Alim*. 2013; 7(2): 35-41.
52. Porras Y. Aplicación de un proceso tecnológico para la obtención de una bebida emoliente a partir de linaza, sábila y cola de caballo para consumo humano [Tesis]. Machala: Universidad Técnica de Machala; 2015.
53. Liria M. Guía para la evaluación Sensorial de Alimentos. Instituto de Investigación Nutricional (IIN). Lima: Agro salud; 2007.
54. Flores N. Entrenamiento de un panel de evaluación sensorial para el departamento de nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile [Tesis]. Santiago: Universidad de Chile; 2015.
55. Sancho J, Bota E, De Castro J. Introducción al análisis sensorial de los alimentos 1º Edición. Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona; 1999.

- 56.** Ramírez – Navas, J. Análisis sensorial: Pruebas orientadas al consumidor. Universidad Del Valle. Revista ReCiTeIA, Colombia. 2012; 12(1): 85-101.
- 57.** Norma UNE-ISO 11136:2014 Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la realización de pruebas hedónicas con consumidores en una zona controlada. Madrid: Asociación Española de Normalización y Certificación; 2014.
- 58.** Anzaldúa A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Edición nº1. Zaragoza: Editorial Acribia; 1994.
- 59.** INACAL – Instituto Nacional de Calidad. Norma Técnica Peruana. NTP-ISO 6658. Metodología. Lineamientos generales.
- 60.** Carrillo M, Reyes A. Vida útil de los alimentos. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Rev Iberoam Cienc Biol Agropec. 2013; 2(3):1-5.
- 61.** Araya D. Determinación de la vida útil de arroz preparado espárrago líder, elaborado por empresas TUCAPEL S.A. mediante pruebas aceleradas [Tesis]. Santiago: Universidad de Chile; 2012.
- 62.** Ordoñez C. Estudio del efecto de los envases plásticos en la vida de anaquel de leches fermentadas [Tesis]. Cuenca: Universidad del Azuay; 2014.
- 63.** Ocampo J. Determinación de la vida de anaquel del café soluble elaborado por la empresa DECAFÉ S.A. y evaluación del tipo de Empaque en la conservación del producto [Tesis]. Manizales: Universidad Nacional de Colombia; 2012.
- 64.** Nuñez C. Determinación de la estabilidad y vida en anaquel de alimentos. Guía para el curso de determinación de vida útil de alimentos. Edición nº1, Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2010: 1-54.
- 65.** Man C. y Jones A (Ed.) Shelf life evaluation of foods. Edición nº1, London: Ed. Springer Science Business Media; 1994.
- 66.** Santos J, Soares J, Dockal E. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. Rev Polim: Cienc Tecnol. 2013; 13(4): 242-249.
- 67.** W. Latimer (Ed.) AOAC Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. Edición nº 20. Gathersburg: AOAC International; 2016.
- 68.** Boxler M. Infusiones de plantas aromáticas y medicinales. Rev INTA. 2011; 77(1): 1-5.

69. Aguirre M. Jugo de caña de azúcar envasado en vidrio [Tesis]. Guayaquil: Escuela superior politécnica del litoral; 2011.
70. Torres J. Elaboración del néctar de uvilla *Physalis peruviana* L., utilizando sacarina, dos concentraciones de estabilizantes y dos tiempos de pasteurización [Tesis]. Ibarra: Universidad técnica del Norte; 2011.
71. García C, Molina M. Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas aceleradas. Rev Semest Univ Costa Rica. 2008; 18(1,2):57-64.
72. Indicaciones de uso. Ascorbic Acid Test Kit Model. ASC 1 – HACH.
73. United States Environmental Protection Agency (US-EPA). Método 180.1. Determinación de turbidez por nefelometría. Rev. 2.0. [internet] Agosto 1993 [Recuperado oct 2017] Disponible en: es.hach.com/nefelometros
74. Brookfield Laboratories. Brookfield Viscometer. Operating Instructions Manual N° M/85-150-P700. Massachusetts: Brookfield Engineering Laboratories; s.f.
75. Normas mexicanas. NMX-F-144-1978 Determinación del vacío en recipientes rígidos herméticamente sellados. [internet] 1978. [Recuperado oct 2017] Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas>.
76. 3M™ Petrifilm™ Plates Certifications, recognitions and validations. [internet] Marzo 2017. [Recuperado ene 2018] Disponible en: <https://multimedia.3m.com/mws/media/241188O/3m-petrefilm-plates-certifications-validations-recognitions-af>.
77. UNE-ISO 4121:2003. Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escala de respuestas cuantitativas. Madrid: Asociación Española de Normalización y Certificación; 2006.
78. FO-P-02: Ensayos sensoriales, selección, entrenamiento y evaluación periódica de catadores. Lima: SGS Del Perú; 2015.
79. Parada. L, Crespín G, Miranda R, Katime I. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. Rev Iberoam Polim. 2004; 5(1): 1-16.
80. López P. Obtención de quitosano a partir de desechos del exoesqueleto de camarón tití (*xiphopenaeus riveti*) para el desarrollo de películas poliméricas plastificadas con glicerina [Tesis]. Santiago de Cali: Universidad de San Buenaventura; 2014.

- 81.** Fuentes L. Preparación, caracterización y evaluación in vitro e in vivo de películas de quitosano para su aplicación como apósito en heridas por quemaduras. [Tesis]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2007.
- 82.** Delgado J. Estudio de la vida útil de néctar a base de zanahoria con naranja [Tesis]. Quito: Universidad Tecnológica equinoccial; 2012.
- 83.** Verde M, García S, Rivas C. Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. Rev Invest Import Med. 2016; 2(1): 1-40.
- 84.** Espinoza P, Oré L, Raissa J, Arévalo F. Marcha fitoquímica de *Aristiguetia gayana*, "Asmachilca". Lima: Departamento de Química-UNALM; 2014.
- 85.** Zevallos Liz. Uso terapéutico de la cola de caballo (*equisetum arvense*) en pobladores de la ampliación Víctor Raúl Haya De la Torre, La Victoria - Chiclayo, setiembre 2014-agosto 2015 [Tesis]. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles; 2016.
- 86.** Reyes E, Suárez M. Lactonas sesquiterpénicas. Diversidad estructural y sus actividades biológicas. Rev CENIC Cienc Biol. [internet] 2015 (Enero-abril) [Recuperado dic 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa>
- 87.** Salas D. Estudio de prefactibilidad para la puesta en marcha de una planta procesadora de quitina, ubicada en el cantón Eloy Alfaro de la provincia del guayas [Tesis]. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial; 2011.
- 88.** Reaño E., Rimarachin S. Determinación del tiempo de vida útil de una bebida a base de noni (*Morinda citrifolia*) y guayaba (*Psidium guajava L.*). [Tesis] Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2015.

ANEXOS

ANEXO N°1: Metodología y resultados de la caracterización del quitosano obtenido a partir de cabezas de langostino

Características Físicoquímicas	Método	Resultados
Grado de desacetilación	Espectroscopía IR (ASTM F2103-11)	89 %
Peso Molecular	Viscosimetría capilar (ASTM F2103-11)	1070 KDa
Viscosidad Intrínseca	Viscosímetro capilar (ASTM F2103-11)	380 mL/g
Nitrógeno	Método Kjeldahl (AOAC 1990 y ASTM F 2103-01-1987)	7.9 %
Cenizas	Análisis gravimétrico – AOAC 950.14	0.75 %
Humedad	Análisis gravimétrico – AOAC 925.45	18.5 %

Fuente: Planta piloto PUCP de obtención de quitosano.

ANEXO N°2

ENTREVISTA A EDGAR SÁENZ CUNZA

(Secretario General de la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros y Afines del Perú - FENTEPE)

Sr. Edgar Sáenz Cunza, secretario general de la Federación Nacional de Trabajadores Emolienteros y afines del Perú (FENTEPE), agradezco el tiempo brindado para la entrevista. Y con el consentimiento informado de que la información entregada será para fines de investigación, formulo las siguientes preguntas:

1. *Para elaborar el emoliente se utilizan diferentes hierbas e insumos. Basado en su experiencia. ¿Cuáles son los ingredientes que no pueden faltar en un emoliente? Indicar pesos o proporciones de las hierbas a utilizar.*

Los ingredientes que tiene el emoliente son los siguientes: Por cada 8 Litros de agua, se utiliza 250 g cebada, 250g linaza, 1 atado de cola de caballo, boldo, canela y clavo, gotas de limón verde, membrillo, piña cortada con cáscara, la alfalfa se añade de acuerdo al gusto del consumidor.

2. *Esta receta del emoliente, ¿Cómo llega a aprenderla? (familiares, amigos, colegas)*

A lo largo de mi experiencia y por los diferentes eventos a los que asisto he probado diversos emolientes, le puedo asegurar que la receta de emoliente que le entrego es una de las mejores. Inicialmente fue mi tío quien me enseñó la preparación del emoliente.

3. *A lo largo de su experiencia o en la federación, ¿ha surgido la idea de industrializar el emoliente? Si es, si, ¿han encontrado algún inconveniente para industrializarlo?*

No, hasta el momento. Sin embargo, el emoliente que nosotros preparamos a lo mucho nos dura unas 8 horas. Tengo entendido que pueden utilizar conservantes (químicos) para que dure mucho más tiempo.

Lima, 23 de agosto de 2016

ENTREVISTADORA
Aida V. Mirelly Chavesta Ayasta
Bachiller en Ciencia y Tecnología
de los Alimentos

ENTREVISTADO
Edgar Sáenz Cunza
Secretario General - FENTEPE

ANEXO N°3:

ENCUESTA PREVIA A LA EVALUACIÓN SENSORIAL

Nombre: _____

Edad: _____

Sexo: F () M ()

Fecha: _____

A continuación se presentan un listado de preguntas, por favor contestar con total sinceridad.

1. ¿Consume bebidas rehidratantes (como Sporade, Gatorade), refrescantes (agua mineral)? SI () NO ()
¿Con qué frecuencia? () Siempre/todos los días () 2 - 3 veces a la semana () 1 - 3 veces al mes
2. ¿Consume Infusiones/ emolientes? (té, manzanilla, emoliente, etc.) SI () NO ()
¿Con qué frecuencia? () Siempre/todos los días () 2 - 3 veces a la semana () 1 - 3 veces al mes
3. Para el caso de infusiones y/o emoliente, ¿preferirían consumirlo como de forma ambulatoria () o envasado ()? ¿Por qué? _____
4. ¿Consumirían una bebida emoliente envasada? SI () NO ()
5. Presenta alergias o intolerancias a algún tipo de alimento SI () NO () ¿Cuáles? _____
6. Ud. Sufre de problemas respiratorios ¿Asma, Bronquitis, Pulmonía, etc.? Si () ¿Cuál? _____ No ()
7. ¿En esta última semana Ud. ha tenido o está con gripe? SI () NO ()
8. Ud. Consume frecuentemente ají (), cigarrillos (), caramelos mentolados (), enguaje bucal () Ninguno ()
9. ¿Ud. Está dispuesto a participar de evaluaciones sensoriales o degustación de un alimento? SI () NO ()

Muchas gracias☺.

ANEXO N° 4

Nombre del evaluador: _____

Edad: _____

Fecha: _____

FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

INDICACIONES:

A continuación se le presentarán 4 muestras de emolientes.

Por favor, pruebe las muestras de emoliente tal como se le presentan e indique que tanto le gustan o disgustan, según la escala:

ESCALAS	NÚMERO
Me gusta mucho	5
Me gusta ligeramente	4
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta ligeramente	2
Me disgusta mucho	1

CARACTERÍSTICAS	MUESTRAS			
	294	738	574	469
Color				
Olor				
Sabor				
Consistencia				

Observaciones:

¡Muchas gracias! 🙏

ANEXO N°5

Nombre: Fecha:.....

EVALUACIÓN SENSORIAL – EMOLIENTE (TIEMPO DE VIDA)

A continuación se le presentarán 4 muestras de bebidas. Por favor, pruebe las muestras tal como se le presentan y califíquela según la escala: Aceptable/No aceptable. Los descriptores de cada escala, se encuentran en la zona inferior.

MUESTRAS	Aceptable	No aceptable	Descriptores

Tabla de Karlsruhe para bebidas

Escala	Descriptores
Aceptable	Libre de materias extrañas, libre de tonalidades extrañas en el producto. Libre de sabores y olores extraños.
No aceptable	Con presencia de materias extrañas, con tonalidades negras o parduzcas. Olor y sabor: fétido, amargo, ácido, fermentado.

Gracias por su colaboración. 🙌

ANEXO N°6

Resultados de la evaluación sensorial: escala hedónica

COLOR					OLOR				
Nº	738=A1 (S/Q)	574=A2 (0.02%Q)	469=A3 (0.03%Q)	294=A4 (0.04%Q)	Nº	A1=738 (S/Q)	A2=574 (0.02%Q)	A3=469 (0.03%Q)	A4=294 (0.04%Q)
1	3	3	3	3	1	4	4	4	4
2	4	3	5	4	2	3	5	3	4
3	2	3	5	3	3	3	2	3	5
4	3	4	4	2	4	4	1	4	3
5	2	5	3	4	5	2	4	4	2
6	4	2	4	2	6	4	3	4	5
7	3	2	2	3	7	5	4	4	4
8	4	5	4	4	8	2	3	5	4
9	3	3	2	2	9	4	3	4	5
10	2	5	4	4	10	4	2	5	4
11	3	3	3	4	11	5	4	5	2
12	2	2	5	1	12	2	4	4	5
13	4	3	4	3	13	4	3	3	3
14	5	5	5	4	14	5	5	5	5
15	3	4	4	4	15	3	3	3	3
16	3	4	4	2	16	3	3	3	3
17	4	3	3	2	17	4	2	3	5
18	3	4	5	1	18	4	4	4	4
19	4	4	4	2	19	4	3	3	5
20	4	5	5	3	20	4	5	5	5
21	1	5	4	1	21	4	4	5	4
22	4	4	4	2	22	4	4	3	4
23	4	4	3	3	23	5	5	4	4
24	3	3	3	3	24	5	4	3	3
25	3	5	4	3	25	5	5	5	5
26	3	4	5	3	26	3	4	3	4
27	2	4	4	2	27	4	3	4	3
28	4	4	5	3	28	4	4	2	5
29	3	4	3	3	29	4	4	3	4
30	3	3	3	4	30	4	3	4	4
31	4	5	4	4	31	4	4	4	4
32	5	5	5	5	32	5	4	4	4
33	3	4	4	4	33	4	4	3	3
34	3	5	4	4	34	4	4	3	5
35	2	4	3	5	35	3	4	4	5
36	3	3	4	3	36	4	4	4	4
37	4	4	4	5	37	5	4	4	4
38	3	4	4	4	38	5	3	5	3
39	3	3	4	4	39	4	3	3	3
40	3	5	5	3	40	4	4	5	5
41	4	5	5	3	41	4	3	5	4
42	2	4	4	4	42	4	3	4	4
43	3	4	3	5	43	5	4	4	4
44	2	3	4	4	44	4	3	4	3
45	4	4	4	4	45	3	4	3	4
Media (X)	3.48	3.84	3.93	2.93	Media (X)	3.60	3.80	3.97	3.93

SABOR				
Nº	A1=73 8 (S/Q)	A2=574 (0.02%Q)	A3=469 (0.03%Q)	A4=294 (0.04%Q)
1	4	3	4	2
2	2	4	5	4
3	5	4	4	3
4	4	4	5	4
5	2	2	3	3
6	2	4	5	4 (*)
7	4	1	3	4
8	4	4	5	5
9	4	5	3	2
10	3	2	5	4
11	4	3	4	3
12	2	5	1	5
13	3	3	3	3
14	5	4	4	2
15	4	4	3	4
16	4	4	5	5
17	3	5	4	4
18	2	4	3	5
19	4	5	5	5
20	5	5	3	4
21	3	4	5	5
22	2	5	3	5
23	5	5	3	4
24	5	4	2	3
25	4	4	4	5
26	3	5	2	4
27	1	1	4	4
28	3	4	3	5
29	5	4	4	3
30	4	3	5	5
31	4	4	4	4
32	5	4	4	5
33	5	4	3	3
34	4	4	3	4
35	2	3	4	5
36	3	4	5	5
37	3	4	4	4
38	4	4	3	4
39	4	3	4	4
40	3	5	4	3
41	4	3	4	4
42	5	3	3	4
43	4	4	5	5
44	2	4	4	5
45	3	3	4	4
Medi a (X)	3.77	3.77	4.02	3.56
(*)Comentario: La muestra 294 parece agua con azúcar				

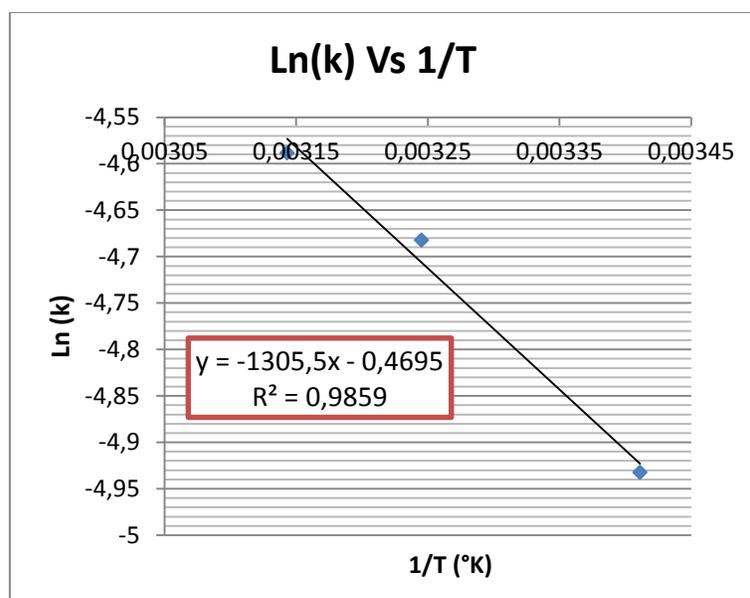
CONSISTENCIA				
Nº	A1=73 8 (S/Q)	A2=574 (0.02%Q)	A3=469 (0.03%Q)	A4=294 (0.04%Q)
1	3	2	4	1
2	4	3	5	5
3	4	3	2	4
4	2	4	4	5
5	4	3	4	1
6	3	3	4	4
7	4	3	4	3
8	4	2	4	4
9	2	4	3	1
10	3	2	4	4
11	3	3	4	4
12	4	4	2	5
13	3	2	3	3
14	5	4	5	4
15	3	4	3	4
16	2	3	4	4
17	2	3	4	5
18	2	5	2	2
19	3	5	5	5
20	1	4	5	5
21	3	3	2	1
22	2	3	4	4
23	4	5	3	3
24	5	5	3	3
25	2	3	4	5
26	4	4	3	4
27	3	2	3	3
28	2	3	4	5
29	3	3	3	3
30	3	3 (*)	4	3
31	2	1	2	1
32	4	4	4	5
33	4	5	3	2
34	3	4	3	5
35	2	3	4	5
36	3	4	4	3
37	3	3	4	3
38	3	3	3	5
39	4	4	3	4
40	3	3	4	3
41	4	4	3	4
42	3	3	2	4
43	3	2	3	4
44	2	3	3	4
45	3	3	4	4
Medi a (X)	3.31	3.48	3.62	3.06
(*) Comentario: La muestra 574 le falta consistencia aunque agrada.				

ANEXO N°7

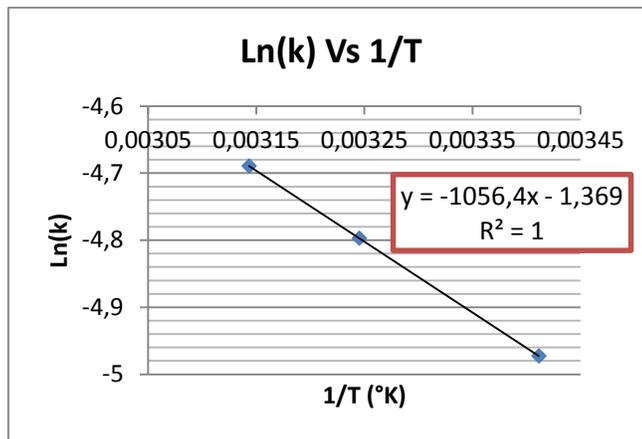
Análisis de la correlación de la regresión lineal para el tratamiento SIN/QUITOSANO			
	R2		
Orden de reacción	20°C	35	45
0	0,99521576	0,9924317	0,98724383
1	0,9984794	0,99784982	0,99678395

Análisis de la correlación de la regresión lineal para el tratamiento 0.02%			
	R2		
Orden de reacción	20	35	45
0	0,998326233	0,99922252	0,99252791
1	0,997711026	0,99979037	0,99737575

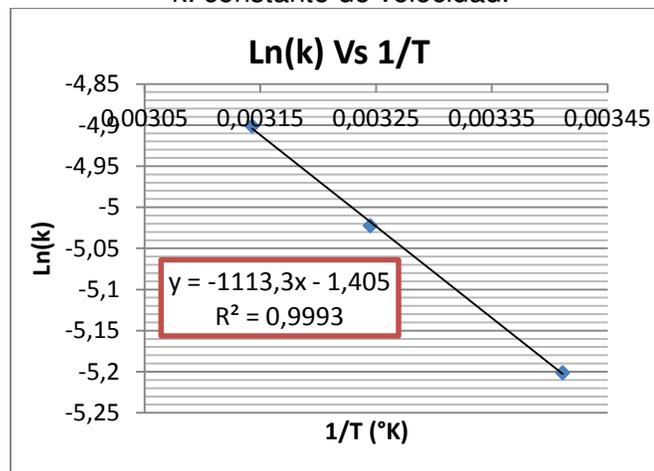
- Gráficas para la estimación de la vida útil: Ln(k) Vs 1/T



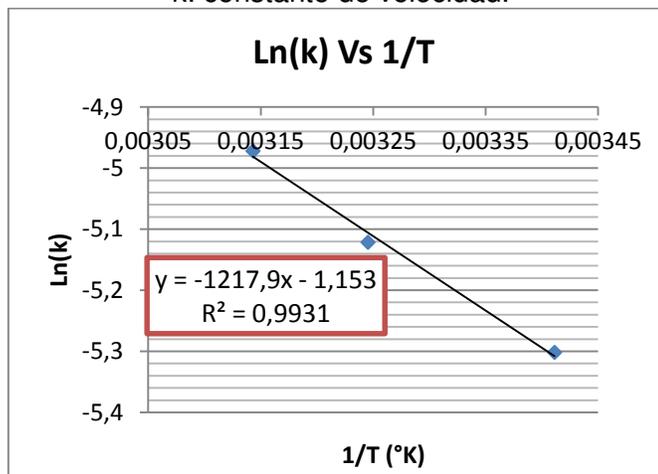
Gráfica para el tratamiento sin quitosano. Con 3 temperaturas 20, 35 y 45°C.
k: constante de velocidad.



Gráfica para el tratamiento con quitosano al 0.02%. Con 3 temperaturas 20, 35 y 45°C.
 k: constante de velocidad.



Gráfica para el tratamiento con quitosano al 0.03%. Con 3 temperaturas 20, 35 y 45°C.
 k: constante de velocidad.



Gráfica para el tratamiento con sorbato al 0.005%. Con 3 temperaturas 20, 35 y 45°C. k: constante de velocidad.

ANEXO N°8



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos



INFORME DE ENSAYOS

N° 007535-2017

SOLICITANTE : CHAVESTA AYASTA AIDA VICTORIA
DIRECCIÓN LEGAL : MZ. 130 LT 10 GRUPO 15 - HUASCAR
 RUC : 47201432 Teléfono : 991520294
PRODUCTO : BEBIDA NO GASIFICADA TIPO EMOLIENTE
NÚMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA : S.I.
CANTIDAD RECIBIDA : 1048,9 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M.
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, la muestra ingresa en frasco de vidrio sellado.
SOLICITUD DE SERVICIOS : S/S N°EN- 004479 -2017
REFERENCIA : PERSONAL
FECHA DE RECEPCIÓN : 24/08/2017
ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO / QUÍMICO
PERÍODO DE CUSTODIA : 1 Mes, a partir de la fecha de recepción.

RESULTADOS:

ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1.- Cenizas Totales (g/100 ml de muestra original)	0,1	0,089	0,093
2.- Grasa Cruda(g/100 ml de muestra original)	0,0	0,02	0,02
3.- Humedad (g/100 ml de muestra original)	92,1	92,09	92,08
4.- Proteína Cruda (g/100 ml de muestra original)(Factor: 6,25)	0,1	0,13	0,12
5.- Carbohidratos(g/100 ml de muestra original)	7,7	---	---
6.- Energía Total(Kcal/100 g de muestra original)	31,2	---	---
7.- % Kcal. proveniente de Carbohidratos	98,7	---	---
8.- % Kcal. proveniente de Grasa	0,0	---	---
9.- % Kcal. proveniente de Proteínas	1,3	---	---

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

- 1.- AOAC 950.14 Cap. 29, Pág. 8, 20th Edition 2016
- 2.- AOAC 905.02 Cap. 33, Pág. 5, 20th Edition 2016
- 3.- AOAC 925.45 Cap. 44, Pág. 1, 20th Edition 2016
- 4.- AOAC 920.152 Cap. 37, Pág.10, 20th Edition 2016
- 5.- Por Diferencia MS-INN Collazos 1993
- 6.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 7.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 8.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993
- 9.- Por Cálculo MS-INN Collazos 1993

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 24/08/2017 Al 04/09/2017.

ADVERTENCIA:

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Válido para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.
- 4.- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS-UNALM

La Molina, 4 de Setiembre de 2017

Ing. Mg. Sc. Cecilia Alegría Arnedo
DIRECTORA TÉCNICA

Av. La Molina 1207 (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú
 Telf.: (511) 3495640 - 3492507 Fax: (511) 3495794

E-mail: mktg@lamolina.edu.pe - Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal - la molina calidad total

ANEXO 9: TAMIZAJE FITOQUÍMICO O MARCHA FITOQUÍMICA

La prueba fitoquímica se realizó mediante la prueba de identificación de compuestos, descrito por Ciulei (1982).^{72, 73}

Tabla A. Resultados cualitativos de presencia o ausencia de metabolitos secundarios en la bebida tipo emoliente

Nº	PRUEBA O REACCIÓN	DETERMINACIÓN	RESULTADOS (*)
1	Solución de Molish	Carbohidratos	++++
2	Antrona	Azúcares y almidones	++++
3	Fehling A y B	Azúcares reductores (glucosa, xilosa y fructosa)	++++
4	Tricloruro Férrico (FeCl ₃)	Compuestos fenólicos	+
5	Shinoda	Flavonoides	+
6	Rossenger-heim	Terpenos (violeta), catequinas	++
7	Gelatina	Taninos	+
8	Borntrâger	Quinonas	++
9	Lieberman	Lípidos, esteroides	+
10	Ninhidrina	Aminoácidos libres	-
11	Dragendorff	Alcaloides	+
12	Mayer	Alcaloides	++
13	Bertrand	Alcaloides	++
14	Sonnenschein	Alcaloides	+++
15	Hidroxilamina	Aldehidos y cetonas	-
16	Prueba de espuma	Saponinas	-
17	Vainillin – sulfúrico	Lactonas, alcoholes superiores, fenoles esteroides	+++

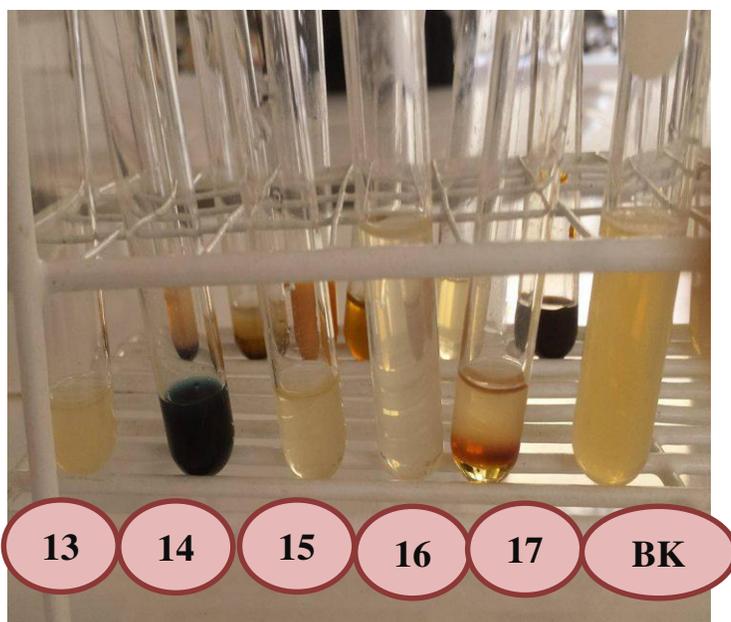
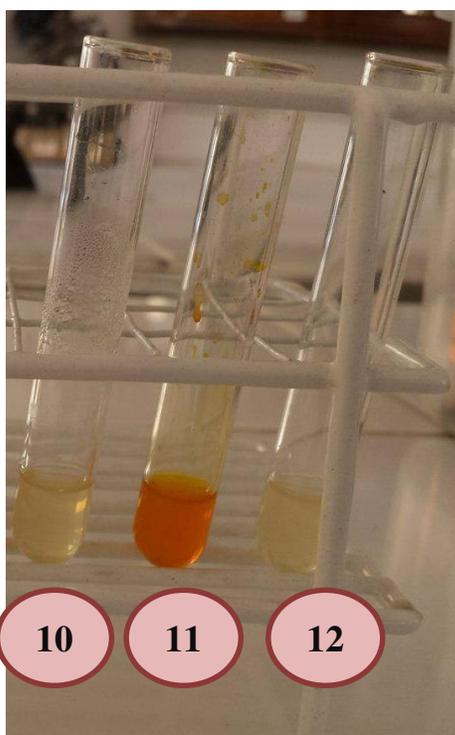
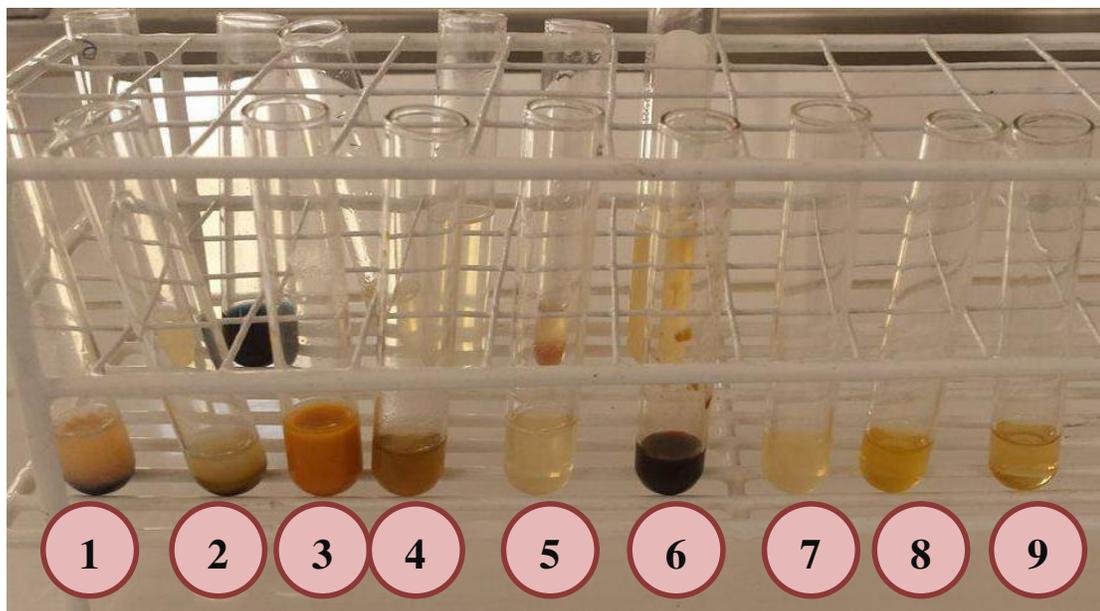
(*)

–: Ausencia / +: Presencia escasa

++: Presencia moderada

+++ : Presencia relativamente abundante

++++: Presencia muy abundante



Resultados del tamizaje fitoquímico. La numeración se encuentra según la tabla A.

El tamizaje fitoquímico identificó la presencia de los siguientes metabolitos secundarios en la bebida tipo emoliente (tabla A): glúcidos, azúcares y almidones, compuestos fenólicos: flavonoides, terpenos, taninos, quinonas, alcaloides, lactonas y lípidos. Propios de las especies vegetales que presenta, entre ellas: linaza, cola de caballo, cebada.