UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

DESARROLLO DE UN BIOCONSERVANTE A BASE DE EUGENOL COMO SUSTITUTO DE BENZOATO DE SODIO EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) PROCESADO

PRESENTADO POR:

BRYAN EDUARDO PINTO ZELAYA

TESIS



CATACAMAS, OLANCHO **HONDURAS, C.A**

MAYO, 2018

DESARROLLO DE UN BIOCONSERVANTE A BASE DE EUGENOL COMO SUSTITUTO DE BENZOATO DE SODIO EN FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) PROCESADO

POR;

BRYAN EDUARDO PINTO ZELAYA

JHUNIOR ABRAHAN MARCÍA, M.Sc.

Asesor Principal

TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE

LICENCIADO EN TECNOLOGIA ALIMENTARIA

CATACAMAS, OLANCHO HONDURAS, C.A.

MAYO, 2018

COMISIÓN INTERVENTORA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
COORDINACIÓN CARRERA TECNOLOGÍA ALIMENTARIA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE

PRACTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Reunidos en el Laboratorio de los Pueblos Indígenas de la Universidad Nacional de Agricultura: **M.Sc. JHUNIOR ABRAHAN MARCIA FUENTES, Ing. FANNY ALEYDA MARADIAGA CARRANZA, Lic. KATY MARCELA CASTELLANOS REYES,** Miembros del Jurado Examinador de Trabajos de P.P.S.

El estudiante **BRYAN EDUARDO PINTO ZELAYA** del IV Año de la Carrera de Tecnología Alimentaria presentó su informe.

"DESARROLLO DE UN BIOCONSERVANTE A BASE DE EUGENOL COMO SUSTITUTO DE BENZOATO DE SODIO EN FRIJOL (Phaseolus vulgaris L.) PROCESADO."

El cual, a criterio de los examinadores, Aprobó este requisito para optar al título de Licenciado en Tecnología Alimentaria.

Dado en la ciudad de Catacamas, Olancho, a los dieciséis días del mes de mayo del año dos mil dieciocho.

M.Sc. JHUNIOR ABRAHAN MARCIA FUENTES
Asesor Principal

Ing. FANNY ALEYDA MARADIAGA CARRANZA
Asesor Auxiliar

Lic. KATY MARCELA CASTELLANOS REYES
Asesor Auxiliar

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO:

Por darme la oportunidad, la fuerza, el valor para culminar esta etapa de mi vida que sin su gracia y tu favor no hubiera podido lograr, sabiendo que sin su apoyo no hubiese llegado a este punto en donde hoy soy salgo más que vencedor.

A MI MADRE:

MARTA ZELAYA LEMUS. Es todo para usted mami, este logro es gracias a su apoyo tanto económico como emocional, ya que sin su esfuerzo, oraciones y palabras de aliento no hubiera llegado a cumplir esta meta.

A MIS HERMANOS:

EDWIN JOSUE PINTO ZELAYA, OBED RIGOBERTO PINTO ZELAYA. Por brindarme su apoyo, llenándome de valor para afrontar este reto día a día.

A MI NOVIA.

ANA MELISSA MAIRENA HERNANDEZ. Por brindarme su apoyo incondicional en el cual vivimos momentos buenos y malos. Por estar siempre a mi lado alentándome a seguir adelante sin parar, ya que los mejores momentos de esta etapa fueron a lado tuyo.

A MIS AMIGOS.

ASDRUBAL ZAMBRANO, NESTOR SANTOS, **HECTOR MURILLO, MARYURIT RAMIREZ,** Por haber compartido tantos recuerdos, emociones, y ser como hermanos en momentos de necesidad, no nos une la sangre, pero si la amistad y los recuerdos.

AGRADECIMIENTOS

AL CREADOR DE LOS CIELOS Y LA TIERRA.

Por iluminar mi vida, ya que todo lo que sucede, sucede gracia a su voluntad y si llegue hasta este punto es porque ya lo tenía planeado para mi vida.

Al M.Sc. Jhunior Abrahan Marcía.

Por darme su amistad, brindándome apoyo analítico y direccional en este trabajo y a lo largo de mi carrera.

Al M.Sc. Mildre Eleazar Turcios

Por darme su amistad, consejo y apoyo a lo largo de mi vida universitaria.

A MI ALMA MATER

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA** por formar mi carácter y darme las herramientas para poder superar cualquier reto o circunstancia que se me presente.

A MIS AMIGOS

Héctor Murillo, Axell Streber, Ángel Suazo Maryurit Ramirez Carlos Mejía Manuel Molina Carlos Galo Erlin Tabora Por estar en buenos y mejores momentos de mi vida.

CONTENIDO

Pág.

ACTA DE SUSTENTACIÓN ..... **i**

DEDICATORIA ..... **ii**

AGRADECIMIENTOS ..... **iii**

LISTA DE TABLAS ..... **vi**

LISTA DE FIGURAS ..... **vii**

LISTA DE ANEXOS ..... **viii**

RESUMEN ..... **ix**

I. INTRODUCCIÓN. **1**

II. OBJETIVOS **2**

2.1 General: 2

2.2 Objetivos específicos: 2

III. MARCO TEÓRICO. **3**

3.1. Antecedentes del uso del eugenol como conservante 3

3.2 Deterioró de los alimentos 5

3.2.1 El benzoato de sodio como conservante químico para alimentos 6

3.3 Cultivo de frijol 7

3.3.1 Tipo frijol 7

3.4 Frijoles procesados 7

3.5 Propiedades sensoriales del frijol 8

3.6 Vida útil de alimentos 9

3.7 Análisis físico-químicos 9

3.8 Reglamento Técnico Centroamericano para alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios. RTCA 10

III. MATERIALES Y MÉTODO 12

4.1 Ubicación de la investigación 12

4.2. Materiales y equipo: 13

4.3 Metodología 14

4.4. Análisis de los resultados 16

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 17

5.1. Extracción del eugenol a partir de soluciones hidroalcohólicas 17

5.2. Desarrollo de las formulaciones y selección de la mezcla idónea 17

5.3 Explicación del diseño experimental de la investigación 19

VI. CONCLUSIONES 25

VII. RECOMENDACIONES 26

VIII. BIBLIOGRAFIA 27

Anexo 30

LISTA DE TABLAS.

Pág.

Tabla 1. Materiales y equipo, empleado en la extracción de eugenol 13

Tabla 2. Diseño de mezcla Frijol- Eugenol a partir DESIGN XPERT (D OPTIMUS) 15

Tabla 3. Prueba de extracción con diferentes formulaciones de la solución hidroalcoholica 17

Tabla 4. Formulaciones descartadas previo al estudio sensorial 18

Tabla 5. Reformulación de mezcla y determinación de la aceptación 19

Tabla 6. Prueba de normalidad 20

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianza, estadístico de Levene 20

Tabla 8. Modelo de correlación lineal 21

Tabla 9. Regresión lineal 21

Tabla 10. determinación de la cinética de deterioro 23

LISTA DE FIGURAS

Pág.
Figura 1. Estructura química del eugenol 4
Figura 2. Lugar de la investigación. 12
Figura 3. Respuesta del análisis sensorial de tipo hedónico. 18
Figura 4. Comparación de vida útil entre tratamiento. 22
Figura 5. Orden de reacción de la prueba. 23
Figura 6. Resultados Prueba dúo trio 24

LISTA DE ANEXOS

Pág.
Anexo 1. Diseño de formulaciones 31
Anexo 2. Control fisicoquímico de las muestras 32
Anexo 3. Ficha análisis sensorial prueba hedónica de 5 puntos para 5 formulaciones 33
Anexo 4. Ficha análisis sensorial de tipo analítico descriptivo 34
Anexo 5. Ficha para prueba dúo trio 35
Anexo 6. Ficha para prueba hedónica de la formulación al 5% de eugenol 35
Anexo 7. Desarrollo de las pruebas sensoriales 36
Anexo 8. Diseño completo de vida útil 37

Pinto Zelaya, B. (2018) Desarrollo de un bioconservante a base de Eugenol como sustituto de Benzoato de Sodio en frijol *(Phaseolus vulgaris L.)* procesado. Tesis Licenciatura en Tecnología Alimentaria, Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho, Honduras. 46 pp.

RESUMEN

Algunas sustancias en su composición presentan agentes que inhiben el crecimiento de microorganismos, entre ellas se encuentra el eugenol que es un polifenol presente hasta un 89% en el aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum).* El objetivo de esta investigación consistió en desarrollar un bioconservante a base de eugenol como sustituto del benzoato de sodio, en frijol (*Phaseolus vulgaris*) procesado. La extracción del eugenol consistió a partir del macerado de 250 g de clavo, inmerso en 650 ml de una solución hidro alcohólica al 80%, durante 72. A partir de decantación se extrajo concentraciones de eugenol para el desarrollo de 13 unidades experimentales, donde las primeras nueves formulaciones fueron por debajo del 1% mostraron deterioro en las primeras 18 horas, el resto de formulaciones se sometió a un análisis sensorial de tipo hedónico a escala de laboratorio con 25 jueces de tipo afectivo que mostraron discrepancia o rechazo a las muestras entre 10 y 40% de eugenol. Posteriormente se reformulo 5 nuevas unidades experimentales, que fueron sometidas a pruebas descriptivas, obteniendo aceptación entre las muestras. Sin embargo, el eugenol mostro un efecto conservante significativo en las concentraciones de 4 y 5%, pero, presento deterioro en concentraciones del 1 al 3%, al igual que la prueba control con benzoato de sodio a 0.1%. Con un 95% de confianza, se determinó que la vida útil de los frijoles procesados fue significativamente mayor con el uso de eugenol, en relación al benzoato de sodio. Obteniendo una vida media de 78 días a temperatura de almacenamiento de 30^0C.

Palabras clave: conservación, eugenol, benzoato de sodio, vida media

I. INTRODUCCIÓN.

El eugenol es un compuesto natural extraído del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) que se emplea empíricamente como conservante orgánico, el cual puede ser adicionado en los alimentos procesados como bioconservante, con el propósito de alargar su vida útil, sin que pierda las características físico-químicas y sensoriales. El aceite de clavo de olor contiene el 80% de eugenol, una molécula biológica que tiene propiedades antioxidantes, fungicidas y bactericidas, que asegura una buena protección contra la oxidación y las enfermedades de conservación de frutas y hortalizas almacenadas (Attraction, 2017).

Actualmente los consumidores muestran una especial preferencia por alimentos de calidad, de fácil preparación, inocuos y libres de agentes químicos, pero a la vez que tengan una mayor vida útil. Esto implica que las tecnologías de conservación de alimentos deben afrontar nuevos retos, para lo cual se han de explorar metodologías alternativas. Entre estas metodologías existe la bioconservación que utiliza componentes naturales que se añaden al alimento. Por lo anterior esta investigación se centra en desarrollar un bioconservante a base de eugenol como sustituto del benzoato de sodio, en frijol (*Phaseolus vulgaris*) procesado, para prolongar su vida útil, con buen a aceptación sensorial y nutricional.

II. OBJETIVOS

2.1 General:

Desarrollar un bioconservante a base de eugenol como sustituto del benzoato de sodio, en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) procesado.

2.2 Objetivos específicos:

- Realizar extracción del eugenol a partir de clavo de olor, mediante soluciones hidroalcohólicas.

- Desarrollar formulaciones de frijol procesado aplicando eugenol como conservante, mediante diseño de mezclas.

- Determinar la aceptabilidad organoléptica de las mezclas, a partir del análisis sensorial empleando pruebas hedónicas.

- Determinar la vida útil del frijol procesado empleando eugenol como conservante, a partir de cinética química

III. MARCO TEÓRICO.

3.1. Antecedentes del uso del eugenol como conservante

La velocidad de deterioro de los alimentos no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la combinación química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. Es por ello que el principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas sensoriales, por lo cual el uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que afecte negativamente a estas características (Ximhai, 2011).

López (2000); menciona que con la evolución de la ciencia de los alimentos han surgido muchos compuestos químicos con actividad antimicrobiana, principalmente en el siglo XX que se dieron grandes avances en la conservación de alimentos por esta vía, motivo que origino las revisiones de daños a la salud que cada agente podría causar. Estos difieren según el país, ya que su uso está restringido por las leyes alimentarias de cada nación (RTCA, 2009).

Los antimicrobianos son compuestos químicos añadidos o presentes en los alimentos, que retardan el crecimiento microbiano e inactivan a los microorganismos, por lo tanto, detienen el deterioro de la calidad y mantienen la inocuidad del alimento. La producción de antimicrobianos genera una fuente de ingresos económicos importante a nivel mundial. Tan solo en los Estados Unidos en 1991 se consumieron 37.5 millones de kilogramos de conservantes, y esta cifra ha aumentado año con año desde entonces. Se estima que a nivel

mundial, el consumo de antimicrobianos aumenta 4.1% anualmente, siendo los más utilizados los sorbatos, los propionatos y los benzoatos (Ximhai, 2011).

Las costumbres de consumo están variando en los últimos años y cada vez existe una mayor demanda de productos naturales, saludables y libres de aditivos químicos. Teniendo en cuenta esto los aceites esenciales y extractos de plantas se perfilan como una de las soluciones más prometedoras de cara al futuro por su potencial uso como antimicrobianos y antioxidantes que demuestran recientemente su eficacia y utilización en la industria agroalimentaria (Barda, 2006)

Los aceites esenciales se definen como la mezcla de sustancias volátiles insolubles en agua, destiladas o extraídas a partir de material vegetal (flores, brotes, semillas, hojas, ramas, cortezas, hierbas, madera, frutas y raíces de vegetales) (Acín, 2011).

Según Barda (2006); existen plantas aromáticas de las cuales se pueden extraer antioxidantes con fines antimicóticos, entre ellas se encuentre el tomillo, clavo de olor, canela, ajo y romero. Destacando la presencia de eugenol que proviene del aceite esencial del clavo de olor, nuez moscada y canela, con fórmula química $C_{10}H_{12}O_2$. (figura 1) El Eugenol es un miembro de los compuestos de la clase alilbencenos, es insoluble en agua y es soluble en solventes orgánicos. Además de su función como antimicrobiano también es utilizado en perfumería, en la fabricación de vainilla, y como anestésico en odontología (Acofarma, 2009).

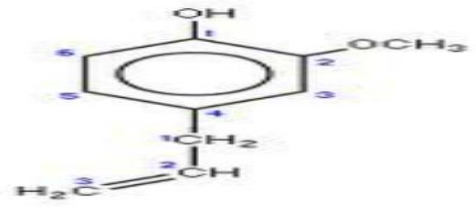


Figura 1. Estructura química del eugenol

Acofarma, 2009.

Clavo de olor (Syzygium aromaticum)

El clavo de olor, se entiende como el botón floral maduro y desecado del *Syzygium aromaticum.* El clavo debe satisfacer las siguientes exigencias, no debe contener más del cinco por ciento de tallito, pedúnculo no acusara más del 15% de humedad, ni siete por ciento de cenizas.

El clavo de olor presenta concentraciones de hasta el 18% de aceite esencial, que se puede encontrar en sus capullos. Aproximadamente el 89% del aceite esencial de clavo es eugenol y del 5% a 15% es acetato de eugenol y β-cariofileno. Otro compuesto importante que se encuentra en el aceite esencial de clavo en concentraciones de hasta 2.1% es α-humulen. Otros compuestos volátiles que se hayan presentes en concentraciones más bajas en el aceite esencial de clavo de olor son el β-pineno, limoneno, farnesol, benzaldehído, 2-heptanona y etil hexanoato (Flores, 2018).

El aceite esencial de clavo de olor se reconoce generalmente como sustancia segura cuando se consume en concentraciones inferiores a 1500 mg / kg. Por otro lado, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció que la cantidad diaria aceptable de clavo de olor por día es de 2.5 mg / kg de peso en humanos (Flores, 2018).

3.2 Deterioró de los alimentos

Según López (2000); la principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos), que tienen implicaciones económicas evidentes, en los fabricantes, distribuidores y consumidores. El uso de conservantes es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente, que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis, generando rechazo sensorial, surgiendo otras opciones, como agentes conservantes de origen natural (Acín, 2011)

3.2.1 El benzoato de sodio como conservante químico para alimentos

El benzoato de sodio es un conservante sintético que obtiene industrialmente por reacción de hidróxido de sodio (E524) con ácido Benzoico (E210). Se utiliza para prevenir bacterias, levaduras y otros tipos de hongos. En este aditivo la concentración es mucho más elevada que la que contiene algunos vegetales de forma natural como el clavo de olor, canela, ciruelas, arándanos y otros frutos rojos (CODEX, 2014).

Se emplea en refrescos, gaseosas, bebidas tónicas, sodas, bebidas energéticas, zumos, jugos, cerveza sin alcohol, licores, vinos, mayonesa, kétchup, salsa picante, helados, gelatinas, frutas en almíbar, pastelería, tortilla, gazpachos, aceitunas, mariscos, conserva de pescado y caviar es permitido hasta un 0.1% del mosto total (Organica, 2009)

Entre los efectos secundarios, la dosis baja puede producir asma, urticaria y reacciones alérgicas por el ácido salicílico, incluso puede provocar intolerancia. En grandes dosis mezclado con ácido ascórbico E300 (vitamina c) puede formar benceno, un hidrocarburo cancerígeno. Si se mezcla con sulfito o con algunos colorantes artificiales se puede provocar hiperactividad y otros problemas neurológicos. Su acumulación en el organismo podría favorecer a largo plazo la aparición de tumores (CODEX, 2014).

Es increíble que a pesar de que existen más de una docena de estudios hechos en las pasadas tres décadas que evidencian los peligros del empleo del benzoato de sodio como conservante, estos aún sean ignorados por el consumidor y hasta por la misma Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), lo más alarmante del caso es el hecho de que estos ingredientes estén presentes en un sinnúmero de alimentos para niños (Organica, 2009).

El benzoato de sodio es un bacteriostático y fungistático que se agrega junto al ácido cítrico para preservar por largo tiempo alimentos líquidos comúnmente. Ambos forman la benzina, de un cancerígeno potente. En otros alimentos se haya muchas veces junto a colorantes como

rojo número 40 ó amarillo número 5. Un estudio británico publicado en "El Lancet" demostró claramente como niños mostraron problemas de hiperactividad, retención y comportamiento cuando tomaron bebidas con estos ingredientes. La presencia de estos ingredientes no se limita a alimentos "chatarra o junk", también se encuentran en jugos de frutas naturales, suplementos vitamínicos y hasta en bebidas nutricionales (CODEX, 2014)

3.3 Cultivo de frijol

El frijol es uno de los cultivos más importantes en la dieta diaria del hondureño, es utilizado exclusivamente para consumo humano, por su alto contenido en hierro, vitaminas y minerales, siendo así un eslabón importante de la seguridad alimentaria en el país. El cultivo del frijol ocupa el segundo lugar después del maíz en los granos básicos, en términos de superficie cosechada y volumen de producción (USDA, 2015).

3.3.1 Tipo frijol

En Honduras, por cultura se consume frijol rojo; situación similar se presenta en Nicaragua y El Salvador, a diferencia de Guatemala y Costa Rica que prefieren consumir frijol negro que representa la fuente más barata de proteínas y calorías, especialmente en familias de escasos recursos (Ríos, 2001).

Según USDA (2015); las variedades de frijol que se producen en Honduras, son aquellas que cumplen con la demanda y entre estas tenemos algunas variedades mejoradas como: Tío Canela 75, Don Silvio, DICTA 113, DICTA 122, además contamos con variedades criollas como: Catrachita, Cuarenteño, Cecenteño, Vaina Blanca, Vaina Roja, Zamoranito, Paraisito y otras. Las variedades mayormente empleadas por los agricultores son las criollas, debido a que su precio es inferior a las mejoradas, esta semilla es obtenida de la cosecha anterior, y no requieren de un manejo tecnificado para su producción (Ríos, 2001)

3.4 Frijoles procesados

La industrialización del frijol podría constituir una manera indirecta de incrementar su cultivo, a través de un incentivo económico más estable. Además, el producto procesado tendría las ventajas de dar mayor estabilidad, disponibilidad constante a través de todo el año, más uniformidad, más fácil preparación, y podría ser un vehículo para otros nutrientes (Espinoza, 2016).

3.5 Propiedades sensoriales del frijol

El continuo adelanto en la tecnología de alimentos ha permitido desarrollar diferentes métodos de preparación de frijoles enteros pre cocidos. La mayor parte de la investigación ha sido enfocada a la disminución del tiempo de cocción y a la vez evitar cambios adversos en las características físicas y sensoriales del producto final, como son la textura, color, olor y sabor (Vanegas, 2016).

Es el análisis estrictamente normalizado de los alimentos que se realiza con los sentidos, se emplea la palabra "normalizado", porque implica el uso de técnicas específicas perfectamente estandarizadas, con el objeto de disminuir la subjetividad en las respuestas. Las empresas lo usan para el control de calidad de sus productos, ya sea durante la etapa del desarrollo o durante el proceso de rutina, por ejemplo, si cambian un insumo es necesario verificar si esto afecta las características sensoriales del producto y por ende su calidad, ese es un buen momento para hacer un análisis y cotejar entre el producto anterior y el nuevo (Barda, 2006).

Todos los alimentos tienen características particulares que determinan su calidad y se relacionan con el grado de cumplimiento de las expectativas del consumidor que está orientada con características físicas, químicas y biológicas. Los consumidores son los que tienen la última palabra al momento de la compra. Siempre deben controlar que el alimento no luzca sospechoso, observar que esté intacto, que no esté vencido, hinchado, que esté en buen estado, siendo su aspecto el de un producto fresco, limpio y de buena calidad (Vanegas, 2016).

3.6 Vida útil de alimentos

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas, y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico. Una forma en que los consumidores pueden conocer la vida útil del alimento que están adquiriendo, es buscando en la etiqueta del producto la fecha de caducidad o la fecha de consumo preferente; ambas indican el fin de la vida útil del alimento (Inunguaray, 2012).

Según Díaz (2009); la vida útil de un alimento se puede definir como el tiempo que transcurre entre la producción, envasado y consumo del producto, manteniendo su calidad mínima sin llegar a la objetabilidad que es el punto en el cual se vuelve inaceptable bajo determinadas condiciones ambientales y reguladas por un ente que responda al Codex Alimentarius. La finalización de la vida útil de alimentos puede deberse a que el consumo implique un riesgo para la salud del consumidor, o porque las propiedades sensoriales o física-químicas se han deteriorado hasta hacer que el alimento sea rechazado (Hernandez, 2002).

La Fecha de caducidad es la fecha a partir de la cual un producto no se debe ingerir, con el fin de evitar problemas sanitarios (Escandell y Polo, 2016). Fecha de consumo preferente es la fecha que indica que el contenido ya no ofrece toda su calidad al consumidor (Inunguaray, 2012).

3.7 Análisis físico-químicos

El análisis de alimentos es la disciplina que se ocupa del desarrollo, uso y estudio de los procedimientos analíticos para evaluar las características de alimentos y de sus componentes. Esta información es crítica para el entendimiento de los factores que determinan las

propiedades de los alimentos, así como la habilidad para producir alimentos que sean consistentemente seguros, nutritivos y deseables para el consumidor (PAPIME, 2009).

Existen un número considerable de técnicas analíticas para determinar una propiedad particular del alimento. De ahí que es necesario seleccionar la más apropiada para la aplicación específica. La técnica seleccionada dependerá de la propiedad que sea medida, del tipo de alimento a analizar y la razón de llevar a cabo el análisis (Zumbado, 2002).

El análisis físico-químico implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista físico y químico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir, cuales sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, hidratos de carbono, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, entre otros) y en qué cantidades estos compuestos se encuentran. El análisis físico-químico brinda poderosas herramientas que permiten caracterizar un alimento desde el punto de vista nutricional y toxicológico (Zumbado, 2006).

3.8 Reglamento Técnico Centroamericano para alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios. RTCA

3.8.1 Conservadores

Se entiende por aditivos conservadores o protectores, los agregados a los alimentos con la finalidad de que actúen como agentes antimicóticos, antimicrobiano y antioxidante a fin de impedir o retardar su alteración. Los cuales tiene una serie de requerimientos para ser considerados conservadores; no deben tener más de tres partes por millón de arsénico, y no debe contener más de 50 partes por millón de plomo, ni trazas determinada de elementos peligrosos desde el punto de vista toxicológico, y su uso no debe exceder el 0.1% del mosto (RTCA, 2009)

3.8.3 benzoato de sodio

También conocido como benzoato de sosa tiene una apariencia blanca y cristalina o granulada, soluble en agua, solo es efectivo en condiciones acidas (pH < 3.6) por lo tanto su uso es en bebidas carbonatadas, vinagres y conservas, actúa básicamente frente a hongos levaduras, microorganismos y bacterias. Su máximo permitido no debe exceder el 0.1% del mosto total (Moreno, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODO

4.1 Ubicación de la investigación

La extensión de Catacamas es de 7.228,5 km², la ciudad de Catacamas está situada entre los (14°; 54', 04"), latitud Norte y (85°; 55', 31"), del Meridiano de Greenwich. El municipio limita al norte con Gualaco, San Esteban y Dulce Nombre del Culmí; al sur con Patuca y Trojes, El Paraíso; al este, Dulce Nombre de Culmí y el departamento de Jinotega, Nicaragua; y al oeste con Santa María de El Real, San Francisco de Becerra y Juticalpa (COFINSA, 2005).

Fuente: Google Maps, (2017).



Figura 2. Lugar de la investigación.

4.2. Materiales y equipo:

Para elaborar el bioconservante a base de eugenol, se empleó los siguientes materiales y equipos (Tabla 1).

Tabla 1. Materiales y equipo, empleado en la extracción de eugenol

Materiales y equipo	Cantidad	Descripción
Balanza Analítica	2	XB220A, con capacidad para 1 kg
Licuadora	1	Oster, semi industrial con capacidad para 10 L
Tabla de picar	1	Victorinox, con capacidad para 5 kg
Olla industriales	4	Pórtico, con capacidad para 10 L
Estufa	1	Oster, eléctrica de 4 hornillas
Termómetro	2	Upate internacional, a doble escala
Cuchillo	3	Victorinox
Cucharas	10	Stantanley
pH metro digital	1	Preslutron, escala de 0-14
Coladores	5	Pres
Recipientes	30	Indutriality, con capacidad de 1 kg
Tapones	30	Indutriality
Refractómetro	1	Boeco, escala de 0-32 ^{0}Brix
Viscosimetro	1	PCE-RVI-1 rango de 1 a 100000 cP
Guantes	20	Raisen
Mascarilla	5	Tela, desechable
Gabacha	2	Tela
Botas de hule	2	Industrial, color blanco
Bolsas plásticas	50	ZiploC
Mesas	1	Portico
Selladora	1	Inducción, de tipo manual
Redecilla	2	Tela

4.3 Metodología

Para el desarrollo de esta investigación, se empleó la metodología descriptiva-cuantitativa de orden transversal a partir de investigación in situ y de laboratorio, donde se hizo uso de cinética química, análisis físico-química y análisis sensorial, para determinar el efecto conservante del eugenol en frijoles procesados. La duración de la investigación contemplo un periodo de ocho meses que corresponden al mes de octubre a mayo, y para optimizar los hallazgos se desarrolló en etapas.

4.3.1 diseño de investigación.

La investigación se realizó con un diseño factorial 2^3 con dos niveles benzoato y eugenol, tres factores tiempo de prueba, pH de prueba y solidos de prueba con tres replicas para un total de 13 unidades experimentales.

Etapa 1. Extracción del eugenol por medio de solución hidroalcohólica

Se desarrollaron diferentes ensayos para la extracción del eugenol a partir de soluciones hidroalcohólicas. Partiendo del macerado de 1 kg de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), segmentándose en 4 muestras de 250 g cada una, a las cuales se les adiciono 650 ml de soluciones hidroalcohólica al 80%, 85%, 90% y 95%. Las cuales se desarrollaron para determinar cual era la mejor formulación para la extraccion Las mezclas se dejaron en reposo durante 72 h a temperatura del medio $30^0C \pm 3^0C$ en beacker de 1000 ml, cubiertos con papel aluminio. Posteriormente se extrajo el eugenol mediante decantación y se inoculo en las diferentes unidades experimentales.

Etapa 2. Selección de la mezcla idónea

Se desarrollaron 13 corridas experimentales a partir de la mezcla frijol-eugenol, para determinar su capacidad conservante en frijoles cocidos. Para ello se utilizó el programa

DESING XPERT, versión 6.0 utilizando un sistema de optimización para el proceso al 99% de mezcla (D-OPTIMUS) siendo constante para todas las formulaciones el empleo de sal al 1%. La variable respuesta para esta prueba fue de tipo hedónico (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño de mezcla Frijol- Eugenol a partir DESIGN XPERT (D OPTIMUS)

Run	**Block**	**Component 1: Frijol**	**Component 2: Eugenol**	**Response: Pruebas hedónicas**
1	Block 1	0.97%	0.02%	
2	Block 1	0.9%	0.09%	
3	Block 1	0.91%	0.08%	
4	Block 1	0.95%	0.04%	
5	Block 1	0.92%	0.07%	
6	Block 1	0.98%	0.01%	
7	Block 1	0.96%	0.03%	
8	Block 1	0.94%	0.05%	
9	Block 1	0.93%	0.06%	
10	Block 1	0.59%	0.40%	
11	Block 1	0.79%	0.20%	
12	Block 1	0.69%	0.30%	
13	Block 1	0.89%	0.10%	

Etapa 3. Evaluación de vida útil del producto

A la muestra seleccionada en el análisis sensorial como la más aceptada (Anexo 2), se le desarrolló la vida útil del producto a partir de cinética química, para ello se tomó muestras de 100g de la corrida por triplicado se mantuvo a temperatura aproximada de 30°C ± 3°C en manipulación constante. Desarrollándose por triplicado análisis físico-químico y sensorial desde el día 0 al 60. Como variables respuesta se tomó pH y solidos solubles y se procedió a partir de modelos matemáticos determinar el orden de la reacción, cálculo de la cinética de deterioro y la vida media (Anexo 8). Posteriormente se comparó la calidad conservante del eugenol sobre frijoles procesado a partir de análisis sensorial con la prueba dúo trio.

Etapa 4. Análisis sensorial Dúo-trío

A partir de la técnica Dúo-Trio a partir de 25 jueces de tipo afectivo no entrenados (Manfugas, 2014) se desarrolló una prueba de comparación múltiple mediante el empleo de tres muestras, donde unas de ellas fue identificada como referencia o control y dos muestras debidamente codificada, de las cuales una necesariamente tiene que ser igual a la referencia (Anexo 5).

4.4. Análisis de los resultados

Se empleó estadísticas descriptivas, estadígrafos, ANOVA, pruebas de correlación, regresión y se aplicó la prueba de U de Man Whitney para pruebas no paramétricas a partir del programa IBM, SPSS, 24.0.2016. Para comparar el efecto conservante del eugenol sobre la vida útil del frijol procesado versus el efecto del benzoato de sodio como conservante en este producto.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Extracción del eugenol a partir de soluciones hidroalcohólicas

La tabla 3, muestra que la solución hidroalcohólica al 80% obtuvo la mejor extracción del eugenol, posterior a las 72 h de inmersión del clavo de olor en esta solución. Se controló el pH y la concentración de sólidos, obteniendo valores de 31 ^{0}Bx y 4.6 pH respectivamente. La coloración obtenida a partir de esta relación fue más estable e intensa y presentó menor sedimentación de clavo de olor, favoreciendo al proceso de extracción de eugenol mediante decantación.

Tabla 3. Prueba de extracción con diferentes formulaciones de la solución hidroalcoholica

Cantidad de clavo de olor	**% Alcohol**	**% Agua**	**Valor pH**	**Valor °Brix**
250g	80	20	4.6	31
250g	85	15	4.6	36
250g	90	10	4.7	39
250g	95	5	4.9	45

5.2. Desarrollo de las formulaciones y selección de la mezcla idónea

La tabla 4, muestra las diferentes formulaciones empleadas en el desarrollo de las mezclas entre frijol y eugenol. Los valores de uso de concentraciones de eugenol por debajo del 1%, se descartaron a las 18 h después de su inoculación, debido a la presencia de reacciones de deterioro químicas y sensoriales. Afirmando lo concluido por Flores (2018); que indica que

los valores por debajo del 1% de eugenol no muestran inhibición del crecimiento microbiano, manifestando mejor respuesta de crecimiento microbiano en la dosis de 0.1 al 0.9%.

Tabla 4. Formulaciones descartadas previo al estudio sensorial

Formulaciones	Eugenol	Descarte por deterioro.
1	0.01	18 h
2	0.02	18 h
3	0.03	18 h
4	0.04	18 h
5	0.05	18 h
6	0.06	18 h
7	0.07	18 h
8	0.08	18 h
9	0.09	18 h

Las formulaciones que no se descartaron se le aplico el análisis sensorial estas fueron 10%, 20%, 30% y 40% se explica en el grafico posterior.

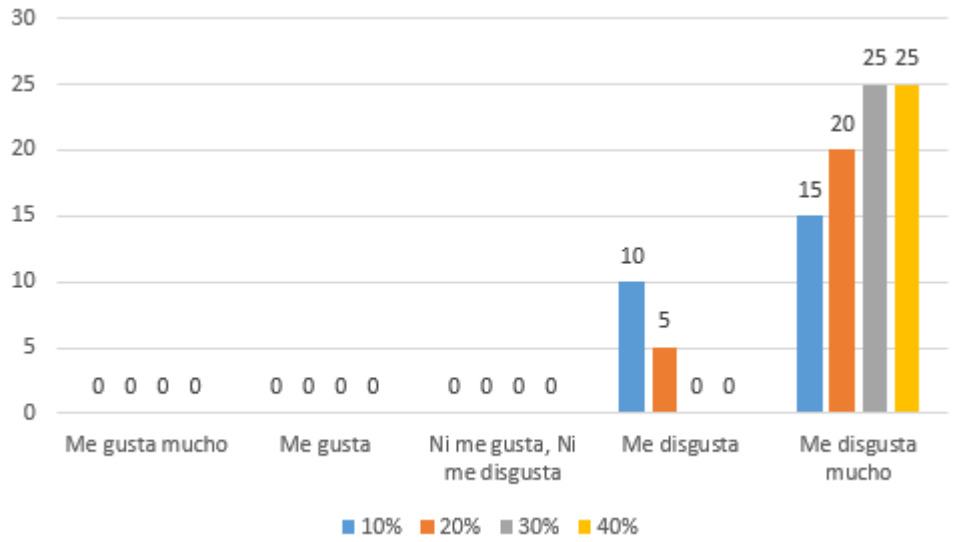


Figura 3. Respuesta del análisis sensorial de tipo hedónico.

La figura 3, muestra la respuesta del análisis sensorial de tipo hedónico, determinando que las formulaciones con eugenol al 10% (10 jueces muestran disgusto, 15 disgusto mucho), al 20% (5 jueces muestran disgusto y 20 disgusta mucho), al 30% y 40% la totalidad de los jueces determinaron que le disgusto mucho, por lo que fueron descartadas y se reformulo nuevas mezclas.

La tabla 5, muestra las reformulaciones empleadas en la mezcla entre frijol y eugenol del 1% al 5%, para determinar la dosis optima de aplicación según la variable de control físico-química y sensorial. Se determinó mediante análisis sensorial de tipo descriptivo que las formulaciones utilizadas en la prueba no presentan variaciones significativas, por lo que se empleó estas fórmulas para el diseño de la vida útil a partir de tiempo real.

Tabla 5. Reformulación de mezcla y determinación de la aceptación

Formulación	**Eugenol**	**Análisis sensorial prueba hedónica de 5 puntos.**
1	1%	Aceptación
2	2%	Aceptación
3	3%	Aceptación
4	4%	Aceptación
5	5%	Aceptación

5.3 Explicación del diseño experimental de la investigación

Se empleó el diseño experimental de 2^3 tomando como niveles de prueba el benzoato de sodio y el eugenol como conservantes del frijol cocido y como factores se utilizó tiempo de prueba, pH y solidos solubles. La tabla 6, muestra que los valores a partir de la prueba Kolmogorov-Smirnov siguen una distribución normal entre sus niveles respecto al tiempo de prueba ($p > 0.05$), para el caso de pH y solidos solubles en el nivel de benzoato de sodio siguen una distribución normal ($p > 0.05$), sin embargo, el eugenol presenta significancia ($p < 0.05$).

Tabla 6. Prueba de normalidad

Factores de control en prueba	**Tipo de conservante**	**Kolmogorov Smimov**
		Sig.
Tiempo de prueba	Benzoato de sodio	0.200*
	Eugenol	0.200*
pH de prueba	Benzoato de sodio	0.200*
	Eugenol	0.001
Brix de prueba	Benzoato de sodio	0.200*
	Eugenol	0.000

*Este es un límite inferior a la significancia.

Según el estadístico de Levene los factores pH y solidos solubles, entre sus niveles presentaron homocedasticidad ($p > 0.05$), sin embargo, el tiempo de prueba presenta significancia ($p < 0.05$), determinando con un 95% de confianza que el comportamiento del diseño corresponde a pruebas no paramétricas en el caso del eugenol y paramétricas para el benzoato de sodio (Tabla 7).

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianza, estadístico de Levene

Prueba de homogeneidad de varianza		
		Significancia.
Tiempo	Se basa en la media	0.000
pH de prueba	Se basa en la media	0.101
Brix de prueba	Se basa en la media	0.361

La tabla. 8, muestra según la bondad de ajuste (proporción de la varianza) de R^2, con un 73.4 % que la variación de pH, solidos solubles y tiempo de prueba esta explicada por los niveles (benzoato de sodio y eugenol) y el coeficiente de correlación múltiple R (coeficiente de correlación de Person) determino una alta correlación con 0.857 ($\pm 0.7 \leq R < \pm 1$), además sus

varianzas presentan alta significancia (0.00 < p <0.05) favoreciendo el diseño del modelo lineal de prueba.

Tabla 8. Modelo de correlación lineal

Modelo	**R**	**R cuadrado**	**R cuadrado ajustado**	**Error estándar de la estimación**	**Significancia del modelo**	**ANOVA[a] Significancia de la regresión**
3	0.857[c]	0.734	0.722	0.17006	0.000	0.000[d]

c. Predictores: (Constante), Tiempo máximo de prueba, pH de prueba, Brix de prueba

d. Predictores: (Constante), Tiempo máximo de prueba, pH de prueba, Brix de prueba

La tabla 9, muestra el coeficiente correspondiente al constante tipo de conservante que tiene un origen de la recta de regresión de -2.451, con diferentes valores para los factores que determinaron la pendiente de la recta, para el tiempo de prueba de 0.23, para el pH de 0.168 y para solidos solubles de 0.332. Demostrando entre las rectas una relación directa para cada formulada respectivamente:

Y_1 = -2.451 + 0.23 X (Formula de la recta para tipos de conservantes respecto tiempos de prueba)

Y_2 = -2.451 + 0.168 X (Formula de la recta para tipos de conservantes respecto pH)

Y_3 = -2.451 + 0.332 X (Formula de la recta para tipos de conservantes respecto solido solubles).

Tabla 9. Regresión lineal

Coeficientes[a]

Modelo	**Coeficientes no estandarizados**		**Coeficientes estandarizados**	**t**	**Significancia**
	B	**Error estándar**	**Beta**		

(Constante)	-2.451	0.536		-4.570	0.000
Tiempo máximo de prueba.	0.023	0.004	1.325	5.892	0.000
pH de prueba	0.168	0.106	0.404	1.578	0.119
Brix de prueba	0.332	0.040	0.809	8.305	0.000

a. Variable dependiente: Tipo de conservante

5.4. Estudio de vida útil

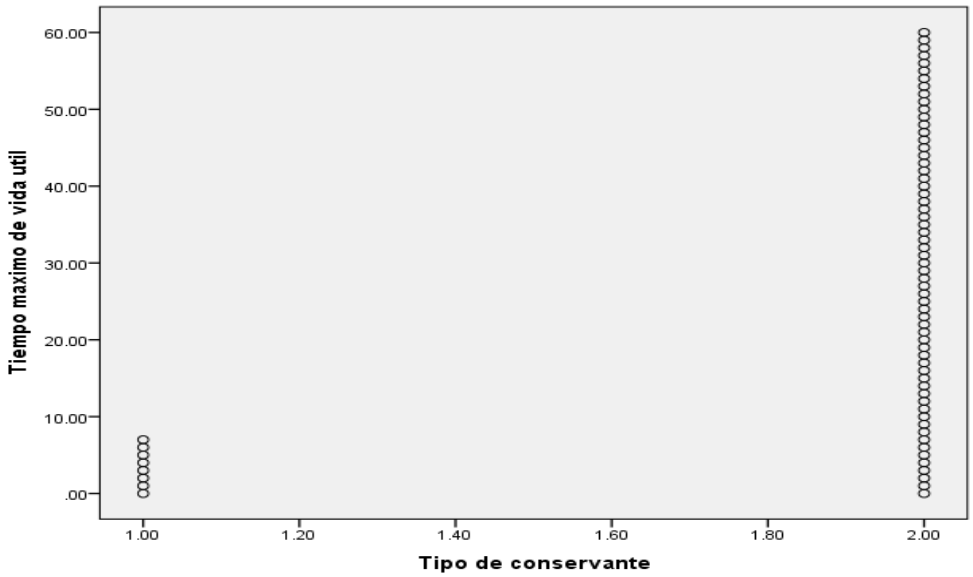


Figura 4. Comparación de vida útil entre tratamiento.

La figura 4, muestra que existe significancia entre los tiempos de vida útil del T_1 con benzoato de sodio al 1%, respecto al T_2 con eugenol al 5%. Los resultados determinaron con un 95% de confianza que el T_2 (frijoles cocidos con eugenol) presentó una mejor respuesta.

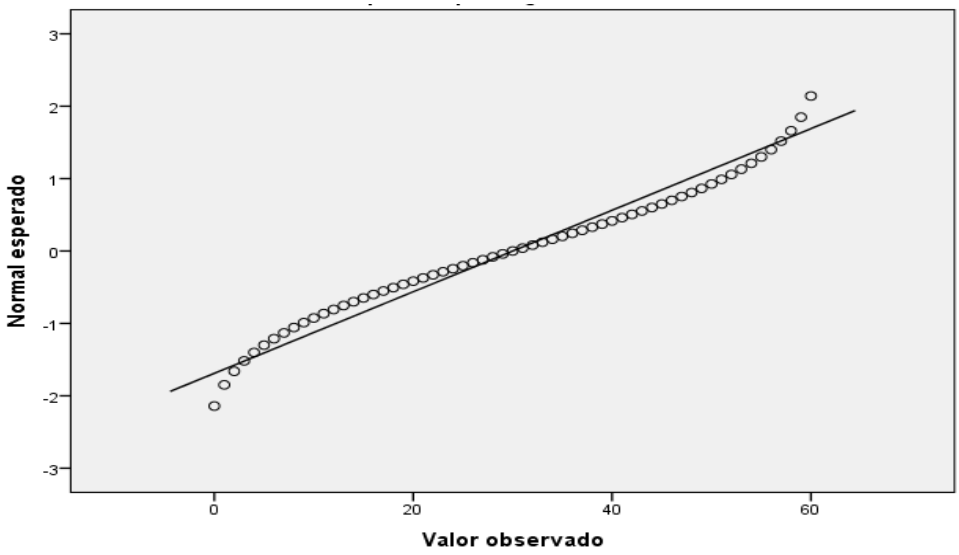


Figura 5. Orden de reacción de la prueba.

La tabla 10, muestra a partir de cinética-química con pruebas aceleradas durante 60 días, que la velocidad de deterioro de la formulación con eugenol al 5% obtuvo una cinética media de deterioro de **0.031721357 d^{-1}** a partir del cambio entre la variable pH durante este tiempo de prueba con un pseudo orden cero de reacción (Figura 5).

Tabla 10. determinación de la cinética de deterioro

Tiempo de prueba en días/ t (d)	**Variable de control pH**	**Diferencial de control en el tiempo (Δd)**	**Cinética de deterioro K ($d^{-1)}$**
0	5.9		
2	5.9	0	0
3	5.9	0	0
4	5.9	0	0
5	5.9	0	0
6	5.9	0	0
7	5.9	0	0
9	5.9	0	0
15	5.9	0	0
20	5.5	0.4	0.06779
30	5	0.5	0.090909
40	4.6	0.4	0.08
50	4	0.6	0.1304
60	3.7	0.3	0.075
Media			**0.031721357**

Mediante un ajuste matemático al modelo de prueba, se determinó que la vida media de la mezcla con eugenol al 5% fue de 78 días, sin embargo, existió un descenso en la concentración final de eugenol de un 38.04%. Partiendo de 5 g de eugenol en la muestra y al cierre del ajuste reporto 3.098 g de eugenol (Anexo 8).

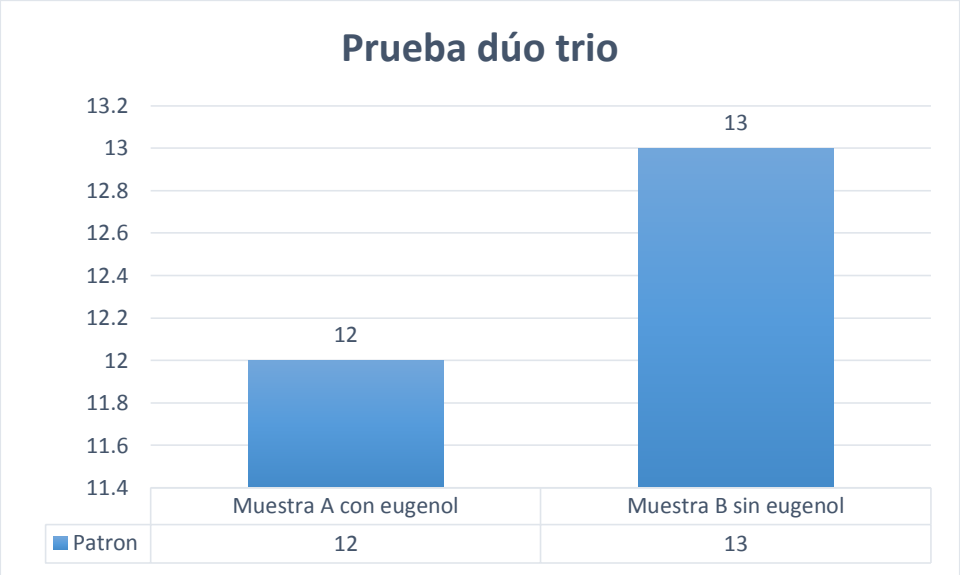


Figura 6. Resultados Prueba dúo trio

La figura 6, muestra la respuesta del análisis sensorial dúo trio, determinando que la formulación con eugenol al 5% y la muestra control no tienes diferencia significativa (12 de los jueces señalaron que la muestra A era diferente al patrón) 13 de los jueces determinaron que la muestra B era diferente al patrón.

VI. CONCLUSIONES

- La implementación del eugenol como bioconservante en frijoles cocidos, demostró ser una buena alternativa para sustituirlo por el benzoato de sodio y aumentar la vida útil de este alimento.

- La extracción de eugenol a partir de soluciones hidroalcoholicas al 80%, presento menor cantidad de solidos solubles, favoreciendo su extracción por decantación, además de resaltar las condiciones sensoriales del clavo de olor.

- Las mezclas mayores al 5% de eugenol presentaron discrepancia o rechazo en los jueces de tipo afectivo, además las mezclas por debajo del 1% no cumplieron el propósito de la investigación al mostrar deterioro físico-químico y marcada presencia de hongos en corto tiempo.

- La formulación con el 5% de eugenol presento una aceptación positiva por parte de los jueces

- A partir del estudio de cinética-química por métodos acelerados, en la mezcla de eugenol al 5% en frijoles cocidos, se determinó que su vida media oscila en 78 días.

VII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar un estudio de toxicidad aguda oral del eugenol como conservante en alimentos.

- Continuar investigando sobre el uso del eugenol como preservante de origen natural en alimentos frescos y procesados.

- Al Departamento Académico de Tecnología Alimentaria de la Universidad Nacional de Agricultura de Honduras, se recomienda considerar la asignatura de conservación de alimentos para el nuevo plan de reforma curricular.

- A la Universidad Nacional de Agricultura continuar el estudio de vida útil partiendo de este documento.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Acín, J. (2011). Estudio de la difusión del Carvacrol y Eugenol desde películas de proteína de suero lácteo a diferentes simulantes alimentarios. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Universidad Pública de Navarra. Navarra, España. 11-13 p.

ACOFARMA. (2009). Eugenol. Ficha de Información Técnica. Rev., Ciencias Alimentarias y Farmacéuticas. 35(4):23.

Attraction, F. (2017). Eugenol. Tecnología, Innovación. Rev., Smart Agro Servicio del Sector Hortofrutícola. 15 pp.

Barda, N. (2006). Analisis Sensorial de Alimentos. Wahsinton, Estados Unidos de Norte America. 34 pp.

CODEX ALIMENTARIOS (2014). Benzoato de Sodio. San José, Costa Rica. 21pp.

Díaz, R. (2009). Conservación de los Alimentos. Ed., Félix Varela, La Habana, Cuba.356pp.

Espinoza, M. (2015). Análisis Sensorial. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba. 250pp:

Espinoza, W. (2016). Desarrollo de una tecnología del procesamiento de frijol. Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia. Cali, Colombia. 26-27 p.

Escandell, C.; Polo, J. (2016). Cinética Química para Farmacia y Alimento. Ed., Félix Varela. La Habana, Cuba.157pp.

Flores, R. (2018). Influencia de la actividad antimicrobiana del clavo de olor (Syzygium aromaticum) sobre el crecimiento de Lactobacillus acidophilus en Luisiana E.E.U.U. Tesis de grado Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. 65pp

Hernandez, X. (2002). Vida Util de los Alimentos. Wahsinton, Estados Unidos de Norte America. 50pp.

Instituto Nacional de Estadística, INE. (2013). División política del departamento de Lempira. Tegucigalpa, Honduras. 24 pp.

Inunguaray, M. (2012). Vida Útil de los Alimentos. Rev., Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y agropecuarias.

Lopez, M. (2000). Efecto de Factores Tradicionales y Emergentes en la Respuesta de Aspergillus flavius. la preservación de multi objetivos de alimentos.54 pp.

Moreno, J. (2010). Conservadores químicos utilizados en la industria alimentaria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltilla, Coahuila, México. 75 pp.

Orgánica, V. (2009). Peligro Benzoato de Sodio. Rev., Salud. España. 43pp.

Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza, PAPIME. (2009). Análisis de Alimentos, fundamentos y técnicas. Antología de Fundamentos. 34pp.

Ríos, M. (2001). Estrategia de comercialización de frijol. Tesis de grado, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Honduras. 64 pp.

Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA. (2009). Normativa para alimentos y bebidas. RTCA 67.04.54.10. 89 pp.

United States Department of Agriculture ,USDA. (2015). Análisis de coyuntura del cultivo de frijol en Honduras. Unidad de Planeamiento y Evaluación de la Gestión.14 pp.

Vanegas, w. (2016). Desarrollo de una tecnología del procesamiento de frijol en polvo deshidratado. Adaptación al cambio climático. 23pp.

Ximhai, R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Universidad Autónoma Indígena de México. Chiapas, México .77pp.

Zumbado, H. (2002). Análisis Químicos de los Alimentos, Métodos Clásicos. Ed., Félix Varela. 1ra edición. La Habana, Cuba.

Zumbado, H. (2006). Análisis Químicos de los Alimentos: Método Clásicos. Ed., Félix Varela. 2da edición. La Habana, Cuba. 232 pp.

Anexo

Anexo 1. Diseño de formulaciones



Macerado del clavo de olor.

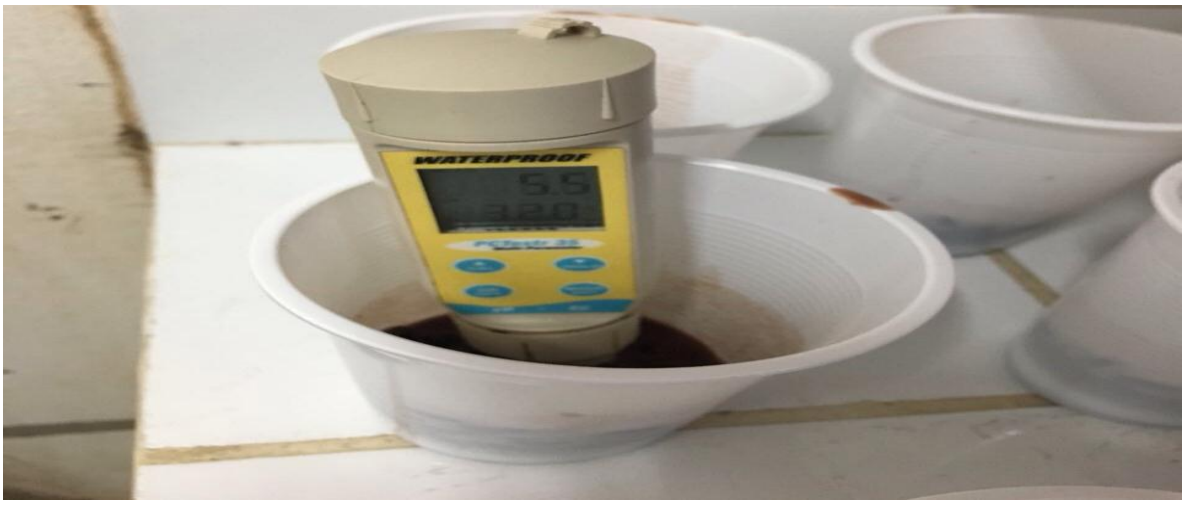


Adición de eugenol en las diferentes concentraciones.



Identificación de muestras

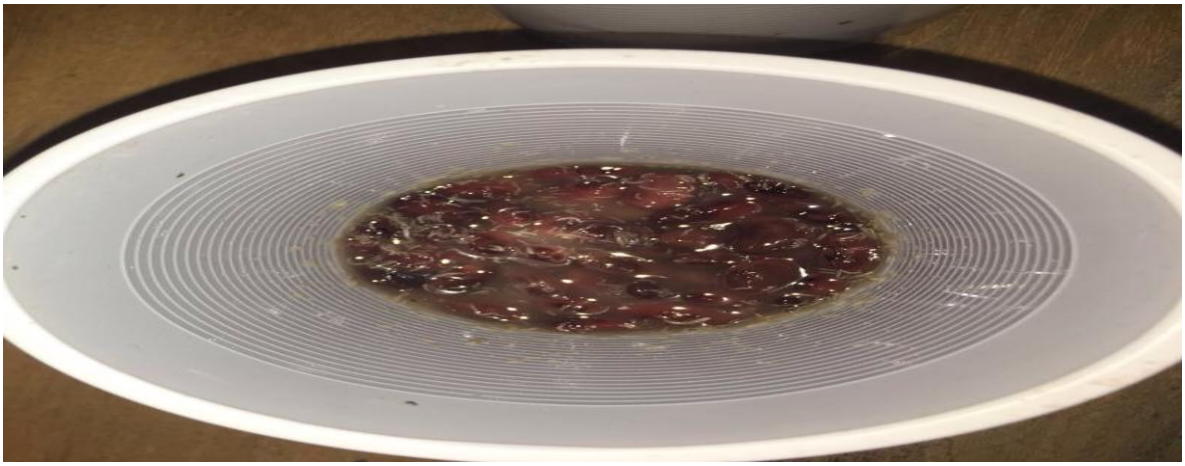
Anexo 2. Control fisicoquímico de las muestras



Medición de pH



Muestra con eugenol al 5%



Muestra con Benzoato de sodio al 0.1%

Anexo 3. Ficha análisis sensorial prueba hedónica de 5 puntos para 5 formulaciones

Formato para pruebas hedónica.

Nombre: _____. Fecha: _____.

Frijoles con conservante natural.

Frente a usted hay 14 muestra de frijol al cual se le adiciono un conservante natural, en diferentes concentraciones usted debe degustarlo y hacer una evaluación de acuerdo a cada uno de los atributos mencionado.

Encierre con un circulo el número que se encuentra en la línea horizontal.

Agrado. _____

1 2 3 4 5

Me gusta. Mucho. | Me gusta. | Ni me gusta, ni me disgusta. | Me disgusta. | Me disgusta. Mucho.

Agrado. _____

1 2 3 4 5

Me gusta. Mucho. | Me gusta. | Ni me gusta, ni me disgusta. | Me disgusta. | Me disgusta. Mucho.

Agrado. _____

1 2 3 4 5

Me gusta. Mucho. | Me gusta. | Ni me gusta, ni me disgusta. | Me disgusta. | Me disgusta. Mucho.

Agrado. _____

1 2 3 4 5

Me gusta. Mucho. | Me gusta. | Ni me gusta, ni me disgusta. | Me disgusta. | Me disgusta.

Agrado. _____

1 2 3 4 5

Me gusta. Mucho. | Me gusta. | Ni me gusta, ni me disgusta. | Me disgusta. | Me disgusta.

Recomendaciones:_____

_____

Anexo 4. Ficha análisis sensorial de tipo analítico descriptivo

Formato para pruebas analíticas descriptiva.

Nombre: _____. Fecha: _____.

Frijoles con conservante natural.

Frente a usted hay una muestra de frijol al cual se le adiciono un conservante natural, usted debe degustarlo y hacer una evaluación de acuerdo a cada uno de los atributos mencionado.

Encierre con un circulo el número que se encuentra en la linea horizontal.

ATRIBUTOS.

Sabor.

1 2 3 4 5.

Muy débil Bueno. Muy intenso.

Olor.

1 2 3 4 5.

Muy débil Bueno. Muy intenso.

Textura.

1 2 3 4 5.

Muy fluido Excelente. Muy espeso.

SUGERENCIAS: _____

_____

MUCHAS GRACIAS.

Anexo 5. Ficha para prueba dúo trio

Nombre y apellido: _____ Fecha: _____

Sírvase degustar la primera muestra que corresponde al control. Descanse un minuto y deguste las dos pruebas enumeradas. Señale cuál de ellas es igual al control encerrándola en un círculo. Enjuáguese la boca antes de evaluar cada muestra.

Control.	Muestras	
B	_____	_____

Anexo 6. Ficha para prueba hedónica de la formulación al 5% de eugenol

Formato para pruebas hedónica.

Nombre: _____. Fecha: _____.

Frijoles con conservante natural.

Frente a usted hay una muestra de frijol al cual se le adiciono un conservante natural, usted debe degustarlo y hacer una evaluación de acuerdo a cada uno de los atributos mencionado.

Encierre con un circulo el número que se encuentra en la línea horizontal.

Agrado.

1	2	3	4	5.
Me gusta. Mucho.	Me gusta.	Ni me gusta, ni me disgusta.	Me disgusta.	Me disgusta. Mucho.

Anexo 7. Desarrollo de las pruebas sensoriales



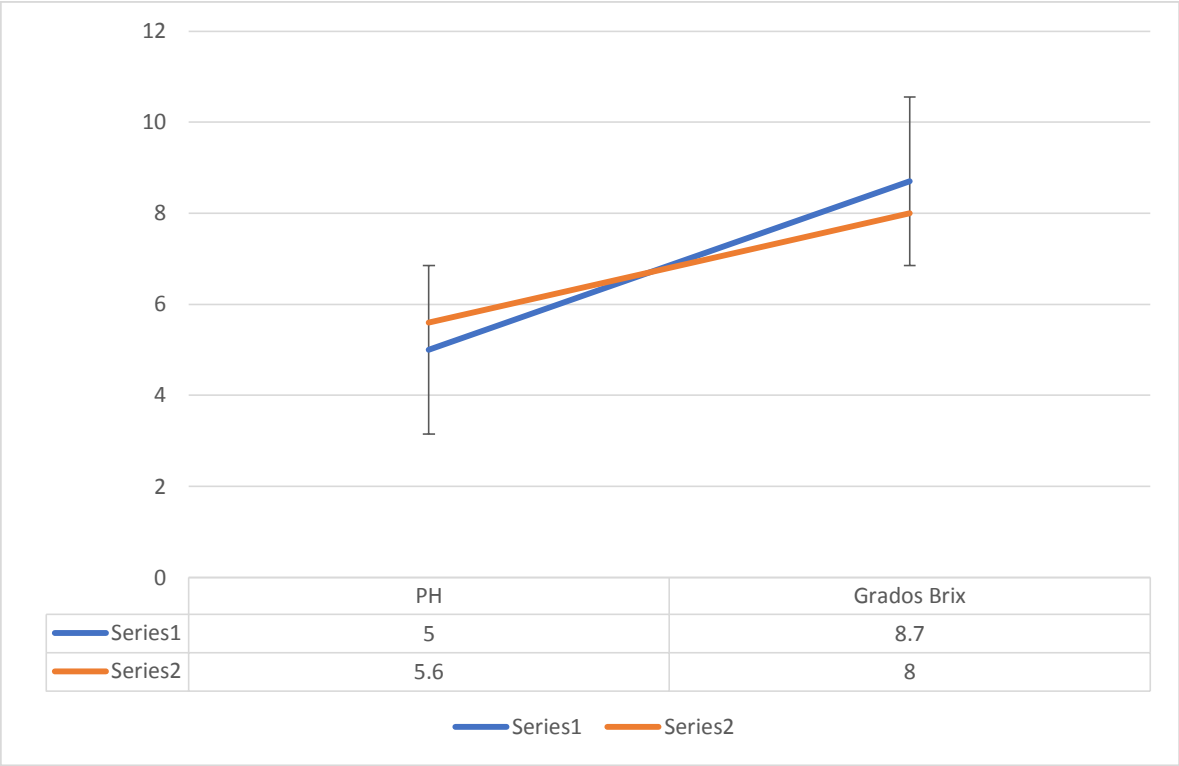




Anexo 8. Diseño completo de vida útil

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO-FRIJOLES CON EUGENOL.

Se contó con un lote de 2 kg de frijol entero cocido, se segmento en 20 grupos de 100g cada uno, del cual se tomaron 5 muestras por triplicado de 100g y se procedió a determinar la vida útil a partir de métodos acelerados, tomando como variable de respuesta análisis fisicoquímico de pH y solidos solubles. Con un pHmetro EUTECH INSTRUMENTS se determinó que el pH medio de los frijoles con eugenol fue de $5\ 0 \pm 0.05$. Por la técnica de refractometría se determinó que los frijoles presentaron un $8.7\% \pm 0.05$ de solidos solubles. Se comparó estos resultados con un control de 100 g de frijoles cocidos empleando benzoato de sodio al 0.1% del mosto, según Normativa del Reglamento Técnico Centroamericano RTCA, 2009 para uso de conservantes químicos, los resultados para este tratamiento muestran 5.6 pH ± 0.05 y $8\% \pm 0.05$ de solidos solubles Estos análisis se llevaron a cabo bajo una temperatura de prueba de $30^{o}C \pm 3^{o}C$ durante 60 días, en el laboratorio de Química de la Universidad Nacional de Agricultura, bajo condiciones controladas (Grafica 1).



Análisis Físico Instrumental entre tratamientos

Resumen del análisis instrumental

Lote: 2000g frijoles cocidos enteros	Unidades experimentales	Control
% solido soluble	L_{1_1} =8	L_{2_1} =6.5
	H_{1_1} =10	H_{2_1} =9
	D_{ij} =8	D_{ij} =8
pH	L_{1_2} =3.7	L_{2_2} = 4.9
	H_{1_2} =5.9	H_{2_2} =6.3
	$D_{i_2 j_2}$ = 4.5	$D_{i_2 j_2}$ =4.5

L Valores bajos medibles por análisis instrumental

H ⟶ Valores altos medibles por análisis instrumental

D ⟶ Optimización del proceso al cierre de la vida en anaquel respecto RTCA

Modelo: $Mijn = Ln \ldots + Hn$

- Cinética química n=0
- T= 0 a 60 (días).
- Velocidad de deterioro : $\frac{t\ dc}{dt} = f(Ei, Fj)$
- Ei = factores ambientales (1…n).
- Fj = factores de composición (1…n).
- Temperatura 30°C (± 3).

Control de análisis químicos para el tratamiento 1 (empleo de eugenol como conservante)

pH al inicio de la investigación = 5.9

pH al final de la investigación = 3.7

Control de análisis físicos

- Concentración de solidos solubles al inicio de la investigación: 10
- Concentración de solidos solubles al final de la investigación: 8

Control del factor de la calidad

Factor de control de calidad

$C =$ **factor de calidad**

$$-\frac{dC}{dt} = f\left(E_i, F_j\right)$$

Donde:

$$-\frac{dC}{dt} = \text{velocidad de deterioro}$$

E_i = factores ambientales ($i = 1....n$)

F_j = factores de composición ($j = 1...n$)

Según el valor físico-químico de la composición entre el T_1 y T_2 los mecanismos por los cuales se alteraron fueron:

- Actividad biológica
- Actividad química
- Acción de la temperatura

Los cambios no deseados se dieron por diferente naturaleza:

a) Textura:

Pegajosidad

b) Color:

Perdida del brillo

c) Olor y sabor:

Fermentación y sabor acidificado

Efecto de la temperatura sobre la calidad de los tratamientos

Ecuación de Arrhenius para cinética de deterioro

$$k = k_o e^{-E_A/RT}$$

Donde:

k = Constante de velocidad de la reacción de deterioro

k_o = Constante (independiente de la temperatura)

E_A = Energía de activación [f (pH, sólidos solubles)]

R = Constante de los gases ideales

T = Temperatura absoluta

Para los factores pH y solidos solubles (^{0}Brix), se determinó su comportamiento en el tiempo de 60 días, donde se correlaciono las muestras y se planteó las siguientes hipótesis durante el estudio en anaquel:

a) Para el caso de vida útil respecto al tipo de conservante

H_0 = Las distribuciones de del tiempo máximo para vida útil es la misma entre los tipos de conservantes.

H_a= Las distribuciones de del tiempo máximo para vida útil son diferentes entre los tipos de conservantes.

Determinando con un 95% de confianza rechazar la H_o. a partir de la prueba de U de Mann-Whitney.

b) Para el caso del pH respecto al tipo de conservante

H_0 = Las distribuciones de pH es la misma entre los tipos de conservantes.

H_a= Las distribuciones de pH son diferentes entre los tipos de conservantes.

Determinando con un 95% de confianza rechazar la H_o. a partir de la prueba de U de Mann-Whitney.

c) Para el caso de solidos solubles respecto al tipo de conservante

H_0 = Las distribuciones de solidos solubles es la misma entre los tipos de conservantes.

H_a= Las distribuciones de solidos solubles son diferentes entre los tipos de conservantes.

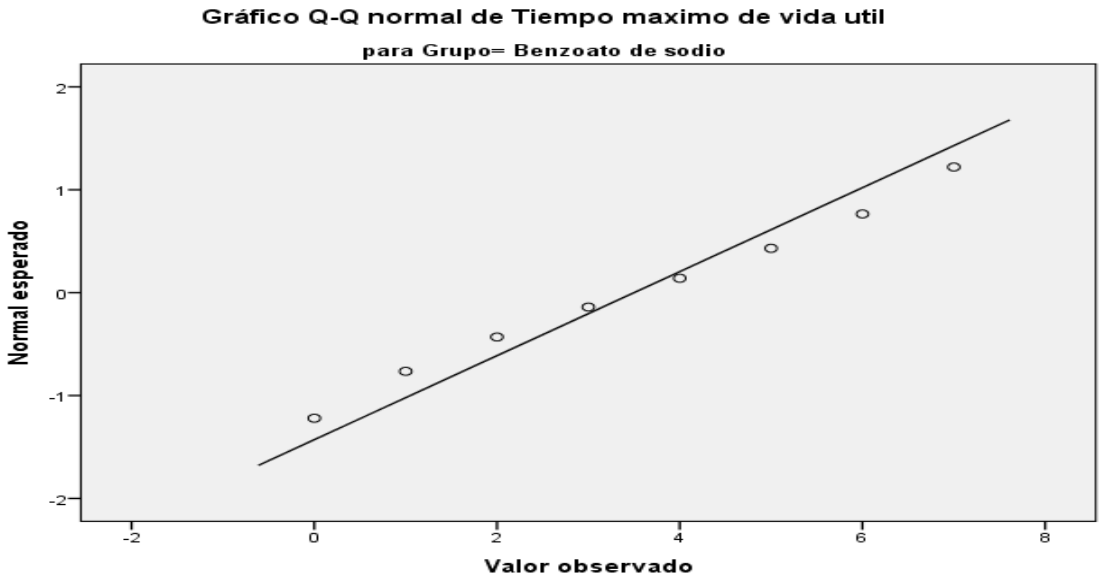
Determinando con un 95% de confianza conservar la H_o. a partir de la prueba de U de Mann-Whitney.

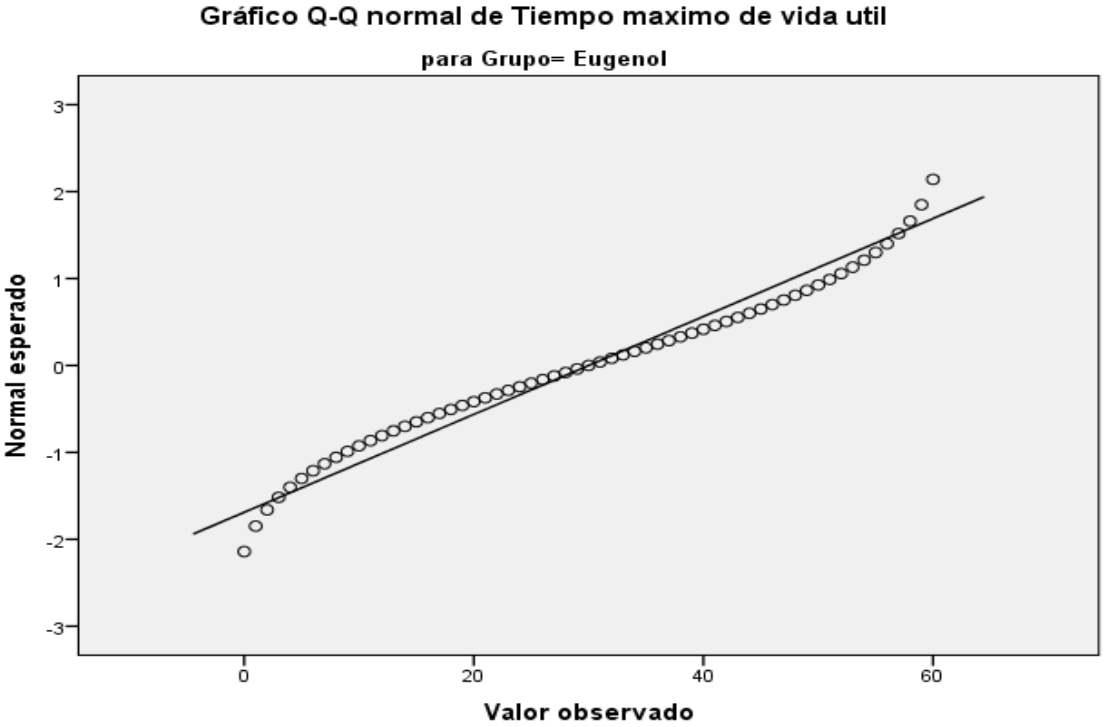
Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Tiempo maximo de vida util es la misma entre las categorías de Tipo de conservante.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.000	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de pH de prueba es la misma entre las categorías de Tipo de conservante.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.023	Rechace la hipótesis nula.
3	La distribución de Brix de prueba es la misma entre las categorías de Tipo de conservante.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.062	Conserve la hipótesis nula.

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significancia es .05.

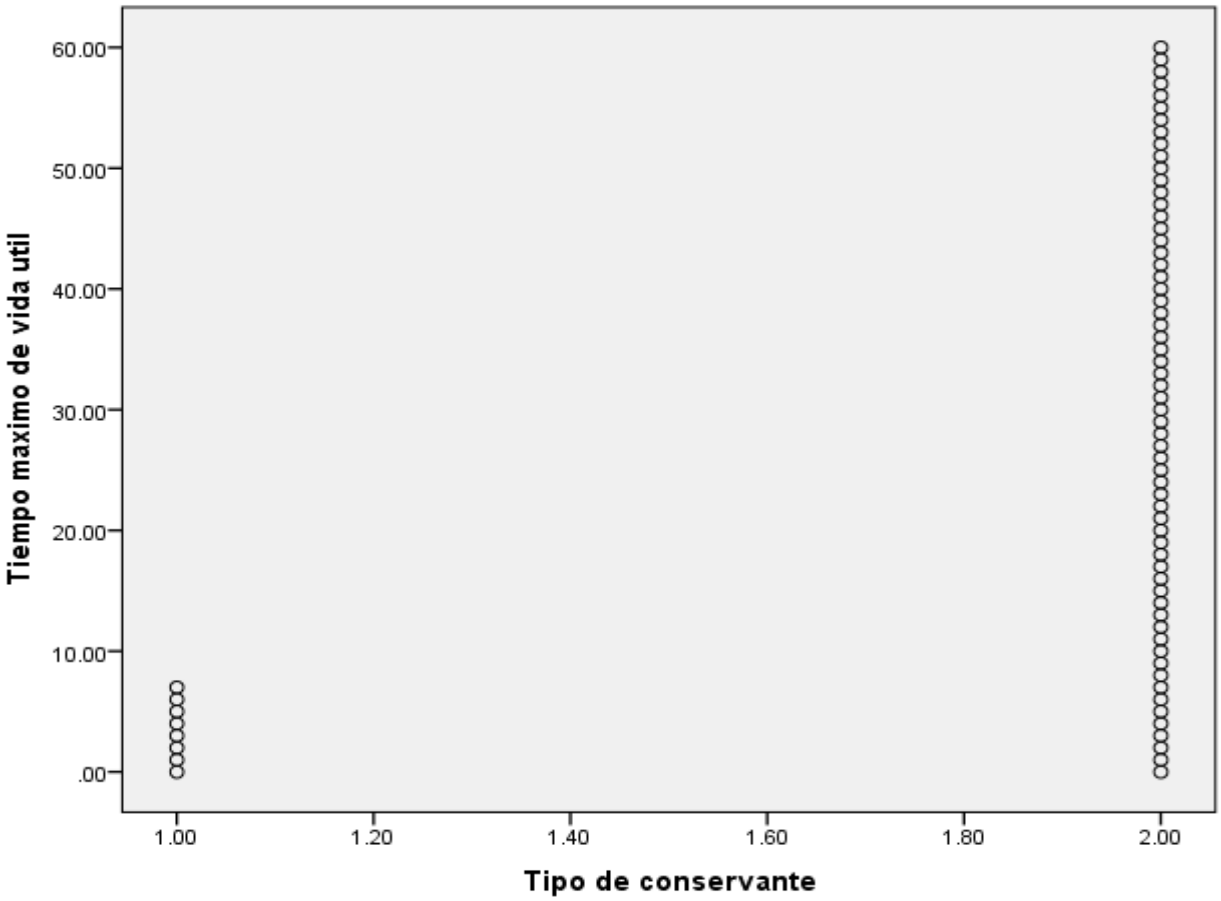
Comportamiento de la reacción





El orden de la reacción de los tratamientos, determinaron una reacción de pseudo orden cero (n=0)

Comparación entre tratamientos para vida útil



Se determinó con un 95% de confianza que el T_2 (frijoles cocidos con eugenol) presentó una mejor respuesta entre el tiempo de vida útil implementado en el diseño. Desarrollándose esta variable como prueba de experimentación para medir su cambio en el tiempo mediante cambios de temperatura, a partir del control de la cinética de deterioro respecto al pH según los resultados obtenidos a través de la U de Mann-Whitney.

Vida útil a partir de Q_{10}

Determinación de la cinética de deterioro a partir de pH

Tiempo de prueba en días/ t (d)	**Variable de control pH**	**Diferencial de control en el tiempo (Δd)**	**Cinética de deterioro K ($d^{-1)}$**
0	5.9		
2	5.9	0	0
3	5.9	0	0
4	5.9	0	0
5	5.9	0	0
6	5.9	0	0
7	5.9	0	0
9	5.9	0	0
15	5.9	0	0
20	5.5	0.4	0.06779
30	5	0.5	0.090909
40	4.6	0.4	0.08
50	4	0.6	0.1304
60	3.7	0.3	0.075
Media			**0.031721357**

Cálculos de media de su cinética de deterioro

$$\frac{\triangleq dn}{t_0} = Kn$$

$$\sum_{i=1}^{n=1} K_1 + \ldots n = \frac{Kot \ldots K_n}{n}$$

(Escandell y Polo, 2016).

$\frac{\triangleq dn}{t_0}$ **=0.031721357**

Los valores control para la cinética de deterioro se centralizaron en su pH, a partir de métodos cinéticos acelerados en **60 días,** obteniendo una constante de deterioro media de **0.031721357 d^{-1}**.

Determinación de la vida media ($t_{0.5}$).

Partiendo de una reacción de pseudo orden cero, con un nivel de tratamiento de frijol cocido con eugenol al 5% (5g/100g) y una cinética de deterioro de 0.031721357 d^{-1} se determinó que la vida media de esta formulación es de 78 días.

$$t_{0.5} = \frac{Co}{2k0}$$

$t_{0.5}$ = vida media

C_0 = factor de calidad

k_0 = cinética de deterioro

(Díaz, 2009).

$$t_{0.5} = \frac{5}{2(0.0317)}$$

$$t_{0.5} = 78.86 \text{ d}$$

$$t_{0.5} \approx 78 \text{ d}$$

Debido a que no existe un factor de aproximación para métodos cinéticos, se trabajara con números enteros no redondeados.

Para determinar la concentración final de eugenol empleado en la mezcla al 5% a los 78 días de vida media, se empleó la siguiente formula:

$$C = C_0 - kt$$

C = factor final de calidad
C_0 = factor inicial de calidad = 5 g
k = cinética de deterioro = 0.0317 d^{-1}

t = tiempo de prueba = 60 d
(Díaz, 2009).

C = 5 – (0.0317) (60)
C = 3.098 g

CONCLUSIÓN DEL MODELO DE VIDA UTIL

Se determinó mediante el estudio de vida útil, que los frijoles que emplearon eugenol como conservante al 5% (T_1), obtuvieron una vida media de 78 días, a partir de modelos matemáticos utilizados para vida media, respecto al control de frijoles con benzoato al 1% como conservante (T_2) que obtuvo una vida útil de 8 días. Presentando puntos críticos de deterioro entre ambos, debido a la oxidación que provocaron daños en el color y sabor, y para el caso del T_2, se mostró presencia de hongos. Se determinó que, a los 60 días del cierre del estudio, el tratamiento contaba con 3.098g de eugenol, perdiendo un 38.04% de la concentración inicial de la mezcla.