

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS DE PREGRADO

**Evaluación de las características físico-químicas,
microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (*Citrus
sinensis*) tratado con quitosano**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Bach. Yaritza Yohana Zapata Farroñan
Bach. Melquisedec Sunción Guevara

TUMBES, PERÚ

2021



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Evaluación de las características físico-químicas,
microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (*Citrus
sinensis*) tratado con quitosano**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**Bach. Yaritza Yohana Zapata Farroñan
EJECUTOR**

**Bach. Melquisedec Sunción Guevara
EJECUTOR**

**Ing. Dorian Yaser Aguirre Campos
ASESOR**

**Dr. Javier Querevalú Ortiz
CO-ASESOR**

TUMBES-PERÚ

2021



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL



**Evaluación de las características físico-químicas,
microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (*Citrus
sinensis*) tratado con quitosano**

PRESENTADO POR:

Bach. Yaritza Yohana Zapata Farroñan
Bach. Melquisedec Sunción Guevara

JURADO EVALUADOR:

Mg. José Luis Cabrera Reyes

Presidente

Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo

Mg. Rosa Liliana Solís Castro

Vocal

AGRADECIMIENTO

Primordialmente a Dios y a nuestras familias por el constante apoyo necesario para llegar a cumplir cada meta de la vida.

A los docentes de la Universidad Nacional de Tumbes por ser parte de nuestra formación profesional y a los asesores: Dr. Javier Querevalu e Mg. Dorian Aguirre por su orientación en esta ejecución del proyecto.

En especial a la docente Mg. Liliana Solís e Ing. Gloria Ochoa por el apoyo y facilidades en el laboratorio de biología molecular para la realización del proyecto.

Al Ing. John Rimaycuna por su orientación y brindarnos facilidades en el laboratorio de análisis ambiental.

DEDICATORIA

El siguiente estudio está dedicado principalmente a Dios. Dios nos ha dado sabiduría y salud para seguir logrando nuestras metas durante este período. Gracias por el largo amor, el trabajo y el sacrificio de nuestros padres. Estamos orgullosos de ser sus hijos.

A nuestros hermanos y hermanas que estuvieron con nosotros, por la ayuda moral que nos brindaron durante este tiempo.

A nuestros profesores que nos apoyaron día a día para hacer posible este proyecto.

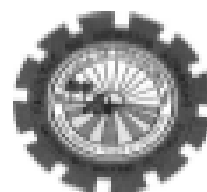
A los que nos han ayudado a hacer las cosas con éxito, especialmente a los que nos han abierto sus puertas y han compartido conocimientos.

Yaritza Yohana Zapata Farroñan

Melquisedec Sunción Guevara



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGROINDUSTRIAS



CAMPUS UNIVERSITARIO S/N "LA CRUZ"
SECRETARIA ACADÉMICA
TUMBES - PERU

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los cinco días del mes de febrero de dos mil veintiuno, se reunieron de manera virtual, los integrantes del Jurado designados, según Resolución N° 025-2019/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D (26-03-2019), Resolución N° 121-2019/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D (07-11-2019) y Resolución N° 001-2021/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D (08-01-2021), donde se aprueba el Proyecto de Tesis y ratifica el Jurado; con el objeto de evaluar la sustentación de la tesis denominada: Evaluación de las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (*Citrus sinensis*) tratado con quitosano, para optar el Título de Ingeniero Agroindustrial, cuyo asesor es el Ing. Dorian Yasser Aguirre Campos.

A las diez horas con quince minutos y, de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el presidente del Jurado dio por iniciado el acto.

Luego de la exposición del trabajo, la formulación de preguntas y la deliberación del jurado los declaran **APROBADOS** por **UNANIMIDAD** con el calificativo de **BUENO**.

Por lo tanto, los Bachilleres: **ZAPATA FARROÑAN YARITZA YOHANA** y **SUNCIÓN GUEVARA MELQUISEDEC**, quedan aptos para que el Consejo Universitario de la Universidad Nacional de Tumbes, les expida el Título Profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL** de conformidad con lo estipulado en el Artículo 90 del Estatuto de la Universidad Nacional de Tumbes y a lo normado en el Reglamento de Grados y Títulos.

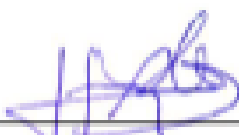
Siendo las once horas con nueve minutos, el presidente del Jurado dio por concluido el presente acto académico y para mayor constancia de lo actuado firman en señal de conformidad todos los integrantes de este Jurado, presentes en el acto de sustentación.



Mg. JOSÉ LUIS CABRERA REYES
DNI N°00327891
Presidente



Mg. RICARDO WILLIAMS SALDOYA TINOCO
DNI N°80522672
Secretario



MSc. ROSA LILIANA SOLÍS CASTRO
DNI N° 17628592
Vocal

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
ACTA DE SUSTENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
1.INTRODUCCIÓN	1
2.ESTADO DEL ARTE	3
2.1. ANTECEDENTES	3
2.2. BASES TEÓRICAS CIENTÍFICAS	6
2.2.1 Jugo o zumo:	6
2.2.2. Naranja	12
2.2.3. Quitosano	18
2.2.4 Clarificación de jugo de naranja	20
2.2.6 Norma técnica peruana 203.110.2009 para jugos, néctares y bebidas de fruta... 21	
2.2.7 Norma general del Códex para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005).....	25
2.2.8 Guía técnica sobre criterios y procedimientos microbiológico de superficies de alimentos y bebidas (DIGESA-2001).	26
3. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Materiales y equipos:	27
3.1.1. Materia prima e insumos	27
3.1.2. Materiales	28
3.1.3. Reactivos	28
3.1.4. Equipos	28
3.2. Método de investigación	29
3.2.3. Análisis físico-químico	32
3.2.4 Análisis organoléptico	33
3.2.3 Análisis Microbiológico	33

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1. Análisis fisicoquímicos:	39
4.1.1 Nivel de pH	39
4.1.2. Nivel de °Brix	42
4.1.3. Nivel de turbidez	44
4.2 Análisis sensorial después de 15 días de conservación en refrigeración: ..	47
4.1.2.1. Análisis del color	47
4.1.2.2. Análisis del olor.....	48
4.1.2.3 Análisis del sabor	49
4.1.2.4 Análisis del nivel de aceptabilidad	51
4.1.3. Análisis microbiológico	52
4.1.3.1 Recuento de mohos y levaduras ufc/cm ³	54
4.1.3 .2 Coliformes ufc /cm ³	55
4.1.3.3. Aerobios mesófilos	55
5. CONCLUSIONES	56
6. RECOMENDACIONES.	57
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	58
8. ANEXOS	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Contenido de valor nutricional de la naranja	15
Tabla n° 2: Composición nutricional de naranja por 100 g de porción comestible	17
Tabla N°3: Contenido mínimo de sólidos solubles (°Brix) para jugos y bebidas de fruta.....	23
Tabla N°4: Norma Técnica Peruana 203.110.2009 que establece criterios microbiológicos para jugos, néctares y bebidas de frutas.....	24
Tabla N°5: Tratamientos según las concentraciones de quitosano	32
Tabla N°6: Análisis de pH del zumo de naranja sin adición de quitosano.....	39
Tabla N°7: Análisis de pH del zumo de naranja después de 3 horas de adicionar el quitosano.....	40
Tabla N°8: Análisis de pH del zumo de naranja después de 15 días de conservación en refrigeración	40
Tabla N°9: Análisis °Brix del zumo de naranja sin adición de quitosano	42
Tabla N°10: Análisis °Brix del zumo de naranja después de 3 horas de reposo con quitosano.....	42
Tabla N°11: Análisis °Brix del zumo de naranja después de 15 de conservación en refrigeración	43
Tabla N°12: Análisis de turbidez del zumo de naranja sin adición de quitosano	44
Tabla N°13: Análisis de turbidez del zumo de naranja después de 3 horas de reposo con adición el quitosano	45
Tabla N°14: Análisis de turbidez del zumo de naranja después de 15 días de conservación en refrigeración	45
Tabla N° 15: Norma Técnica Peruana 203.110.2009 que establece criterios microbiológicos para Jugos, néctares y bebidas de frutas.....	52
Tabla N° 16: Análisis microbiológico del zumo de naranja tratado con quitosano después de 15 días en refrigeración	53
Tabla N° 17: Análisis n° 1 del zumo de naranja descartado por la presencia de sobre población de agentes microbianos.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1 Morfología de la naranja, exocarpo, mesocarpo y endocarpo.....	16
Figura N°2 Flujograma de las fases del proceso experimental del proyecto.	30
Figura N°3: Flujograma de la elaboración de jugo de naranja tratado con quitosano	32
Figura N°4: Flujograma de las diluciones empleadas para el aislamiento de microorganismos (DIGESA, 2001).....	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N°1: Análisis de PH del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano	41
Gráfico N° 2: Análisis de los °brix de zumo de naranja con diferentes concentraciones de quitosano.	44
Gráfico N°3: Análisis de la turbidez del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano	46
Gráfico N°4: Análisis de color del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano	48
Gráfico N°5: Análisis de color del T3 del zumo de naranja con una concentración de 900 mg/l de quitosano	48
Gráfico N°6: Análisis de olor del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones	49
Gráfico N° 7: Análisis de sabor del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones	50
Gráfico N° 8: Análisis de aceptabilidad del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones	51

RESUMEN

El propósito del estudio fue, evaluar las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de 3 muestras de zumo de naranja, tratadas con concentraciones diferentes de quitosano (300, 600 y 900 mg/L) con 5 repeticiones cada una, y una muestra referencial (MR) de control sin quitosano; y su posterior conservación durante 15 días. En los análisis físicoquímicos de las muestras, el tratamiento T3 presentó una turbidez de 601 UNT, la cual está dentro del valor normal de turbidez para elaboración de zumos de naranja; clarificando el zumo mucho mejor, en un tiempo de 2 horas a diferencia de los otros tratamientos que tuvieron turbidez y tiempos mayores. Según la Norma Técnica Peruana 203.101-2009 un zumo de naranja debería tener 10 °Brix. El T3 presentó un valor 10.1 °Brix, siendo el mejor a diferencia de 9.7° Brix y 9.8° Brix de T1 y T2 respectivamente. Según la norma técnica para un zumo, el nivel de pH es 4.5 El tratamiento T3 presentó el valor de pH de 3.9, siendo éste el valor más próximo al nivel de la norma. El resultado microbiológico en la muestra MR registró cantidades muy altas de microorganismos que no son permitidas para el consumo humano, el T1 presentó una mínima cantidad de microorganismos. En T2 y T3 no hubo presencia de microorganismos patógenos debido a las características antimicrobianas y antifúngicas del quitosano. El tratamiento T3 es el que cumple con niveles aceptables según la Norma Técnica Peruana 203.101-2009. En el análisis organoléptico, según el criterio de los panelistas, el T3 fue el más aceptable con respecto a la apariencia, sabor y olor mediante una prueba hedónica. En conclusión, el quitosano no influye en las características del zumo de naranja, actuando como agente clarificante y conservante, siendo el tratamiento T3 con una concentración de 900mg/L el más aceptable.

Palabras claves: zumo de naranja, conservación, clarificación

ABSTRACT

The purpose of the study was to evaluate the physico-chemical, microbiological and sensory characteristics of 3 samples of orange juice, treated with different concentrations of chitosan (300, 600 and 900 mg/L) with 5 repetitions each, and a reference sample (MR) for control purposes without chitosan; and then kept for 15 days. In the physico-chemical analysis of the samples, the T3 treatment presented a turbidity of 601 UNT, which is within the normal value of turbidity for the production of orange juices; clarifying the juice much better, in a time of 2 hours unlike the other treatments that had turbidity and longer times. According to the Peruvian Technical Standard 203.101-2009 an orange juice should have 10°Brix. The T3 presented a value of 10.1 °Brix, being the best difference of 9.7° Brix and 9.8° Brix of T1 and T2 respectively. According to the technical standard for a juice, the pH level is 4.5 The T3 treatment presented the pH value of 3.9, this being the closest value to the standard level. The microbiological result in the MR sample recorded very high amounts of microorganisms that are not allowed for human consumption, T1 presented a minimal amount of microorganisms. Pathogenic microorganisms were not present in T2 and T3 due to the antimicrobial and antifungal characteristics of chitosan. The T3 treatment meets acceptable levels according to Peruvian Technical Standard 203.101-2009. In the organoleptic analysis, according to the criteria of the panelists, T3 was the most acceptable with respect to appearance, taste and smell through a hedonic test. In conclusion, chitosan does not influence the characteristics of orange juice, acting as a clarifying agent and preservative, with treatment T3 with a concentration of 900mg/L being the most acceptable.

Keywords: Orange-juice, preservation, clarification.

I. INTRODUCCIÓN

La industrialización de la producción de jugos plantea ciertos problemas. Los cuales son el Color, aroma, sabor, pH, densidad, etc. Uno de los factores más relevantes que afectan la calidad de estos factores regulatorios es la turbidez (Padrón & Moreno, 2010).

En el jugo de naranja debe probarse su confiabilidad, composición y calidad si es necesario. El método analítico utilizado requiere un método estandarizado. La muestra / control de calidad de Jin Wise. Puede evaluarse comparando los datos de muestra generados utilizando los métodos apropiados incluidos en la norma. contenidos en el estándar, con los datos generados para frutas del mismo tipo y área. Debido a variaciones que ocurre en la sofisticación / procesamiento (CODEX STAN 247, 2005).

Los jugos que contienen conservantes y aditivos químicos son un problema en la industria alimentaria que busca la innovación mediante el uso de compuestos naturales que satisfagan estas necesidades. Uno de los compuestos estudiados hoy es el quitosano. Esto se debe a que es un polímero natural con una concentración adecuada y actividad antibacteriana (Ayala, 2014).

La quitina y el quitosano se han estudiado por sus propiedades antibacterianas. Estudios recientes han demostrado que el quitosano es antiséptico y bacteriostático y es de interés para la industria (Durán et al., 2016).

La conservación es un conjunto que se aplica al almacenamiento y consumo de alimentos durante un período de tiempo. El deterioro de los alimentos es causado por cambios químicos, físicos y biológicos durante el almacenamiento. Su objetivo principal es principalmente prevenir o retrasar los daños causados por microorganismos y así evitar efectos nocivos en los consumidores (Baysal, 2017).

La producción de quitosano en la región de Tumbes a partir del exoesqueleto de langostino (*Penaeus vannamei*), debe contribuir a una mejora tanto económica, ambiental y social. El aprovechamiento del quitosano como insumo agroindustrial, al ser utilizado como recurso los residuos hidrobiológicos, genera ingresos y evita a su vez, un impacto ambiental. El quitosano como agente natural permite mejorar la calidad de zumos de naranja de la región, dándole un valor agregado a la naranja y beneficiando a la población. Este proyecto de investigación nos permitió aprovechar dos materias primas de la región de Tumbes.

La situación de la industria de los jugos de frutas nos ha permitido plantear el problema de investigación con la siguiente pregunta: ¿Qué características físico químicas, microbiológicas y organolépticas posee el jugo de naranja (*Citrus sinensis*) tratado con quitosano?

Teniendo en cuenta la incidencia del objetivo planteado, en la calidad del zumo de naranja, se evaluaron las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas del jugo de naranja (*Citrus sinensis*) tratado con quitosano, que se realizó el siguiente procedimiento: 1) elaborar un zumo de naranja tratado con quitosano de diferentes concentraciones, 2) evaluar las características del zumo de naranja después de los 15 días de conservación en refrigeración.

La utilización de quitosano como un agente natural, permite dar nuevas tendencias en la industria de alimentos, para mejorar la calidad de zumo de naranja y conservarlo.

II. Estado del Arte

2.1 ANTECEDENTES

Durán *et al.*, (2016), el jugo de caña de azúcar transparente (guarapo y jugo transparente) utiliza quitina y quitosano extraídos del exoesqueleto del tórax de camarón y cefalotórax como sedimento. La quitina se obtiene por desproteización y desmineralización química del exoesqueleto y el quitosano por desacetilación de la quitina. Como resultado, se encontró que los colores del guarapo original y del jugo clarificado eran 35,333 UI y 19,938 UI, respectivamente. Los tratamientos con quitina y quitosano eliminaron hasta el 49,9 y el 69,61% del color del jugo original en la primera extracción, respectivamente, y eliminaron el 56,37 y el 74,22% de los colorantes base en el jugo de caña de azúcar transparente, respectivamente, a pH = 3,0 y temperatura ambiente. Ambos ingredientes tienen el potencial de ser una opción de filtración para el jugo de caña de azúcar.

Naranjo *et al.*, (2015), el análisis del uso de quitosano utiliza un tratamiento enzimático y aplica un diseño completamente aleatorizado (DCA) de 2x3 para la decoloración, la turbidez y los sólidos disueltos totales de la muestra tratada con diferentes concentraciones de quitosano. Factorial 1. No hubo diferencia significativa en el tratamiento con quitosano ($\alpha = 0.05$) para la turbidez y los sólidos disueltos totales, que se encontró que eran diferentes del tratamiento con quitosano y el control del color. Eligió el tratamiento con la concentración más baja y el tiempo de agitación más bajo para la evaluación sensorial. Considerando las propiedades físicas, químicas, sensoriales y económicas, el mejor tratamiento fue el que tuvo la menor concentración de quitosano (500 mg / L) y el menor tiempo de agitación (3 minutos).

Se puede obtener jugo clarificado de marañón, de modo que el jugo purificado de manera óptima se evalúe razonablemente, lo que hace una diferencia química entre el jugo integral y el purificado. Los pseudofrutos se separan manualmente de las semillas, se recogen y se extraen del néctar hervido. 30 catadores realizaron una prueba de evaluación sensorial (aceptación). A través de una escala hedónica de 9 puntos. Utilizando un esquema de factores de tres niveles con un método de superficie de respuesta. Las propiedades químicas del jugo se analizaron usando la prueba T-Student para comparar la media de las muestras independientes con la prueba de Levene para la homogeneidad de la varianza (Durán et al., 2016).

Un aprovechamiento agroindustrial del pseudofruto ha sido el clarificado de jugo con alto contenido de vitamina C mediante el tratamiento enzimático. Su sabor es muy apreciado por los consumidores y no hay problema. El análisis sensorial de los jugos de frutas no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$). La tasa de aceptación más alta fue 0.20% p/v a 30 °C durante 14.27 horas cuando hubo diferencias estadísticamente significativas en ° Brix, pH, variables ácidas, ácido ascórbico ($p \leq 0.05$) y azúcares reductores. El contenido de ácido ascórbico se ha reducido en un 41,01% en comparación con el jugo original. (Rocha, et al., 2017).

Núñez et al., (2010), evaluó el efecto de clarificación mediante distintos agentes y proporción a información relacionada con las posibilidades de comercialización y aceptación, en los jugos de uva turbios y límpidos de las variedades Isabel, Niágara R, Concord y Venus; los clarificantes que se utilizaron son gelatina, bentonita, un preparado comercial de enzimas purificadas y quitosano, en concentración de tres dosis cada uno. Para evaluación sensorial se utilizó pruebas afectivas, en los jugos turbios y limpios de las variedades Isabel, Concord, y Venus Niágara R, se realizó una prueba de preferencia (comparación pareada); con los jugos límpidos de las variedades Isabel, Concord, y Venus Niágara R, se determinó a través de una prueba de escala hedónica verbal, el grado de satisfacción que tenía los

productos procesados en comparación con el jugo de uva (variedad de la especie *V. vinífera*) que se instaló en el mercado. Los resultados muestran que el tratamiento con quitosano aumentó cantidad de sedimentos formados y disminuyendo la turbidez en gran proporción que los demás clarificantes. Se concluyó que, en las condiciones de ensayo, el tratamiento que se clarificó con quitosano en una dosis de 1,5 g/hL fue mejor que los otros agentes clarificantes en los jugos de la variedad Niágara R., Isabel y Venus.

Debido a que el quitosano y sus derivados tienen propiedades antibacterianas y antioxidantes, se proponen para su uso en bebidas como conservantes naturales o agentes encapsulantes activos. Además, estos polisacáridos cargados positivamente son útiles para purificar bebidas y encapsular compuestos bioactivos (Rocha, et al., 2017).

Esta revisión describe los sustratos a base de quitosano usados recientemente para la clarificación, almacenamiento, encapsulación y activación de cápsulas inteligentes de una variedad de bebidas, incluidos jugos de frutas, nectarinas y bebidas alcohólicas, productos lácteos y bebidas no alcohólicas. Fruta concentrada, té, café, té de hierbas. Los posibles usos de los sustratos a base de quitosano en aplicaciones de bebidas deben determinarse considerando las propiedades estructurales y fisicoquímicas del polisacárido (Rocha, et al.,2017).

El quitosano elaborado con camarón se hidrolizó con ácido acético al 7% y se disolvió parcialmente en agua. Se ha demostrado que esta baja concentración de quitosano es eficaz en la producción de varios jugos. Después del tratamiento con quitosano, la apariencia y la solubilidad en agua del jugo aumentaron significativamente en una escala hedónica de 9 puntos (Chatterjee, 2004).

2.2 BASES TEÓRICAS CIENTÍFICAS

2.2.1 Zumo

Es un líquido obtenido; exprimiendo el fruto en condiciones óptimas como propiedades organolépticas de madurez (fragancia, color, sabor, etc.), y estabilizado para su almacenamiento. El jugo se extrae de fruta fresca sana, no contiene sustancias nocivas, no usa pesticidas en condiciones higiénicas (Guevara, 2015).

Según la NTP 203. 110. 2009. Este es un producto sin fermentar, pero se puede fermentar agregando azúcar o agua sin azúcar, miel, almíbar y edulcorantes. Podrán añadirse sustancias aromáticas (naturales, naturales, artificiales o mezclas de las mismas), pulpa y células de la misma fruta si así lo aprueban las autoridades sanitarias nacionales o el Codex Alimentarius. También se debe cumplir el requisito de jugo . Los jugos de frutas mixtas están hechos de dos o más tipos diferentes de frutas.

2.2.1.1 Características del zumo de naranja

El jugo de naranja es ácido y su sabor es natural para las frutas. Es rico en vitamina C (ácido ascórbico). El ácido cítrico o ácido ascórbico y otros nutrientes como la vitamina D y el calcio se agregan a los jugos comerciales. Por tanto, el jugo de naranja se considera más nutritivo debido a la presencia de flavonoides en la pulpa (Baker, 2013). La calidad del jugo de naranja está influenciada principalmente por factores enzimáticos, microbiológicos, físicos y químicos como sabor, sabor, color, turbidez, estabilidad, consistencia, separación de fases (sólido / líquido) y propiedades. Afecta las propiedades sensoriales de. (vitamina). Estos factores pueden deberse a cambios en los productos en la cadena de refrigeración, distribución y almacenamiento.

El jugo de naranja es agrio y tiene el sabor original de la fruta. Es rico en vitamina C (ácido ascórbico). Los jugos comerciales contienen ácido cítrico, ácido ascórbico y otros nutrientes como vitamina D y calcio. Por lo tanto, el jugo de naranja se considera más nutritivo porque la pulpa contiene flavonoides (Baker, 2013).

La calidad del jugo de naranja está influenciada principalmente por enzimas, microorganismos, factores físicos y químicos, estimulando propiedades sensoriales como aroma, sabor, color, turbidez, estabilidad, densidad, separación de fases (sólido/líquido) y propiedades. Estos factores pueden ser causados por cambios de producto en las cadenas de refrigeración, distribución y almacenamiento (Baker, 2013).

El jugo de naranja se considera un alimento ácido (pH bajo). Sin embargo, algunas bacterias, como *Byssochlamys*, pueden sobrevivir incluso a pH bajo y pueden comprometer el sabor final del producto. Requisitos de envasado por tiempo limitado para la vitamina C (Baker, 2013).

2.2.1.2 Usos del zumo de naranja

Uno de los principales usos de los alimentos es como refresco, que es muy utilizado en muchos desayunos en todo el mundo. Sin embargo, forma parte del famoso desayuno inglés. Se utiliza para preparar muchos cócteles. Sus propiedades ácidas hacen que se utilice para preparar salsas como salsa de rosas o para preparar ceviches y aderezos. Se puede utilizar para cocinar alimentos con otros ingredientes, como Baja California en México. En Puerto Rico, es ampliamente conocido por sus

jugos chinos. También se usa jugo de frutas y el jugo de naranja se elabora en una máquina (Baker, 2013).

2.2.1.3 Beneficios del zumo

Las naranjas contienen altos niveles de vitamina C y sustancias con actividad prebiótica. Uno de los efectos beneficiosos de los naranjas más conocidos por los consumidores es su función de refuerzo inmunológico. Se enfatiza la concentración de vitamina C y su capacidad para suprimir procesos virales comunes como el resfriado común (Eroski, 2005).

Las naranjas contienen sustancias con actividad prebiótica. Hasta hace unos años, se sabía poco sobre los alimentos prebióticos y probióticos. Los supermercados de hoy ofrecen una amplia variedad de productos alimenticios basados en estos principios (Eroski, 2005).

Además, todas las frutas contienen ácidos que ayudan a eliminar las toxinas del sistema digestivo, y una desintoxicación de cítricos con el ácido más fuerte (ácido cítrico) y clorofila (Londoño, 2000).

Equilibran el organismo, se vuelven fuertemente alcalinos, restauran el equilibrio del pH del cuerpo y ayudan en la digestión. En este momento, en el proceso de digestión, las enzimas vegetales trabajan junto con las enzimas anteriores para promover la absorción de nutrientes. Los antioxidantes, las frutas y las verduras son ricos en sustancias como el betacaroteno y las vitaminas C y E que ayudan a proteger contra enfermedades degenerativas como el cáncer y las enfermedades (Londoño, 2000).

En el caso de las naranjas y sus jugos, algunas fibras contienen estos prebióticos. La gran atención que atrae se centra en el hecho de que una ingesta regular permite el crecimiento de bacterias beneficiosas en nuestro colon. Esto definitivamente es beneficioso para la salud a largo plazo (Eroski, 2005).

2.2.1.4 Acción antioxidante

La vitamina C cítrica es muy importante. Este componente es inestable debido a la acción del oxígeno del aire o de la luz y se descompone muy rápidamente, frenando la oxidación de la vitamina C. En este sentido, el zumo recién exprimido conserva sus propiedades nutricionales a los pocos minutos de su obtención. Sin embargo, si se almacena en el refrigerador, puede conservar sus propiedades durante unos 30 minutos, pero más que eso, perderá una parte significativa de su actividad antioxidante (Eroski, 2005).

2.2.1.5 Crecimiento de microorganismos

Según Norma Técnica Peruana 203.110.2009 (2009), se han establecido estándares microbianos para jugos y néctares. Los parámetros establecidos para el análisis de microorganismos son moho, levadura, Coliformes.

El jugo de frutas es un medio adecuado para el crecimiento microbiano como sustrato que contiene agua, carbohidratos, ácidos orgánicos, vitaminas y oligoelementos. Estas condiciones permiten principalmente el crecimiento de bacterias de ácido úrico, hongos y levaduras. Entre los cambios que se pueden modificar se encuentran la producción de sabores y aromas extraños, fermentación y acidez plana

(Battey et al., 2002).

El número de microorganismos presentes en la producción de jugo se elimina a un nivel aceptable y se toman medidas de reducción. Esto no solo garantiza la seguridad del producto, sino que también reduce la tasa de deterioro del producto (Maturín y Peeler, 2001).

Se realizan factores como bacterias aeróbicas, moho y levaduras para asegurar que el jugo cumpla con los criterios especificados en cada reglamento y para cuantificar los efectos del proceso de control microbiano. También se realizan otras pruebas para detectar patógenos específicos como E. coli y Salmonella spp. (Maturín y Peeler, 2001).

2.2.1.6 Calidad en los zumos de frutas

El mercado exige ciertos estándares de calidad para los cítricos destinados al consumo y procesamiento industrial. Estas normas son necesarias para evitar la recolección y comercialización inadecuadas de frutas a niveles de calidad inaceptables para los consumidores y para evitar que el olor y el sabor de los jugos cambien (Londoño, 2000).

2.2.1.7 Importancia de la materia prima

Los parámetros de calidad del jugo son de suma importancia ya que el consumidor final lo considera una garantía y lo identifica como una marca y se fideliza por las diferencias en el mercado. Dado que las frutas son productos naturales, los parámetros pueden fluctuar ligeramente debido a factores externos (Londoño, 2000).

Además de las normas relacionadas con la producción de jugo, se deben considerar las normas aplicables a los alimentos relacionadas con el manejo, la higiene y la seguridad de los alimentos. Análisis de peligros y criterios críticos de gestión y prevención de riesgos (Londoño, 2000).

Los parámetros de calidad más utilizados para zumos son:

- ✓ Ácidos
- ✓ °Brix
- ✓ Disacáridos
- ✓ Extracto libre
- ✓ Índice de formol
- ✓ Monosacáridos

Tenga en cuenta que los parámetros de calidad adecuados del jugo, el valor depende del tipo de fruta, la tecnología de procesamiento, así como la madurez, el clima, el lugar de crecimiento, la fertilidad del suelo y otras prácticas agrícolas. y tipo de sistema de crecimiento (Londoño, 2000).

2.2.1.8 Parámetros mínimos de calidad y los métodos de análisis

Con el fin de garantizar el control de calidad comercial del jugo y evitar el fraude al consumidor y la competencia desleal, muchas empresas pueden evaluar como mínimo ciertos parámetros de análisis de la composición, confiabilidad y calidad de la propia fruta (Londoño, 2000).

Para cumplir con los estándares de calidad, el jugo debe tener el color, aroma y sabor característicos de la fruta de origen. La fruta no puede retener más agua debido al lavado, al vapor y

otras operaciones. La autenticidad significa mantener las propiedades físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de la fruta en el producto (Londoño, 2000).

Panel sensorial: Se selecciona un grupo de personas que participarán en la prueba sensorial. Los paneles de consumidores son el grupo ideal para medir la aceptación o preferencia de un producto o grupo de productos. De hecho, puede aplicar al perfil de una gran población de consumidores (Toledo, 2008).

2.2.2 Naranja

Es un cítrico esférico de 6-10 cm de diámetro, con muchos gajos, cada uno con pulpa de diferente color entre naranja y amarillo, varias semillas y muchas células succulentas cubiertas por una capa de piel. Saco. Alternativamente, hay muchas glándulas sudoríparas blancas en la cáscara de naranja que están llenas de aceites esenciales (Toledo, 2008).

La pulpa contiene de 8 a 12 secciones largas dobladas, lo que proporciona un jugo rico y de sabor dulce con algo de acidez según la variedad. Contiene vitaminas principalmente C, así como otras vitaminas como B1, B2, B3, B5, B6 y E. Sales inorgánicas y pectina (Toledo, 2008).

2.2.2.1 Variedades

a. Naranja navel

Es de tamaño grande y se puede consumir desde naranjas brillantes hasta naranjas oscuras, en jugo o fresco (Heredia 2014).

La fruta grande es unisexual. Entre estas, destacan las variedades: Navelina, Novélate, Thompson, Newhall, Lane Late, Washington Navel. En general, tiene buen vigor y se caracteriza por tolerancia al frío y a la cal. Esta variedad tiende a alternar cosechas, pierde su color verde y tiende a acelerar la cosecha. La variedad más cultivada es la navel por su calidad (Gutiérrez, 2009).

b. La naranja valencia:

Se caracteriza por una forma redonda y pesa entre 140 y 180 g. Tiene la piel dura, elástica y áspera. Los tiempos de cosecha fluctúan en julio y agosto en la costa y en la selva. Su cultivo se retrasa y contiene un 50% de néctar y una alta concentración de extracto seco (Londoño, 2000).

b.1 Características de la naranja valencia

Se caracteriza por una pulpa dulce, un amargor suave, menos semillas y una piel lisa y gruesa, adaptándose a las tierras altas de la selva. El frío no favorece su cultivo. Su temprana madurez da un buen rendimiento (Londoño, 2000).

El color de la piel de esta variedad es amarillo pálido y la acidez oscila entre 1,91 y 1,79. ° Brix oscila entre 9,5 y 11,5 y los destinos son los jugos y la industria. En 2002, la producción promedio en Perú fue de 13,26 toneladas (Toledo, 2008).

b.2 Composición Química de la naranja valencia

Los ingredientes de la naranja en una porción comestible de 100 g son: 0,6 g de proteína, 88,5 g de agua, 10,1 g de carbohidrato, 0,2 g de grasa, 0,4 g de fibra, 23 mg de calcio, 0,6 g de ceniza, 51 mg de fósforo, hierro 0,2 mg, riboflavina 0,04 mg, retinol 7 mg, tiamina 0,09 mg, ácido ascórbico reducido en 92,3 mg, niacina 0,36 mg y aportó 40 kcal (Heredia, 2014).

Propiedades fisicoquímicas de las naranjas Valencia en tres etapas de maduración: maduras (8,51 ° Brix, acidez titulada 0,46% con ácido cítrico, índice de madurez 18,92), Pintón (8,1 ° Brix; grado de acidez titulado con ácido cítrico 0,66%, índice de madurez 13,51) y Verde (5,81 ° Brix, ácido cítrico titulado en acidez 0,95%, índice de madurez 5,89) (Heredia, 2014).

c. Naranja Blanca

Los frutos de buena calidad como el Salustiano y el Valencia Late se caracterizan por tener pocas semillas y una buena conservación. Son plantas muy vibrantes con hojas grandes que producen toques verticales dentro del dosel (Gutiérrez, 2009).

d. Naranja Sanguinas

Cultivada en el Mediterráneo, sus características se asemejan a las de la variedad “blanca”, que se distingue por su pulpa interna roja (Heredia 2014).

Esta variedad, como Sanguinelli, es muy productiva y en la fructificación predomina el crecimiento vegetal. Esa escena es corta. El tratamiento con berenjena se debe a la mala circulación de líquidos. (Gutiérrez, 2009).

2.2.2.2 Composición química y valor nutricional

Gonzales (2009). Las naranjas son un alimento bajo en grasas con un 87% de contenido de agua y un contenido moderado de proteínas (Tabla 1). Se considera una excelente fuente de fibra y vitamina C. Los principales tipos de carbohidratos incluyen glucosa, fructosa, sacarosa y pectina.

Tabla 1: Contenido de valor nutricional de la naranja.

Componente	Contenido (%)
Proteína	0.8
Agua	87.0
Hidratos de carbono	10.5
Grasas	0.2
Vitaminas, minerales	1.5

Fuente: González (2009).

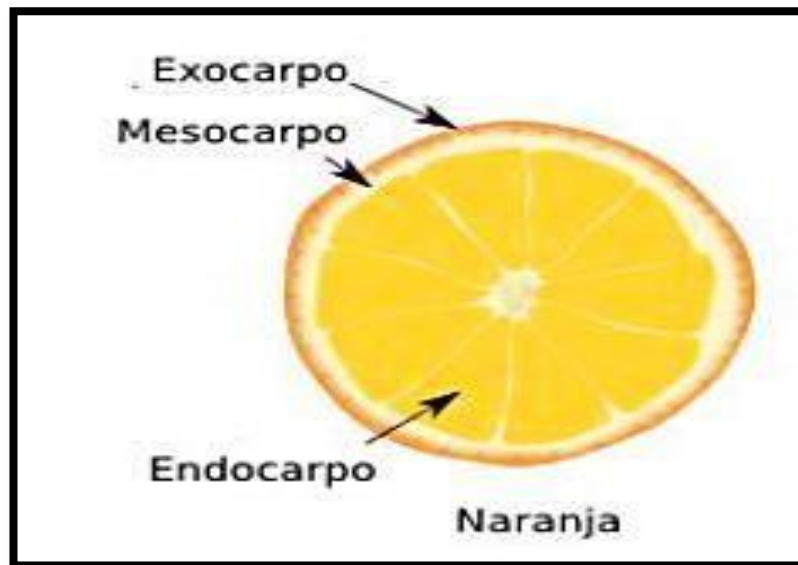


Figura 1. Morfología de la naranja, exocarpo, mesocarpo y endocarpio (Megías y Molist 2018).

La naranja es enriquecida en vitamina C, es muy importante en la formación de huesos, glóbulos rojos, colágeno, dientes, y favorece la absorción de hierro, produce resistencia a las enfermedades, es una fuente de folatos que contribuye a la formación normal de las células sanguíneas. Además, las naranjas aportan carotenoides y posee actividad provitamínica (principalmente β -criptoxantina). También contiene otros carotenoides sin actividad provitamínica, como la luteína y la zeaxantina. Las naranjas son ricas en flavonoides. En la tabla 2 representa la composición de 100 g comestible de naranja (Monreal, 2018).

Tabla 2: Composición nutricional de naranja por 100 g de porción comestible.

Nutrientes Componentes principales (g)	Naranja con cáscara	Naranja sin cáscara
Proteínas	1.3	0.94
Agua	82.30	86.75
Cenizas	0.60	0.44
Lípidos totales	0.30	0.12
Calcio	70	
Hierro	0.80	40
Fósforo	22	10
Magnesio	14	0.10
Potasio	196	14
Cobre	0.057	0.07
Zinc	0.11	0
Sodio	2	181
Tiamina	0.100	0.087
Vitamina C	71	53.2

Fuente: Monreal (2018).

2.2.2.3 Cultivo

Los principales factores que influyen son la temperatura, la humedad, el suelo, el brillo y la relatividad. La calidad de las naranjas tiene un gran impacto en su crecimiento, por lo que depende de la temperatura. Para que la fruta madure correctamente, debe soportar temperaturas moderadas y bajas durante el verano. A temperaturas entre 10 ° C y 40 ° C, los frutos cítricos son óptimos para el crecimiento y buena fructificación (Samaniego et al., 2004).

Los árboles de cítricos se cultivan en suelos de textura ligera, pero plantarlos en suelos de textura pesada ralentiza su capacidad de drenaje, lo que provoca enfermedades fúngicas y árboles afectados en el proceso. Los suelos deben tener un pH entre 5,5 y 6, suficiente para el crecimiento de las plantas, y los valores entre 4 y 9 varían considerablemente (Molina, 2000).

2.2.3 Quitosano

Es un polímero natural obtenido de la quitina y es uno de los formadores de biopelículas más abundantes de la naturaleza. La quitina se encuentra en estructuras de soporte en organismos como moluscos, artrópodos y hongos (Zambrano, 2016).

Muchos consideran al quitosano como un excelente espesante; es el espesante de tratamiento de jugos y aguas (Tastan, 2015).

La quitina y el quitosano son materiales ampliamente utilizados en muchas aplicaciones como la agricultura, la medicina, el tratamiento del agua, la cosmética y la alimentación (Mármol et al., 2011).

Es una excepción para ser utilizado como floculante, coagulante y blanqueador en procesos de agua y bebidas de frutas para este estudio, por lo que es un ingrediente con propiedades comestibles. Sí, respetamos el medio ambiente. Esto demuestra que es muy importante en el camino del reciclaje. Debido a los ricos residuos de mariscos de los que se derivan. La quitina ha sido evaluada como adsorbente para colorantes de vino y compuestos fenólicos (Mármol et al., 2009)

Este material tiene una ventaja competitiva basada en una estrategia de diferenciación, y las cáscaras de camarón y otros crustáceos dominan el mercado porque son desechos orgánicos generados por la pesca. Son la principal materia prima de las líneas de producción. El producto final también es respetuoso con el medio ambiente como agente formador de biopelículas, a diferencia de algunos polímeros existentes, que tienen un tiempo de degradación prolongado (Tastan, 2015).

El uso de quitosano en el campo farmacéutico tiene las ventajas de baja densidad, estructura porosa, bajo costo, hidrofobicidad, biocompatibilidad y baja toxicidad (Tastan, 2015).

Una de las interesantes propiedades físicas que crea es que es insoluble en agua, bases y disolventes orgánicos. Esta es una característica que ha generado un gran interés en la industria biotecnológica (Salas, 2016).

El quitosano permite la liberación controlada de fármacos. Mientras tanto, los derivados del quitosano también están disponibles como un medio adecuado para la inyección intramuscular de vacunas genéticas (Zambrano 2016).

2.2.3.1 Antimicrobianos de origen natural

Ciertos agentes antibacterianos naturales se encuentran principalmente en plantas, hierbas y especias para matar o prevenir el crecimiento de microorganismos en los alimentos. Los alimentos contienen compuestos antimicrobianos naturales, pero sus usos incluyen aislar, purificar y estabilizar (Beuchat, 2001).

Los antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen en:

2.2.3.1.1 **Origen animal:** Las proteínas y enzimas como lipasas, lisozima, polisacáridos y proteasas como el quitosano (Beuchat, 2001).

2.2.3.1.2 **Origen vegetal:** Estos incluyen ácidos visibles en tallos, cortezas, flores, hojas y frutos, y compuestos fenólicos en fitoalexinas producidas por las mismas plantas (Beuchat, 2001).

2.2.4 Clarificación de jugo de naranja

Este es un proceso que elimina las impurezas coloidales disueltas de la suspensión o es insoluble y propenso a la coagulación y aglomeración. Se utilizan medios mecánicos y químicos, incluida la sedimentación y el asentamiento, para obtener jugos claros (Marín, 2012).

El objetivo principal del proceso de sedimentación es formar un témpano que debe atrapar toda la materia en suspensión y minimizar el lodo requerido para la producción y asentarse rápidamente en un jugo claro con un valor de turbidez bajo. y el contenido de iones de calcio disueltos (Marín, 2012).

2.2.5 Etapas de la clarificación de jugo

Es el procedimiento que elimina gran cantidad de impurezas diferentes, comprende dos procesos principales:

2.2.5.1 **Purificación física:** El exprimidor implica la separación de impurezas como el azúcar de caña o sustancias extrañas (Giraldo, 2005).

2.2.5.2 **Purificación química:** La reacción química entre el jugo y la sustancia química de entrada elimina las impurezas solubles, insolubles o coloidales (Giraldo, 2005).

2.2.5.3 **Propósitos de la clarificación del jugo:** En general, la purificación del jugo produce jugo de alta calidad (valor mínimo de turbidez), así como la temperatura adecuada, el pH y la temperatura adecuados, el pH y para maximizar la combinación, precipitación de impurezas solubles, insolubles o coloidales. Está destinado a proporcionar una concentración de iones (Marín, 2012).

2.2.6 Norma técnica peruana 203.110.2009 para jugos, néctares y bebidas de fruta.

Esta Norma establece los requisitos que deben cumplir los jugos, néctares y bebidas de fruta envasada para consumo directo y es aplicada a los mismos (NTP.203.110.2009).

2.2.6.1 Los propósitos de la Norma Técnica Peruana se aplican las siguientes definiciones:

Las normas técnicas peruanas aplican las siguientes definiciones:

2.2.6.1.1 El jugo de fruta se obtiene como sigue: Jugo obtenido directamente por extracción mecánica.

2.2.6.1.2 Factores esenciales de composición y calidad

a) Composición: En ambos casos se aplica el valor mínimo de °Brix. Para preparar el jugo, debe reconstituir el jugo concentrado. Esto debe ajustarse al nivel mínimo de °Brix definido, con la excepción de sólidos y aditivos opcionales para ingredientes adicionales.

b) Criterios de calidad: Los jugos, néctares y bebidas de frutas deberán tener el color, aroma y sabor característicos del jugo del mismo tipo de fruta de la cual proceden.

2.2.6.2 Requisitos específicos para los jugos de frutas:

1. El zumo puede ser turbio, claro o clarificado y debe tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede.
2. El zumo debe estar exento de olores o sabores extraños u objetables.
3. El zumo de fruta debe tener un pH < 4.5 (determinado según la Norma ISO 1842) (NTP.203.110.2009).

2.2.6.3 Requisitos físico químicos de los jugos de frutas

De acuerdo a la NTP (Norma Técnica Peruana 203.110.2009) para jugos, néctares y bebidas de frutas deben contener una cantidad de sólidos solubles o grados °Brix debe ser 10 °Brix medidos mediante lectura refractométrica a 20 °C. El pH =4.5 es leído a 20 °C y la acidez titulable expresada como ácido cítrico anhidro en porcentaje, no debe ser inferior a 0.2%.

Tabla 3: Contenido mínimo de sólidos solubles (°Brix) para jugos y bebidas de fruta

Nombre Botánico	Nombre común de la fruta	Nivel mínimo de grados °Brix para jugo de fruta (a partir de exprimidos)
<i>Anacardium occidentale L.</i>	Manzana de acajú	10
<i>Ananas comosus (L.) Merrill</i> <i>Ananas sativis L. Schult F.</i>	Piña	10
<i>Annona muricata L.</i>	Guanábana, Cachimón espinoso	14,5
<i>Annona squamosa L.</i>	Anona blanca	14,5
<i>Averrhoa carambola L.</i>	Carambola	7,5
<i>Citrus sinensis (L.)</i>	Naranja	10
<i>Carica papaya L.</i>	Papaya	7
<i>Citrullus lanatus (Thumb.) Matsum & Naki var. Lanatus</i>	Sandía	8,0

Fuente: Norma Técnica Peruana 203.110.2009

2.2.6.4 Requisitos microbiológicos para jugos, néctares y bebidas de frutas.

Tabla 4: Norma Técnica Peruana 203.110.2009 que establece criterios microbiológicos para Jugos, Néctares y Bebidas de Frutas.

Criterio microbiológico	N	m	M	C	Método de Ensayo
Coliformes (NMP/ cm^3)	5	<3	--	0	ICMSF
Recuento estándar en placa (UFC/ cm^3)	5	10	100	2	ICMSF
Recuento de mohos (UFC/ cm^3)	5	1	10	2	ICMSF
Recuento de levaduras (UFC/ cm^3)	5	1	10	2	ICMSF

Fuente: Néctares y Bebidas De Fruta. Requisitos, (203.110:2009)

En donde:

- N = Número de muestras por examinar.
- m = Índice máximo permisible para identificar el nivel de buena calidad.
- M = índice máximo permisible para identificar el nivel aceptable de calidad.
- c = Número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.

2.2.6.5 Características organolépticas

- a) Color: Es el único rasgo sensorial que se puede medir de manera más eficaz con un instrumento que con la vista. Hay colorímetros diseñados específicamente para alimentos como frutas, granos y alimentos en polvo, pero son costosos y

requieren un manejo cuidadoso y cuidado profesional. (Zambrano 2016).

- b) Sabor: El sabor de los alimentos es el resultado de la percepción de estímulos gustativos debido a la presencia de componentes volátiles y no volátiles de los alimentos apreciados en la boca. El sabor se siente principalmente en la lengua, pero también en la cavidad bucal (paladar blando, pared retrofaríngea, epiglotis). El gusto de la lengua registra cuatro gustos básicos: agridulce, salado, amargo, demasiado dulce en la punta en algunas zonas de la lengua y amargo al final, salado y ácido al final (Zambrano 2016).

- c) Pruebas de Aceptación: La llamada aceptación deseada de un producto por parte de un individuo depende no solo de la impresión agradable o desagradable que recibe un individuo al probar el producto, sino también de los aspectos culturales y químicos (Marítimo, 2012).

2.2.7 Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005)

Es la compilación de todas las normas, códigos de comportamientos, directrices y recomendaciones de la comisión del Codex Alimentarius que es el más alto organismo internacional en materia de normas de alimentación. La comisión es un organismo subsidiario de la organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (FAO) y de la organización mundial de la salud (OMS) (CODEX STAN 247-2005).

2.2.8 Guía técnica sobre criterios y procedimientos microbiológicos de superficies de alimentos y bebidas (DIGESA-2001).

La presente Guía Técnica establece los criterios microbiológicos y los procedimientos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies que están en contacto o en relación con los alimentos y bebidas destinados al consumo humano (DIGESA, 2001).

Es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de vigilancia y control sanitario por parte de la Autoridad Sanitaria, que evalúa la efectividad de los programas de higiene y saneamiento (PHS) y de las prácticas de higiene en la manipulación de los alimentos, según el ámbito de su competencia y referencial para las personas naturales y jurídicas en las operaciones de control sanitario que realizan análisis microbiológico: Procedimientos que se siguen para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación (DIGESA, 2001).

2 MATERIALES Y METODOS

2.2 Materia prima, insumos, materiales y Equipos:

2.2.6 Materia prima e insumos:

- ✓ Jugo de naranja
- ✓ Quitosano

2.2.7 Materiales:

- ✓ Micropipeta
- ✓ Placas Petri
- ✓ Mechero de bunsen
- ✓ Láminas
- ✓ Asas bacteriológicas
- ✓ Agitador
- ✓ Matraz de fondo redondo.
- ✓ Tubos de cultivo
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Agua peptonada
- ✓ Cuchara espatulada de metal.
- ✓ Botellas de 300 ml
- ✓ Balanza
- ✓ Cuchillo
- ✓ Ollas
- ✓ Embudo de decantación.
- ✓ Exprimidor
- ✓ Coladera
- ✓ Cocina
- ✓ Piseta.
- ✓ Alcohol
- ✓ Papel Toalla
- ✓ Probetas.
- ✓ Vaso de precipitación.
- ✓ puntas para micropipetas 100 y 1000 mml

2.2.8 Reactivos

- ✓ Agar PDA (Potato Dextrosa Agar)
- ✓ Agar MANCONEY
- ✓ Agar Plate count

2.2.9 Equipos

- ✓ PH-metro
- ✓ Refractómetro
- ✓ Turbidímetro
- ✓ Autoclave
- ✓ Incubadora
- ✓ Cámara de Flujograma laminar

2.3 Método de investigación

La presente investigación se realizó en 3 etapas, primero en la obtención del zumo de naranja (*Citrus sinensis*), en la segunda la adición del quitosano y la tercera etapa se procedió a evaluar las características fisicoquímicas, organolépticas y microbiológicas del zumo tratado.

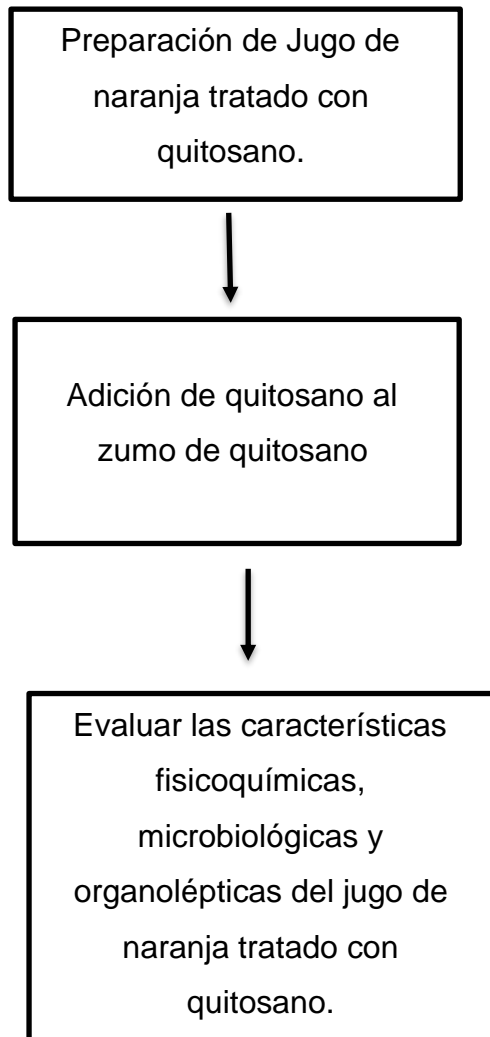


Figura 2: Flujograma de las fases del proceso experimental del proyecto.

2.4 Proceso de elaboración de zumo de naranja (*Citrus sinensis*) tratado con quitosano.

Las naranjas (*Citrus sinensis*) de la variedad valenciana, seleccionadas por sus especiales propiedades organolépticas como sabor, olor y color, fueron adquiridas en el mercado local de la ciudad de Tumbes. Para su procesamiento, se compraron 50 naranjas y se transfirieron al laboratorio de la Facultad de ingeniería agroindustrial en la Universidad Nacional de Tumbes. La figura 3 indica el flujograma de operaciones del proceso en estudio.

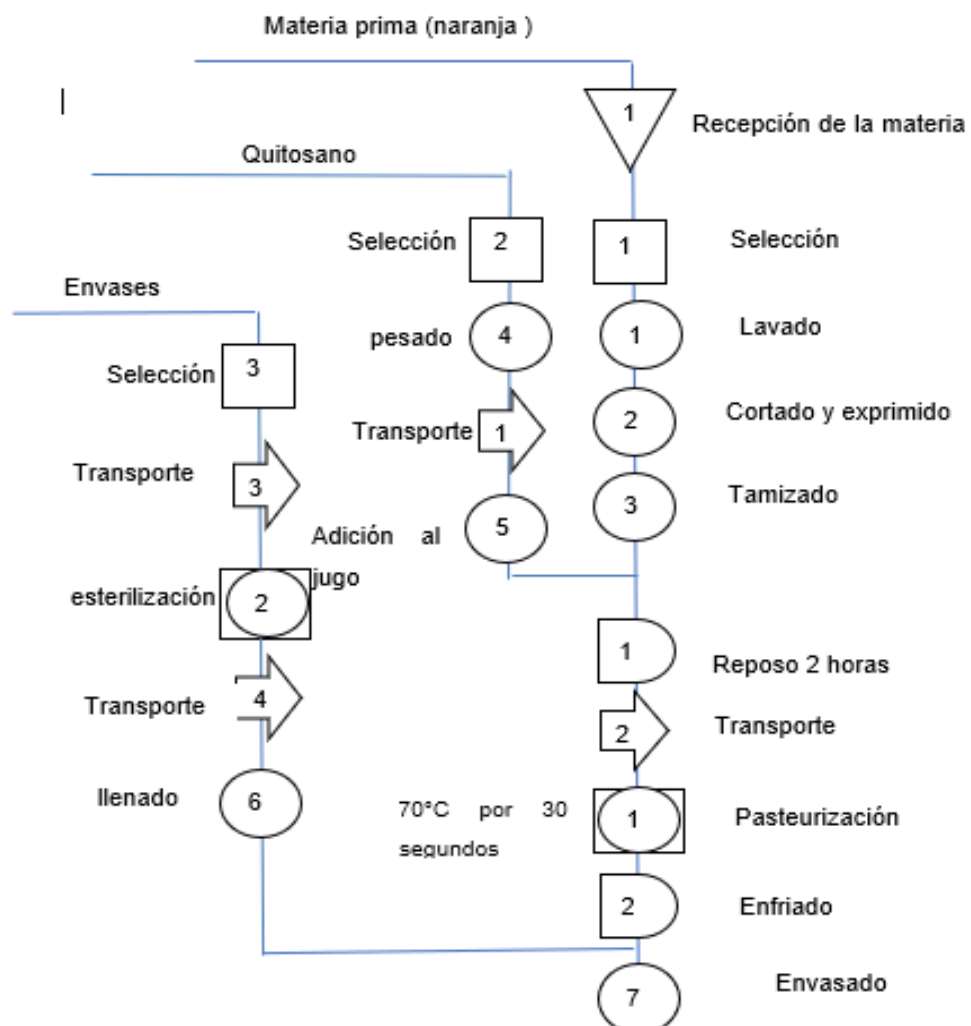


Figura 3: Flujograma de la elaboración de jugo de naranja tratado con quitosano.

2.5 Descripción de elaboración del zumo de naranja

1. Recepción: Se compró la materia prima (anexo 1.1), en este caso la naranja de la variedad Valencia.
2. Selección: En este paso se seleccionan naranjas con madurez óptima y sin daño superficial, daño interno o podredumbre (anexo 1.2). Esto afecta la calidad y el sabor del jugo.
3. Limpieza: Para eliminar las impurezas, realizamos una limpieza y usamos una solución de hipoclorito de sodio al 1%.
4. Cortar y exprimir: Cortamos la naranja por la mitad y obtuvimos 4 kg de zumo o zumo de naranja con un exprimidor.
5. Tamizado: Pasar por un tamiz para quitar las semillas y cáscaras que puedan ocurrir durante el proceso de extracción del jugo de naranja. En esta etapa de prensado.
6. Adición de quitosano: El quitosano DUTRA GREEN tiene una viscosidad de 400 mPa.s. en polvo con pesos de 300,600 y 900 mg / L añadidos por litro de zumo de naranja
7. Reposo: Una vez que el filtro esté completo, dejamos por 2 horas y verificamos que los sólidos en suspensión comiencen a gelificarse en el jugo.
8. Pasteurización: Se ha realizado la pasteurización para eliminar los microorganismos patógenos para garantizar la calidad y la seguridad. Este proceso se llevó a cabo a 70 ° C durante 30 segundos.
9. Enfriamiento: El jugo se enfría a 4 ° C y se envasa en un recipiente de vidrio para su posterior almacenamiento.

10. Envasado: El jugo se coloca en un recipiente de vidrio de 200 ml (Anexo 1.11) a 4 ° C (refrigerado) para almacenar el producto y mantener los parámetros establecidos para las propiedades sensoriales.

2.6 Tratamientos

Se realizó 4 tratamientos con 5 repeticiones cada una solo variando la concentración de quitosano.

Tabla 5: Tratamientos según las concentraciones de quitosano.

Tratamientos	Concentraciones de quitosano mg	Número de Repeticiones
T1	300	5
T2	600	5
T3	900	5
MR	0	1

2.7 Análisis físico-químico

Los análisis fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio de análisis ambiental de la Universidad Nacional de Tumbes con los diferentes equipos.

- Determinación de la Turbidez AOAC (1993).
- Determinación de pH método AOAC (1993).
- Determinación de sólidos solubles (°Brix) método AOAC (1993).

2.7.1 Determinación Turbidez

Se calibró el turbidímetro (Anexo1.14), se agregó la muestra de jugo de naranja para cada tratamiento. Y se procedió a dar lectura a la cantidad, expresada en NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

2.7.2 Determinación pH

En la medición de pH (Anexo 1.12), la muestra se colocó en un vaso de precipitado y se midió con un potenciómetro, método AOAC (1993).

2.7.3 Determinación °Brix

Sólidos solubles, se determinó mediante un refractómetro manual (Anexo 1.13) expresado en grados °Brix o porcentaje de azúcar AOAC (1993).

2.8 Análisis organoléptico

A través de una prueba hedónica (Anexo 2) se evaluó el color, sabor, olor y aceptabilidad del zumo tratado; con la participación de 30 alumnos no adiestrados de la Universidad Nacional de Tumbes.

2.9 Análisis Microbiológico

2.9.1 Recuento de mohos y levaduras UFC/cm³

Se utilizó agar PDA en placas de Petri preesterilizadas de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de preparar la cantidad de agua de peptona requerida, colocarlo en un recipiente resistente al calor y homogeneizarlo, se suspende en la autoclave sin cerrar completamente el tapón de rosca. El entorno se prepara de la siguiente manera.

Luego de pesar el agar, se disolvió en agua destilada (anexo 1.15) y se colocó en el reverbero con un agitador magnético hasta que llegue a punto de ebullición. La cantidad requerida de PDA es 58,5 g y agua destilada 1500 ml. Se dejó enfriar y se colocó en la autoclave por 1 hora (Anexo 1.17).

Se plaqueó en la cámara de flujo laminar utilizando el mechero Bunsen (Anexo 1.21), se desinfectó con alcohol y se colocó en rayos UV por 10 min antes de empezar a plaquear.

Para las diluciones se usó agua peptonada 12,75 g (anexo 1.18) y agua destilada 500 ml, luego se colocó en la autoclave.

Se agregó 9 ml de la dilución de agua peptonada en los tubos de ensayos (Anexo 1.19) mediante una micropipeta, para cada dilución se usó una pipeta diferente, asas de Digralski esterilizadas y todo el ambiente dentro de la cámara de flujo laminar, correctamente desinfectado.

Extrayendo 1 ml de la muestra original, diluyendo en 9 ml de agua peptonada y así sucesivamente con las diferentes pipetas de la dilución anterior, agregar 1 ml hasta la dilución de 10^{-3} . Una vez realizada la siembra se colocará en la cámara de incubación a 24 °C (DIGESA, 2001).

2.9.2 Coliformes UFC/ml

Se extrajo 1 ml de cada muestra de jugo a analizar de la misma cámara de cultivo que el diluyente preparado con agar MacConkey y se extrajo el medio completamente estéril, se recubrió en una placa, se homogeneizó en la superficie y se colocó en la cámara de incubación a 37°C durante 24 horas (Anexo 1.23).

Se disolvió el agar en agua destilada (Anexo 1.15) y colocamos en el reverbero con un agitador magnético hasta que alcance el punto de ebullición. MacConkey requiere 76,5 g y 1500 ml de agua destilada.

Se enfría y coloca en la autoclave por 1 hora. En la autoclave se esterilizaron las pipetas, tubos de ensayo (Anexo 1.17).

La cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol y se esterilizó con rayos UV por 10 min, para realizar el plaqueo se usó el asa de Digralski y mechero bucen (Anexo 1.21).

Se extrajo 1 ml de la muestra original fuera de la placa de cultivo. Una vez finalizada la siembra, se colocaron en incubadora a 24 ° C (Anexo 1.21) (DIGESA, 2001).

2.9.3 Aerobios Mesófilos

En este análisis se utiliza el agar Plate Count (PCA) según las indicaciones del fabricante:

Disolver el agar en agua destilada (Anexo 1.15) y agregar al matraz con un agitador magnético hasta alcanzar la masa y el punto de ebullición. La cantidad necesaria de contraplacas es de 56,4 g y 2400 ml de agua destilada. Se dejó reposar y se colocó en autoclave a 121 ° C durante 1 h.

En la cámara de flujo laminar se desinfectó con alcohol y esterilizó con rayos UV por 10 min, para realizar el plaqueo se usó el asa de Degralski y mechero Bunsen (anexo 1.20).

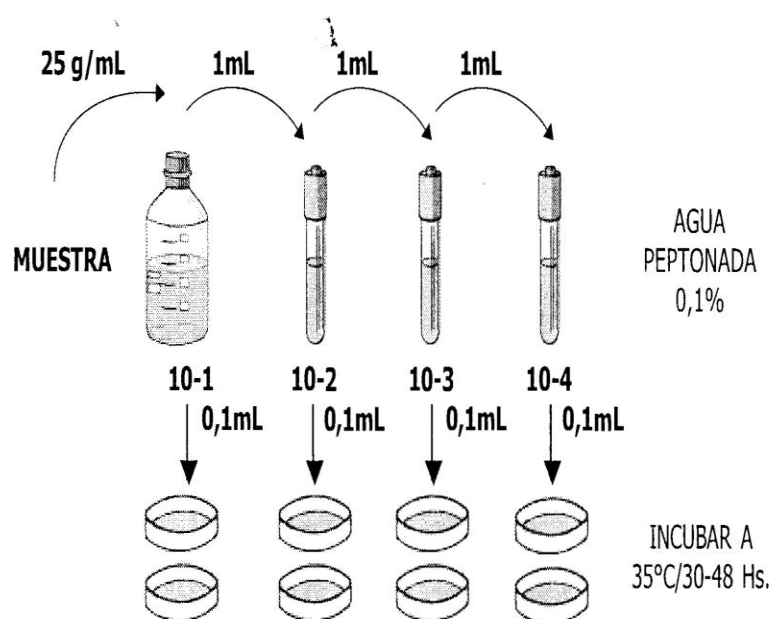
Verter el agar fundido, incubar a 44-46 ° y mezclar con el inóculo hasta que esté homogéneo. El tiempo entre la dilución y la infusión del medio no debe exceder los 20 minutos, preferiblemente menos de 10 minutos. Para comprobar la esterilidad, prepare una o más placas que contengan medio y diluyente sin inoculación.

El período de incubación ha expirado. Una vez fraguado el agar, voltear la placa e incubar a 35 ° C durante 48 horas (DIGESA, 2001).

Se midió una muestra de 10 ml, se añadió a 9 ml de agua con peptona al 0,1% y se trató durante 30 s. Dado que se desconoce el número aproximado de bacterias en el jugo, la dilución puede variar dependiendo del número esperado de microorganismos a preparar. Sin embargo, todavía necesita sembrar tres diluciones. Pipetee 1 ml de cada diluyente en una placa estéril codificada apropiadamente con una proporción de dilución de 10-1 a 10-3. Para la dilución, utilice 12,75 g de agua de peptona y 500 ml de agua destilada. Luego se colocó en la autoclave (anexo 1.16). Finalizando este proceso se incuba a 24 °C (anexo 1.23) (DIGESA, 2001).

Figura 4. Flujograma de las diluciones empleadas para el aislamiento de microorganismos (DIGESA, 2001).

2.9.3.1 Numeración de microorganismos aerobios mesófilos



El método utilizado para calcular el recuento aeróbico medio es el método de recuento en placa estándar, también conocido como método de recuento en placa aeróbica o método de recuento de placa total media (DIGESA, DIGESA). 2001).

En los métodos de recuento en placa utilizados para la enumeración de grupos de microorganismos que se multiplican dentro de rangos de temperatura diferente, debe especificarse la temperatura de incubación; estos rangos de temperatura son: 0-7 °C para los psicrófilos, 30-35 °C para los mesófilos y 55°C para los termófilos (DIGESA, 2001).

Un recuento a 25-30°C proporcionaría la información más adecuada sobre a limpieza y desinfección observadas en laboratorios de industrias de alimentos; un recuento a 35-37°C reflejaría el grado de contaminación y/o multiplicación de mesófilos. Cualquiera que sea la temperatura de incubación elegida, es fundamental su control en todos los procedimientos de recuento (DIGESA, 2001).

Dos placas corresponden a una dilución de 30-300 colonias seleccionadas. Se contaron todas las colonias de cada placa. Luego multiplique el resultado por el factor de dilución (DIGESA, 2001).

2.9.3.2 Método de tinción Gram

1. Fijamos el frotis de bacterias en una lámina de vidrio portaobjetos (anexo 1.29).
2. Cubrimos el frotis con unas gotas de la solución cristal violeta por 1 a 3 minutos (anexo 1.31).
3. Enjuagamos con agua de caño con chorro suave.
4. Aplicamos unas gotas de solución de Lugol por 1 minuto (anexo 1.31).
5. Decoloramos con alcohol acetona (dejando fluir el alcohol sobre el frotis por 3 a 12 segundos) y enjuagamos inmediatamente hasta eliminar el exceso de tinte.
6. Aplicamos la safranina por 30 segundos (colorante de contraste) (anexo 1.31).
7. Enjuagamos inmediatamente y se deja secar, llevándolo a examinar al microscopio con una gota de aceite de cedro y objetivo de inmersión. observamos los resultados (DIGESA, 2001).

3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS:

Se realizaron pruebas para medir los niveles de pH, °Brix, turbidez del zumo de naranja tratado con las diferentes concentraciones de quitosano.

3.1.1 Determinación de pH

Los resultados de la Tabla 6 del zumo de naranja antes de agregar el quitosano en el día 1, obtuvimos los valores de los tres tratamientos y la muestra referencial presenta una mínima diferencia lo cual podemos respaldar en los resultados de pH de la investigación que hizo (Lárez, 2006).

Tabla 6: pH del zumo de naranja sin adición de quitosano día 1.

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	3.91					3.91
T1, SQ	3.93	3.92	3.92	3.92	3.91	3.92
T2, SQ	3.91	3.88	3.92	3.92	3.90	3.91
T3, SQ	3.94	3.93	3.92	3.92	3.89	3.92

MR= muestra referencial.

T1, SQ= tratamiento 1 sin quitosano.

T2, SQ= tratamiento 2 sin quitosano

T3, SQ= tratamiento 3 sin quitosano

El pH del jugo de naranja con 300,600 y 900 mg / L de tratamiento con quitosano en el primer día fue de 3.89, 3.88, 3.85 y 3.80%, que no fueron significativamente diferentes. Esta especificidad se observó en todas las etapas de la evaluación. Esto significa que el quitosano no afecta la conversión del jugo de naranja en hidrógeno potencial. De acuerdo con otros estudios que se refieren al quitosano como un compuesto que normalmente es soluble en medios ácidos, la carga positiva generada por el quitosano se disuelve en estos medios mediante la protonación de los grupos amina (Lárez, 2006).

Tabla 7: pH del zumo de naranja después de 2 horas de reposo

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	3.87					3.87
T1(300)	3.88	3.87	3.88	3.89	3.87	3.88
T2(600)	3.90	3.89	3.91	3.87	3.86	3.89
T3(900)	3.92	3.91	3.93	3.92	3.93	3.91

La tabla 7 muestra los resultados del análisis del día 1 con 2 horas de reposo después de agregar el quitosano. Los promedios entre los 3 tratamientos y la muestra referencial MR indican una acidificación ligeramente mayor entre los 3 tratamientos con menor concentración de quitosano, mientras que el T3 ha mantenido de pH con una disminución promedio de 0.1 pH.

Según Naranjo y Reyes (2015), mencionó que el pH cambia según el grado de quitosano utilizado en las bebidas de naranja. Esto significa que a medida que disminuye el quitosano, el pH disminuirá, haciendo que el quitosano sea menos ácido.

Al obtener los promedios de la Tabla 8 entre los 3 tratamientos y la muestra referencial el nivel de pH ha disminuido más que los demás tratamientos. Luego, la disminución en T1 ha sido 3.84 mayor que el T2 que fue 3.88 y esta a su vez mayor que en el T3 con un pH de 3.90.

Tabla 8: pH del zumo de naranja después de 15 días de conservación en refrigeración.

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	3.81					3.81
T1	3.82	3.84	3.85	3.83	3.84	3.84
T2	3.90	3.88	3.86	3.87	3.9	3.88
T3	3.91	3.90	3.87	3.91	3.92	3.90

Al comparar los resultados, del comportamiento del pH del zumo de naranja (Tabla 6, 7 y 8), después de 15 días de conservación de las muestras tratadas con diferentes concentraciones de quitosano, apreciadas en el Gráfico 1; se observa que el tratamiento 3 presenta una leve disminución de su pH al ser comparado con el tratamiento 1 antes de agregar quitosano al zumo en el primer día y el tratamiento 2 cuando agregan el quitosano reposando 3 horas. A medida que la concentración de quitosano ha disminuido, su pH disminuye levemente. El tratamiento que más ha conservado su pH es el tratamiento 3 con concentración de 900mg/L de quitosano (3.92 ,3.91 y 3.90), siendo el tratamiento más recomendable para la conservación de zumo de naranja. Según otra investigación se menciona que el quitosano es un biopolímero muy soluble en concentraciones ácidas, las cargas positivas que caracterizan al quitosano por la presencia de su grupo amino, lo hacen soluble en estos medios, también le otorga propiedades antimicrobianas (Lárez & Velásquez, 2006).

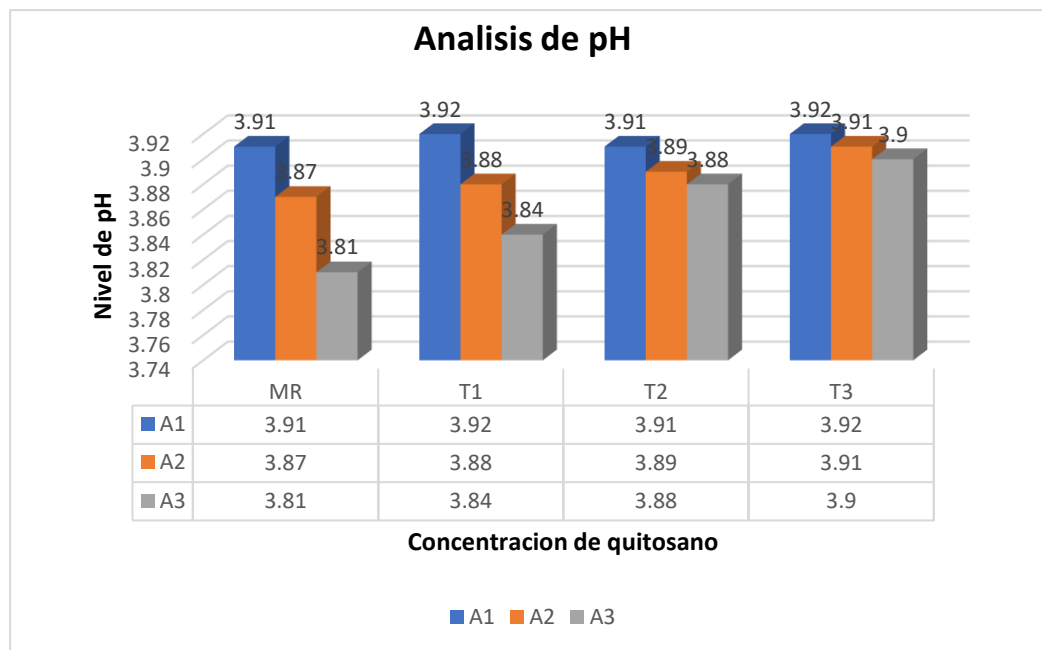


Gráfico 1. pH del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano.

3.1.2 Nivel de Sólidos totales (°Brix)

En los valores de la Tabla 9, se puede observar que el incremento de la concentración de quitosano en los tratamientos, provocó una disminución de azúcares totales registrándose una mayor disminución de los °Brix en las muestras tratadas, mientras que la muestra referencial presentó una leve disminución.

Tabla 9: Sólidos totales (°Brix) del zumo de naranja sin adición de quitosano día 1.

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	11.3	-	-	-	-	11.3
T1 SQ	11.4	11.5	10.9	11.2	11.4	11.3
T2 SQ	10.8	11.6	10.9	11.3	11.5	11.2
T3 SQ	11.5	10.9	11.0	11.6	11.3	11.3

Tabla 10: °Brix del zumo de naranja después de 2 horas de reposo con quitosano día 1

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	11.1	-	-	-	-	11.1
T1 (300)	10.7	10.9	10.7	10.8	10.8	10.8
T2 (600)	10.4	10.5	10.3	10.9	10.7	10.6
T3 (900)	10.6	10.2	10.5	10.2	10.3	10.4

Los promedios de los °Brix entre los 3 tratamientos y la muestra referencial no presentaron diferencia considerable.

Los valores medios que se encuentran en la Tabla 11 indican que la muestra de control experimentó una reducción significativa en los grados °Brix, mientras que el tratamiento con altas concentraciones de quitosano probablemente mantuvo los grados °Brix. Este es el resultado Chatterjee et al., (2004).

Tabla 11: Sólidos totales (°Brix) del zumo de naranja después de 15 días de conservación en refrigeración.

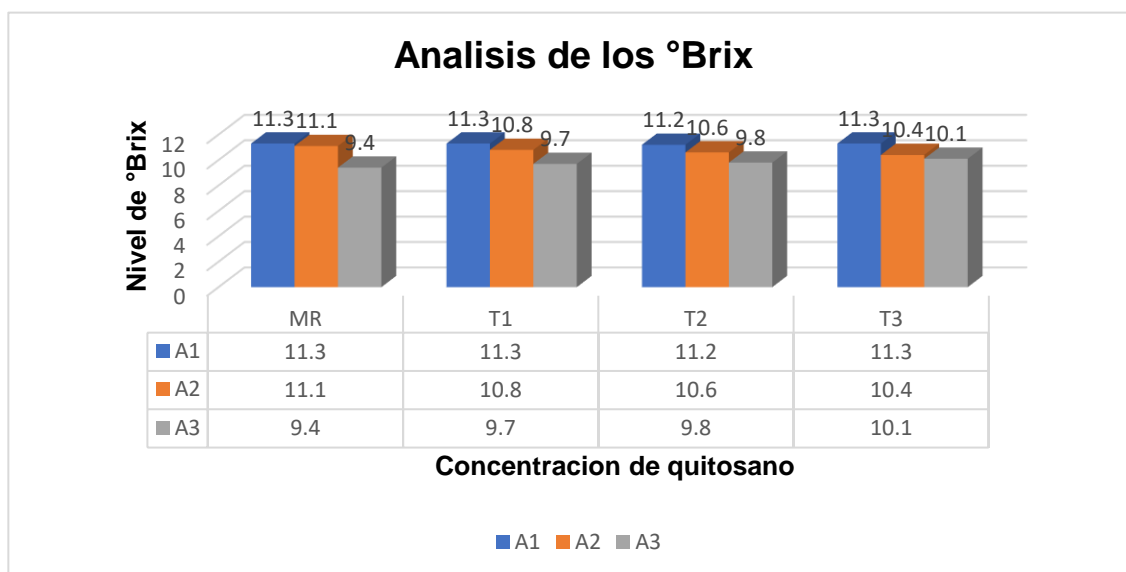
Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	9.4	-	-	-	-	9.4
T1 (300)	10.1	10.0	9.9	10.1	9.8	9.7
T2 (600)	9.9	9.8	9.8	9.9	9.6	9.8
T3 (900)	10.0	10.1	10.1	10.2	10.1	10.1

Luego de obtener los resultados de los tres análisis. Al comparar el análisis 1, el cual corresponde al día 1 que no posee quitosano, y el análisis 2, que corresponde a 3 horas de reposo luego de agregar quitosano. En el Gráfico 2 se observa que después de sedimentar 2 horas el °Brix han disminuido mucho más a medida que se le aumenta la concentración de quitosano. Indicando que sedimenta una mínima cantidad de azúcares para reducir la turbidez; Duran *et al.*, (2016).

El quitosano redujo ligeramente los ° Brix en comparación con el valor inicial del jugo. En este caso, lo mismo ocurre con la muestra de referencia.

En el análisis 3 después de 15 días de conservación Gráfico 2 se puede ver que a mayor concentración de quitosano los °Brix se han conservado mucho mejor indicando que el quitosano si funciona como conservante inhibiendo el consumo de azúcares por parte de microorganismos.

Gráfico 2. Sólidos totales (°Brix) de zumo de naranja con diferentes concentraciones de quitosano



3.1.3 Nivel de turbidez

Según Duran, (2016); Se ha demostrado que la aplicación de quitosano al jugo puede producir un color más claro que el color original de la muestra estándar. Esto es consistente con lo que sucedió durante el proceso de refinación del jugo de naranja con varios niveles de quitosano.

Tabla 12: Turbidez del zumo de naranja sin adición de quitosano

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	782.8					782.8
T1 SQ	765	766	787	784	814	783.2
T2 SQ	769	757	793	790	802	782.2
T3 SQ	783	779	798	779	778	783.4

En la Tabla 13, al comparar los promedios de los 3 Tratamientos y la muestra referencial se observa que al aumentar el nivel de concentración de quitosano disminuye mucho más su nivel turbidez.

También es notable el efecto inmediato del quitosano sobre la turbidez porque la primera hora acelera la disminución de la turbidez y allí disminuye la velocidad de sedimentación (Chatterjee et al., 2004).

Tabla 13: Turbidez del zumo de naranja después de 2 horas de reposo con adición el quitosano

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
MR	763.7	-	-	-	-	763.7
T1 (300)	653	674	663	672	667	665.8
T2 (600)	634	637	629	642	631	634.6
T3 (900)	613	617	623	605	609	613.4

Gassara y col., (2015), mostró que la cantidad de quitosano agregada al jugo estaba directamente relacionada con la turbidez. El color naranja se muestra en la Tabla 14.

Gassara y col. (2015) encontraron que la cantidad de quitosano agregado al jugo estaba directamente relacionada con la turbidez, con concentraciones más altas que conducen a niveles más bajos de turbidez como se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14: Turbidez del zumo de naranja después de 15 días de conservación en refrigeración

Muestra	R1	R2	R3	R4	R5	PROMEDIO
Referencial	738.6					738.6
T1 (300)	633	616	627	622	619	623.4
T2 (600)	611	614	610	614	612	612.2
T3 (900)	606	607	607	596	592	601.6

Se comparó el Análisis 3 cuando se obtuvieron los resultados de turbidez (Tablas 12, 13, 14). El gráfico 3 muestra la concentración más alta a 900 mg / L, que es la concentración a la que precipitó el sólido. La turbidez se debe principalmente a los polisacáridos presentes en el jugo (Gassara et al., 2015).

Comparación de pruebas al obtener resultados de turbidez (Tabla 12,13,14) 3. El Gráfico 3 muestra que la concentración de 900 mg / L precipitó la mayor cantidad de sólidos. La turbidez es causada principalmente por polisacáridos presentes en el jugo (Gassara et al., 2015).

Debido a la presencia de grupos amina estructurales, el quitosano tiene propiedades deposicionales demostradas en estudios de purificación de agua, medicina y clarificación de jugos (Caldera, Clavel, Briceño), Nava y Gutiérrez, 2009).

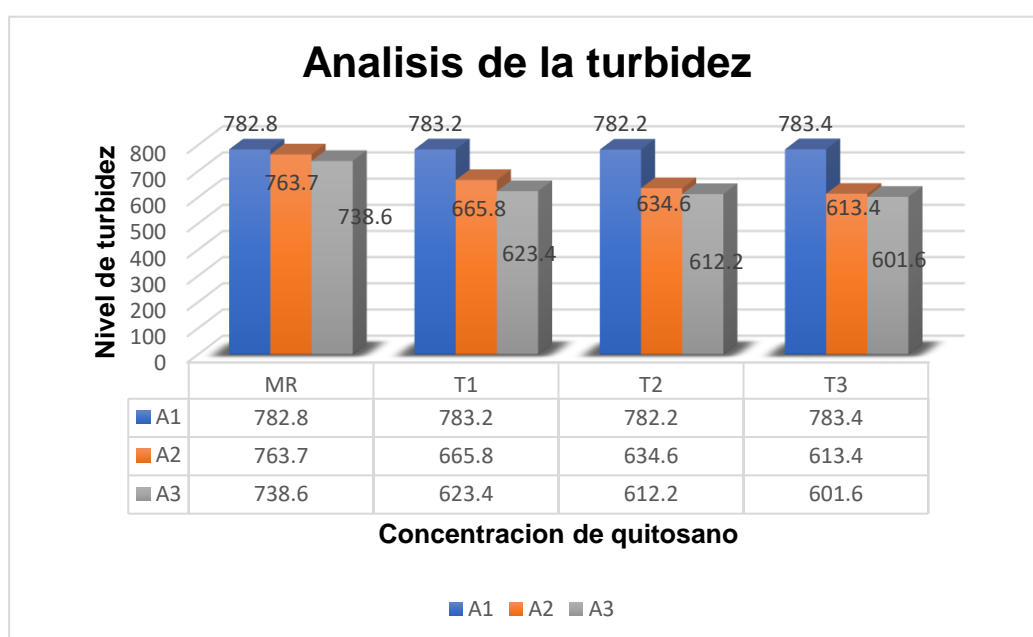


Gráfico 3. Turbidez del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano.

3.2 Análisis sensorial después de 15 días de conservación en refrigeración:

El análisis sensorial se realiza después del primer análisis microbiológico del producto final y se considera apto para el consumo humano. Los atributos evaluados fueron olor, sabor, color, aroma, aceptación y una medida de la alegría de 30 participantes semi-entrenados evaluando muestras de agua. Frutas de 1 a 4 puntos en el formato que se muestra en el anexo, según su gusto.

El análisis sensorial que se considera apto para el consumo humano se lleva a cabo después del análisis microbiológico inicial del producto final. Las características evaluadas son: Olor, sabor, color, olor, solubilidad en agua. Por lo tanto, 30 panelistas semi-entrenados utilizaron la escala de hedónicas para calificar de 1 a puntos según su sabor de acuerdo con el formato indicado en el Anexo 2.

3.2.1 ANALISIS DEL COLOR

Se aplicó una prueba hedónica que consistió en encuestas aplicadas a 30 estudiantes de la carrera profesional de agroindustrias de la Universidad Nacional de Tumbes, comparando estos resultados Gráfico 4, el tratamiento T3 con una concentración de 900 mg/l es el que se observó más claro siendo más atractivo y llamativo a los consumidores. Mientras que los otros tratamientos presentaron un menor nivel de aceptabilidad.

Según Tastan & Baysal, (2015), en su trabajo de investigación sobre clarificado de jugo de manzana utilizando quitosano como clarificante, al obtener los resultados en cuanto al aspecto; este mejoro considerablemente y a un menor tiempo de sedimentación.

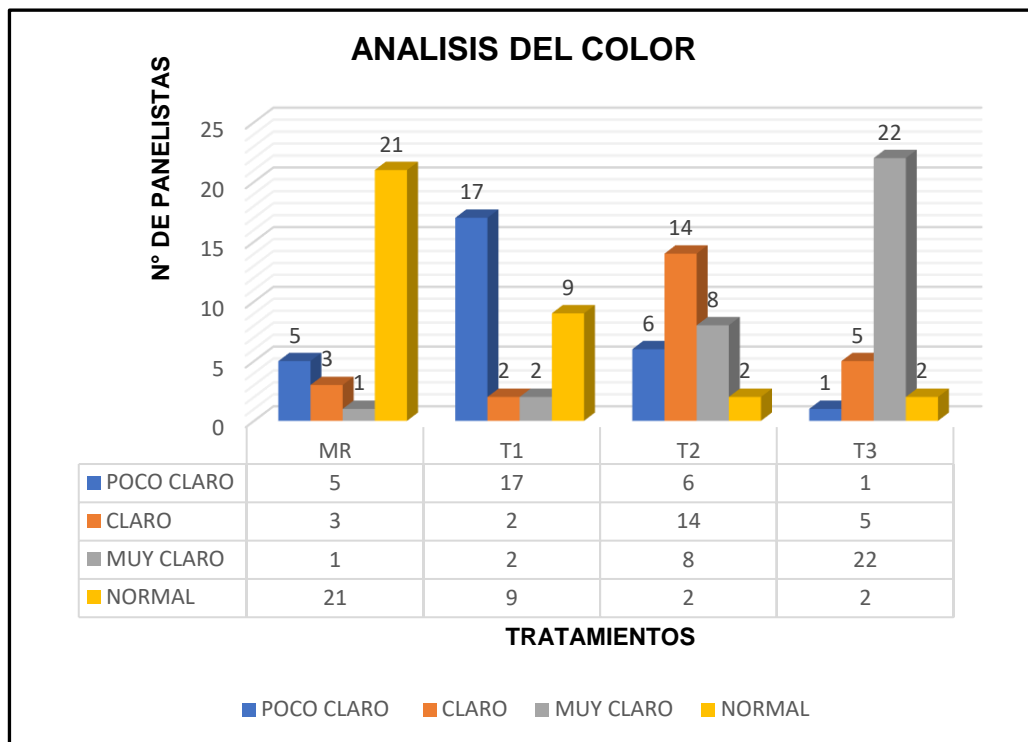


Gráfico 4. Color del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano.

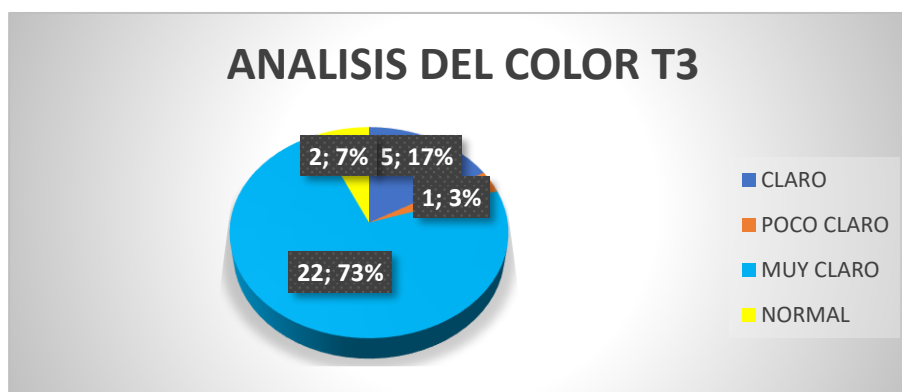


Gráfico 5. Color del T3 del zumo de naranja con una concentración de 900 mg/l de quitosano.

En la figura 9, 22 de los 30 catadores calificaron al tratamiento 3 (900mg/l) de quitosano después de los 15 de conservación como “muy claro”.

3.2.2 Análisis del olor

Después de realizar el análisis del olor de las encuestas aplicadas se dedujo que todos los panelistas calificaron a los tratamientos con

olor característicos a la naranja, indicando que la aplicación de quitosano como clarificante no influye en la característica organoléptica como es el olor.

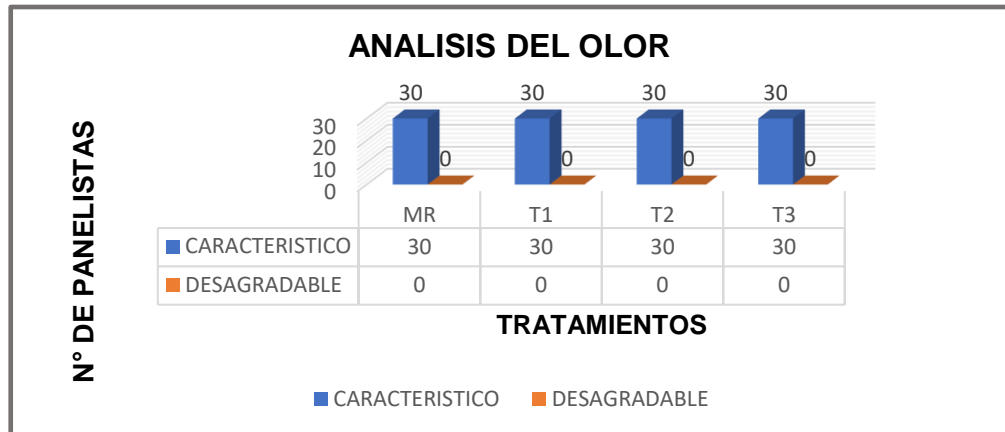


Gráfico 6. Olor del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones.

Un estudio de Tastan y Baysal (2015) mostró que se probaron diferentes niveles de quitosano para filtrar el jugo de manzana. Explicación tradicional.

Un estudio realizado por Tastan y Baysal (2015) encontró que el quitosano mejoró significativamente al probar en varios niveles la transparencia del jugo de manzana en términos de color. Es fácil de usar y requiere menos tiempo que la limpieza convencional.

3.2.3 ANALISIS DEL SABOR

En las encuestas correspondientes al sabor se encontraron diferentes resultados para cada tratamiento predominado en la MR el valor de muy ácido, en el T1 el valor de ácido, en T2 los valores entre ácido y normal y en el T3 el 60 % de los panelistas lo calificaron como normal.

Según (CODEX STAN 247-2005), el jugo regular es un líquido no fermentable pero fermentable obtenido de la parte comestible de la fruta, y se considera una fruta madura y fresca que se mantiene en buenas condiciones para un procedimiento adecuado.

Según (CODEX STAN 247-2005), el jugo ordinario se considera un líquido no fermentado, pero puede fermentarse en la parte comestible de la fruta, fruta fresca y medianamente madura, o en buenas condiciones y no se descompone.

Los estudios han demostrado que el quitosano no altera el sabor de los recubrimientos y productos como los jugos (Chatterjee et al., 2004).

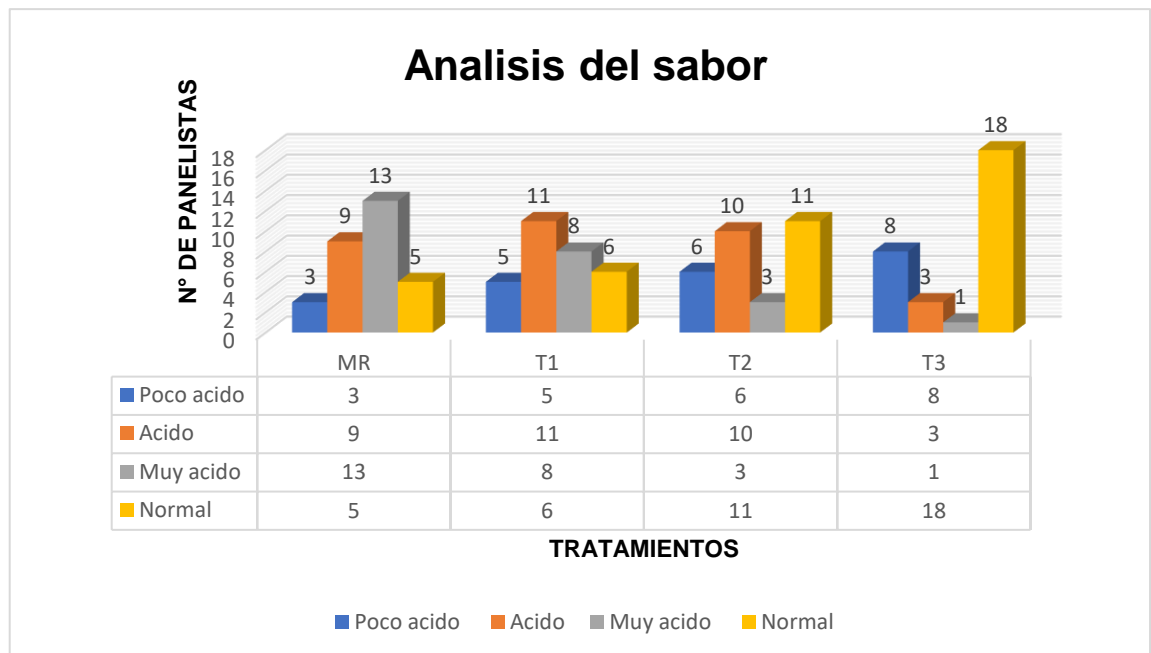


Gráfico 7. Sabor del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones de quitosano.

3.2.4 NIVEL DE ACEPTABILIDAD

Para el nivel de aceptabilidad los resultados de T3 presentaron una calificación de muy bueno, mientras que los otros tratamientos presentaron valores inferiores en aceptabilidad, como T2 que presentó una aceptabilidad de bueno, T1 presentó una aceptabilidad regular y el tratamiento sin adición de quitosano o MR calificaron con un nivel de aceptabilidad de poco agradable.

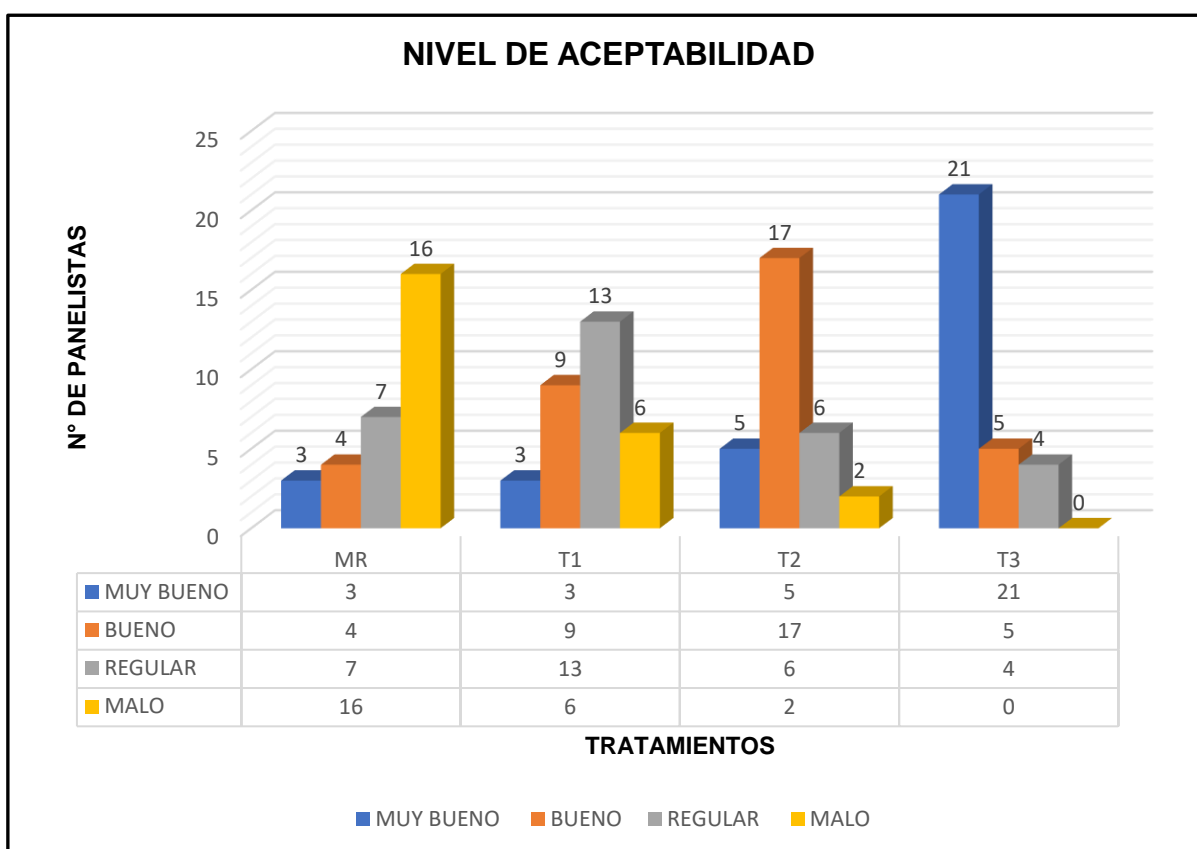


Gráfico 8: Aceptabilidad del zumo de naranja tratado con diferentes concentraciones

3.3 Análisis microbiológico

Se realizaron las pruebas microbiológicas del producto en vida en anaquel, luego de un período de almacenamiento, con la finalidad de conocer, la efectividad del tratamiento térmico, para dicho análisis se evaluaron según las especificaciones de las Normas Técnicas Peruanas NTP 203.110-2009. Se evaluaron los posibles microorganismos que podrían encontrarse en este producto, tanto patógenos y alteradores.

Tabla 15: Norma Técnica Peruana 203.110.2009 que establece criterios microbiológicos para Jugos, Néctares y Bebidas de Frutas

Microorganismos	N	M	M	C	Método de Ensayo
Coliformes NMP/ cm^3	5	<3	--	0	FDA BAM On line ICMSF
Recuento estándar en placa REP UFC/ cm^3	5	10	100	2	ICMSF
Recuento de mohos UFC/ cm^3	5	1	10	2	ICMSF
Recuento de levaduras UFC/ cm^3	5	1	10	2	ICMSF

Fuente: Néctares y Bebidas De Fruta. Requisitos, (203.110:2009)

Tabla 16: Análisis microbiológico del zumo de naranja tratado con quitosano después de 15 días en refrigeración.

T: tratamiento

TRATAMIENTOS CONTAMINADOS	MOHOS UFC/ml	LEVADURAS UFC/ml	COLIFORMES UFC/ml	AEROBIOS MESOFILOS UFC/ml
T1, R2, SD	2	2	-	-
T1, R2, SD	1	1	-	-
T1, R5, SD	1	-	-	2
T1, R5, SD	2	-	-	1
T1, R1, -1	-	-	-	-
T1, R1, -1	-	-	-	1
T1, R1, SD	-	-	-	2
T1, R1, SD	-	-	-	1
M.R	4	15	-	13
M.R	7	18	-	17

R: repeticiones

S.D: sin dilución

El quitosano se ha estudiado en vivo o en vitro como agente antimicrobiano contra una amplia gama de organismos utilizando diversas formas de quitosano, como soluciones, membranas y compuestos. Aunque los estudios recientes tienden a describir el quitosano como bacteriostático en lugar de bactericida, el mecanismo exacto no se comprende completamente, pero también hay factores que pueden contribuir a la actividad antimicrobiana (Ayala et al., 2014).

3.3.1 Recuento de mohos y levaduras UFC/ml

En cuanto a la presencia de mohos y levaduras en el zumo de naranja clarificado mediante el uso de diferentes concentraciones de quitosano, como se puede apreciar en la Tabla 16, en los únicos tratamientos que se encontraron presencia de mohos fue en el T1, R2, SD con 2 y 1 UFC; y el T1, R5, SD con 1 y 2 UFC; encontrándose dentro de los parámetros establecidos por la norma técnica del MINSA (Tabla 3) la cual nos indica que de 5 repeticiones 2 pueden presentar valores entre 1 y 10 UFC. En lo concerniente a la presencia de levaduras se encontraron en el T1, R2, SD con 2 y 1 UFC cumpliendo los parámetros establecidos en dicha norma, por lo que se puede argumentar que el producto ha sido elaborado cumpliendo con las buenas prácticas de manufactura (BPM), en el momento de su elaboración estando apto para el consumo humano.

El efecto bactericida del quitosano está íntimamente relacionado con las siguientes propiedades: Concentraciones utilizadas, características de los cationes polivalentes quitosano, longitud de la cadena, efecto inhibitor sobre la síntesis de enzimas producidas por hongos, formación de compuestos fenólicos como el ácido clorogénico y formación de barreras estructurales. (Ayala et al., 2014).

La actividad antifúngica del quitosano, que determina esta propiedad, está indicada en análisis microbiológicos para la identificación de hongos y levaduras. Este formador de biopelículas ha sido probado en el almacenamiento de alimentos por su eficacia contra patógenos, alargando su vida útil y previniendo su deterioro. Ataque de hongos y levaduras por efecto antifúngico (Valenzuela e Ignacio, 2012).

De acuerdo a; Pacheco y Extracci (2010), el quitosano ha mostrado actividad antifúngica al inhibir la proliferación de hongos como *Botrytis cinérea*, *Fusarium oxysporum* y *Drechslera soukaina*. Por eso se utiliza en diversos campos como alimento y como agente de control biológico de hongos.

3.3.2 Recuento de Coliformes UFC /cm³

Por lo tanto, no se detectó la presencia de E. Coli para cumplir con los requisitos de seguridad como las buenas prácticas de fabricación. Al cumplir con estas especificaciones, el producto está libre de contaminación. Otros estudios han demostrado que el quitosano tiene la capacidad de actuar sobre una variedad de microorganismos para prevenir el deterioro de los alimentos y prolongar la vida útil. Valenzuela & Ignacio (2012).

3.3.3 Recuento Aerobios Mesófilos

En la Tabla 16 se observa que los T1, R3, SD presentó 2 y 1 UFC/ml; el T1, R1,-1 presento un valor de 1 que al multiplicarlo por 10 resultan 10 UFC/ml de microorganismos presentes en estas muestras y en los T1, R1, SD presentó valores de 2 y 1ufc/ml. Concluyendo que estos resultados se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la Norma Técnica Peruana 203.110.2009.

El mecanismo de acción del quitosano se basa en la eliminación de iones importantes, la obstrucción y destrucción de membranas, la filtración de componentes intracelulares y la formación de complejos poliméricos electrolíticos entre polímeros ácidos y células superficiales (Mármol et al., 2011).

4 CONCLUSIONES

1. Al evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de los 3 tratamientos con las diferentes concentraciones de quitosano, el zumo del tratamiento 3 es el que presenta mejores características de calidad durante el tiempo de evaluación (15 días).
2. En los análisis fisicoquímicos, el tratamiento T3 presentó menos turbidez, demostrando mayor velocidad de clarificación. La variación del pH fue menor respecto a los tratamientos T1 y T2. Los valores de °Brix en los 3 tratamientos disminuyeron durante el período de evaluación (15 días).
3. De acuerdo a los resultados microbiológicos, en los tratamientos 2 y 3 se verificó que no existía presencia microbiana, mientras que el tratamiento 1 presentó carga microbiana, pero cumple íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad de la Norma Técnica Peruana 203.101.2009.
4. En la evaluación sensorial y de aceptabilidad el tratamiento T3 presentó mejores resultados que T1 y T2. Buena apariencia, color más claro y atractivo, sabor característico de zumo de naranja natural, y mayor porcentaje de aceptabilidad (70%); mientras que los tratamientos T1 y T2 presentaron sabor menos agradable (ácido). En el olor, todos los tratamientos fueron agradables.

5 RECOMENDACIONES.

Realizar estudios complementarios que permitan determinar la vida útil de zumo de naranja con quitosano que presentó mejores características de calidad (tratamiento 3).

Investigar el uso de quitosano para mejorar las características de calidad de otros zumos de frutas, para aprovechar el potencial regional de Tumbes en la producción a partir de desechos de la industria pesquera y acuícola.

Realizar estudios de costos para determinar la viabilidad económica de producir a mayor escala el jugo de naranja mejorado con quitosano.

6 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Association Of Analytical Communities – AOAC. (1993). Official Methods of Analysis. Vols. 1. W. Horwits (Ed.). AOAC International, Washington, D.C.

Ayala; A; Colina, M; J; Vargas; J; Rincón; D; Rosales; L; Cárdenas. (2014) Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano contra el hongo *Mycosphaerella Fijiensis Morelet* que produce la sigatoka negra que ataca el plátano. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 15(6), pp 312-338 diciembre de 2014. País España.

https://dialnet.unirioja.es/servlet/revista?codigo=5883&info=open_link_revista

Baker, R., Food Technology. (2013). Zumo de naranja. Consultado el 21 de diciembre del 2013.

Batthey, S., Duffy, S., y Schaffner, W. (2002). Modeling yeast spoilage in cold-filled ready-to- drink beverages with *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailli* and *Candida lipolytica*. Revista Applied and Environmental Microbiology. 68: 1901-1906.

Baysal, T. 2017. Clarification of pomegranate juice with chitosan: changes on quality characteristics during storage. Food Chemistry. Aug 1; 180:211-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.053. Epub 2015 Feb 17.

Beuchat, L. (2001). Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. Microbial Food Contamination. CRC Press.

Caldera, Y., Clavel, N., Briceño, D., Nava, A., & Gutiérrez, E. (2009). Quitosano, como coagulante durante el tratamiento de aguas de producción de petróleo. Boletín del centro de investigaciones biológicas, 3-4.

Chatterjee, S. C. (2004). Clarification of fruit juice with chitosan. Process Biochemistry (39), 2229-2232.

Código de Alimentación CODEX (2005). Standard, T. (2005). CODEX STAN 247 Página 1 de 21, 1–21. Curt, M. D. (2009). Hojas divulgadoras, 1–44.

Colina, M. (2014). "Evaluación de los procesos para la obtención química de Quitina y Quitosano a partir de desechos de cangrejos. Escala pilote e industrial", Revista Iberoamericana de Polímeros, vol. 15, pp. 23.

Durán, J.M, Magaña, G.A., Tirado, R.C, García, R. S., Amábilis, L.E., Durán, M.C y Solís, J. A. (2016). Química Central • Vol. 5 N° 1: 27-40.

Eroski (2005) Beneficios del zumo de naranja. Consultado el 21 de diciembre del 2013.

Gassara, F., Antzak, C., Ajila, C. M., Sarma, S. J., Brar, S. K., & Verma, M. (2015). Chitin and chitosan as natural flocculants for beer clarification. Journal of Food Engineering, 166, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.05.028>.

Giraldo, M. (2005). Evaluación del efecto de materia extraña vegetal (hojas, cogollos, chulquines) en el proceso de clarificación de jugos de caña de azúcar. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. Ingeniería Agroindustrial. Palmira.

González, M. (2009). Frutas y Hortalizas. Instituto Canario de investigaciones agrarias. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/monicaglezglez/frutas-y-hortalizas-6965719>.

Guevara," Elaboración de pulpas, zumos, néctares, deshidratados, osmodeshidratados y fruta confitada", 2015.

Gutiérrez, E. (2009). Quitosano, como coagulante durante el tratamiento de aguas de producción de petróleo. Boletín Del Centro De Investigaciones Biológicas.

Heredia (2014). Colour training and colour differences thresholds in orange juice, 30, 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.05.018>.

Hernández, O., C, M., & Rosas-peralta, M. (2003). Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana, 50(2), 173–195.

INDECOPI (2009). Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual, NTP 203.110:2009, Norma Técnica Peruana Jugos, Néctares y Bebidas de Fruta, Lima - Perú.

Lárez, V. C. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en Química*. 1(2):15-21.

Londoño (2000). Rheological study of orange juices for a better knowledge of their suspended solids interactions at low and high concentration, 174, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng>.

Marín, L. (2012). Determinación de las condiciones apropiadas de preparación de un floculante como componente Fundamental en el proceso de clarificación de jugo en Riopaila castilla s.a, planta riopaila. Universidad Tecnológica de Pereira Facultad De Tecnologías Tecnología Química Pereira, Risaralda, noviembre.

Mármol, Z. (2011) Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*. Universidad Rafael Urdaneta.

Mármol, Z., Cardoso, J., Carrasquero, S., Paez, G., Chandler, C., Araujo, K., Rincón, M. (2009). Evaluación de polifenoles totales en vino blanco tratado con quitina. *Revista de la Facultad de Agronomía Universidad del Zulia (LUZ)*. 26:423-442.

Maturín, L., y Peeler, J. (2001). *Bacteriological analytical manual*. Capítulo 3: aerobic plater count. Estados unidos. Consultado: 14/10/2019. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBam/ucm063346.html>.

Megías, M., y Molist, P. (2018). Órganos vegetales fruto. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la salud. Consultado: 09/10/2019. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/o-v-fruto.pdf>.

Molina, E. (2000). Nutrición y fertilización de la naranja. *Informaciones Agronómicas*. 40: 5-11. (Candidata a Magister). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima.

Monreal, A. (2018). Naranja: propiedades, beneficios y valor nutricional. 2-3. *Nanotecnología farmacéutica: una galénica emergente*, Real Academia Nacional de Farmacia, España, 2006 [En línea]. Disponible en <file:///C:/Users/C751948/Documents/Quitosano/untitled.pdf>. [Accedido: 10 de octubre 2018.

Naranjo, D., & Reyes, V. (2015). Utilización del quitosano extraído del exoesqueleto de camarón para la clarificación de jugo de manzana *Malus doméstica*. Quito.

Norma Técnica Peruana 203.110:2009, Requisitos fisicoquímicos y organolépticos para jugos y néctares y bebidas de fruta. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias. Indecopi, Lima.

Núñez Hinostroza, L. A. Brumovsky, R.A. (2010). Clarificación y grado de satisfacción en jugos de uva. CINDEFI, Fac. de Ciencias Exactas, Univ. Nacional de La Plata. La Plata. Buenos Aires. Argentina.

Pacheco, N., & Extracci, L. (2010). Extracción bioetanol lógica de quitina para la producción de quitosano: caracterización y aplicación.

Padrón, C., & Moreno, M. (2010). Evaluación del uso de enzimas y filtración por gravedad para la clarificación de una mezcla diluida de pulpa de frutos de cactus (*opuntia boldinghii britton & rose*), jugos de naranja y toronja. *digital*, 10.

Quezada, W; Gallardo, I. (2014) "Clarificación del jugo de caña mediante el empleo de plantas mucilaginosas" ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. 48, núm. 3, septiembre-diciembre, pp. 41-48.

Real, J. (2006). "Biopolímeros contra la contaminación", La Gaceta UDG, vol. 476, pp.

Rocha, M. A., Coimbra, A.M., & Nunes, C. (2017). Applications of chitosan and their derivatives in beverages: a critical review. Elsevier, 61 – 69.

Salas, D. (2016). "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 de fin de grado, Universidad Tecnológica Equinoccial, 2011.

Samaniego, J., Cabrera, F., Madrid, M., y Medina, V. (2004). Tecnología de producción de naranja y toronja. Memoria Jornada de Tecnología de Producción de Cítricos. Fundación Produce Sinaloa. México. Pág.: 15.

SIAP. (2016). Cítricos mexicanos, limón, naranja y toronja. Consultada el 19/04/2019. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257_073/Potencial-Cítricos parte_uno.pdf.

Tastan, O. y Baysal, T. 2015. Clarification of pomegranate juice with chitosan: changes on quality characteristics during storage. Food Chemistry. Aug 1; 180:211-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.02.053. Epub 2015 Feb 16.

Toledo, V. 2008. Desarrollo de gajos de naranja estabilizados por tratamiento térmico. Tesis de Licenciatura. Universidad de las Américas Puebla, Cholulca, Puebla, México.

Valenzuela, C., & Ignacio, V. J. (2012). Potenciales aplicaciones de películas de quitosano en alimentos de origen animal: una revisión. *Avances En Ciencias Veterinarias*, 27(1), 33–47. Velásquez, C. L. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos, 4(2), 91–109.

Zambrano, R. (2014) “conservación de zumo de naranja (*Citrus sinensis*) utilizando dosis de miel de abeja y canela como conservante natural”. Tesis de grado de titulación, universidad laica “Eloy Alfaro” de Manabí, Ecuador.

Zambrano, V. (2016). "Obtención de un Polímero Floculante a partir del Exoesqueleto del camarón para el tratamiento de aguas residuales generadas en la industria alimenticia", Tesis de fin de Maestría, Universidad de Guayaquil.

7 ANEXOS

Anexo 1: Anexo fotográfico



Anexo 1.1 Recepción de la materia prima.



Anexo 1.2 Cortado de la naranja por la mitad.



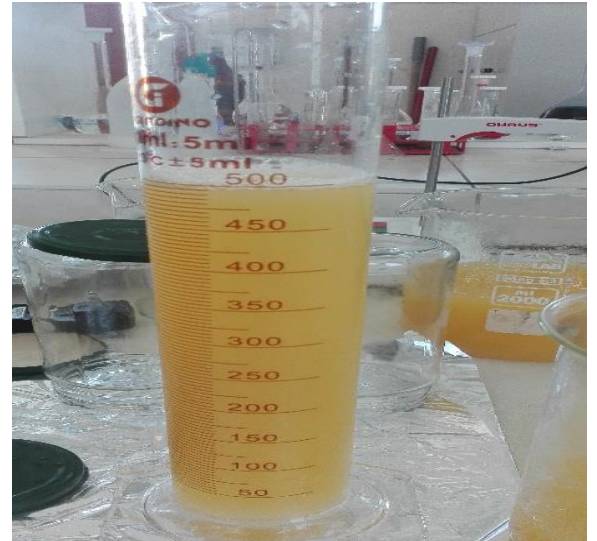
Anexo 1.3 Extracción de jugo de naranja.



Anexo 1.4 Filtrado de jugo.



Anexo 1.5 Pesado de las diferentes cantidades de quitosano.



Anexo 1.6 Medición del jugo.



Anexo 1.7 Agitación del jugo.



Anexo 1.8 Proceso de decantación.



Anexo 1.9 Esterilización de envases



Anexo 1.10 Envasado del jugo



Anexo 1.11 Medición de pH del jugo de naranja



Anexo 1.12 Medición de grados °Brix



Anexo 1.13 Medición de turbidez del jugo.



Anexo 1.14 Preparación de los medios de cultivos.



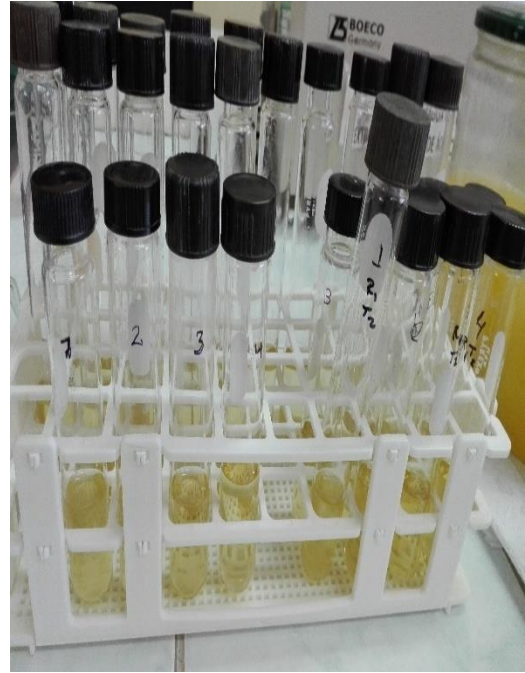
Anexo 1.15 Equipo- autoclave.



Anexo 1.16 proceso esterilización.



Anexo 1.17 Medición del agua peptonada.



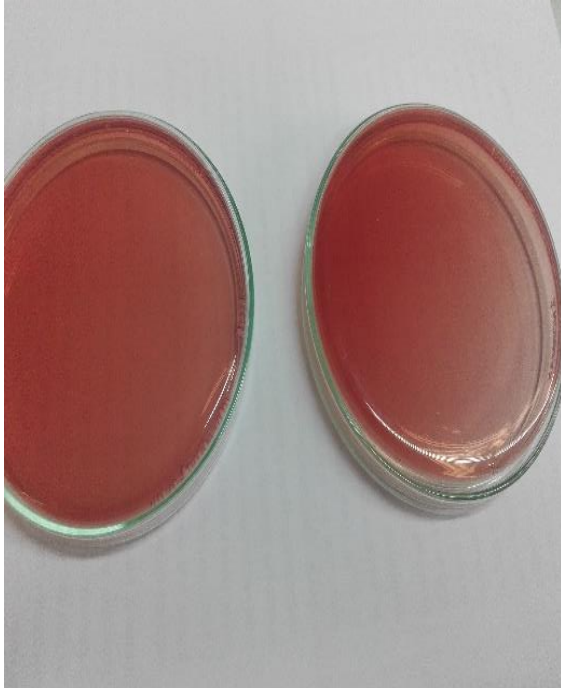
Anexo 1.18 Tubos de ensayo de la dilución.



Anexo 1.19 Cámara de flujo laminar.



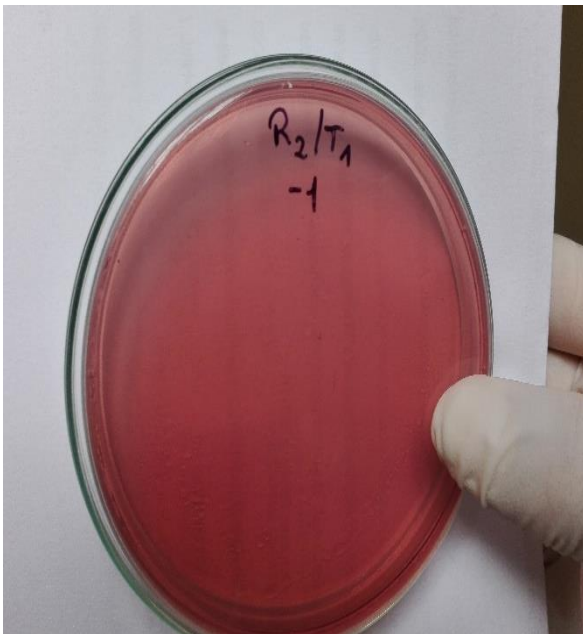
Anexo 1.20 Llenado de placas.



Anexo 1.21 Placas de MacConkey agar.



Anexo 1.22 Muestras colocadas en la incubadora



Anexo 1.23 Resultado de placa de MacConkey agar sin presencia de coliformes.



Anexo 1.24 Resultado de placa PDA presencia de hongo.



Anexo 1.25 Resultado de placa Plate Count agar presencia de microorganismo.



Anexo 1.26 Aislamiento de microorganismo.



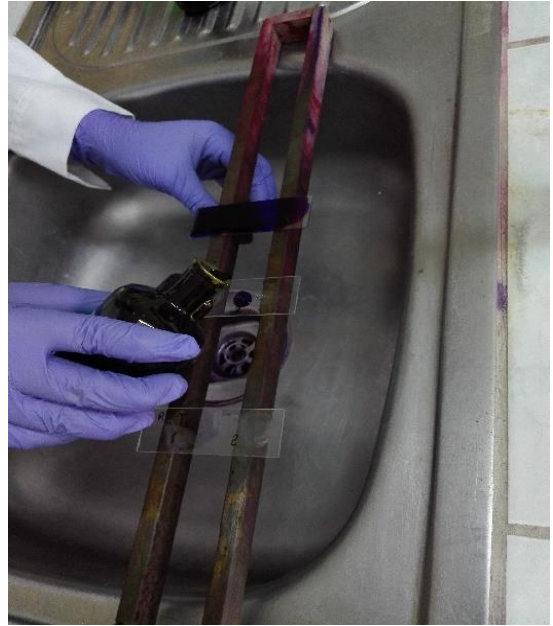
Anexo 1.27 Rotulando en las laminillas para cada muestra.



Anexo 1.28 Traslado de microorganismos a la laminilla.



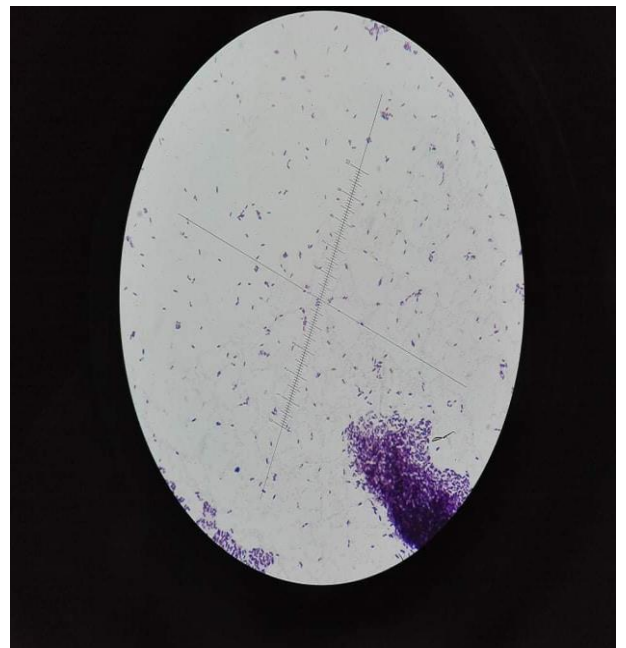
Anexo 1.29 Líquidos para tinción



Anexo 1.30 Tinción de las muestras



Anexo 1.31 Resultado de las muestras analizadas.



Anexo 1.32 Resultados de las muestras.



Anexo 1.33 Prueba de catación en la evaluación sensorial.



Anexo 1.34 Panelistas de la escuela de agroindustrias.

Anexo 02:
HOJA DE CATACIÓN

Nombre:

Fecha:

En los siguientes cuadros escribir la letra de las alternativas como respuesta:

A. COLOR

1. Claro
2. Poco claro
3. Muy claro
4. Normal

MUESTRA	COLOR
RM	
T1	
T2	
T3	

OBSERVACIONES-----

B. SABOR

1. ácido
2. Muy acido
3. Poco ácido
4. Normal

MUESTRA	SABOR
RM	
T1	
T2	
T3	

OBSERVACIONES-----

3. OLOR

1. Característico
2. Desagradable

MUESTRA	OLOR
RM	
T1	
T2	
T3	

OBSERVACIONES-----

4.ACEPTABILIDAD

1. Bueno
2. Muy bueno
3. Regular
4. Malo

MUESTRA	ACEPTABILIDAD
RM	
T1	
T2	
T3	

OBSERVACIONES-----

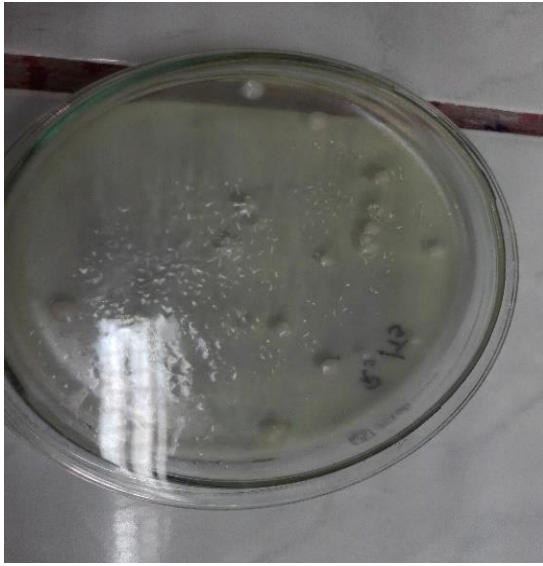
Anexo 03: Resultados microbiológicos del zumo tratado

Tabla 17: Análisis N° 1 del zumo de naranja descartado por la presencia de sobre población de agentes microbianos

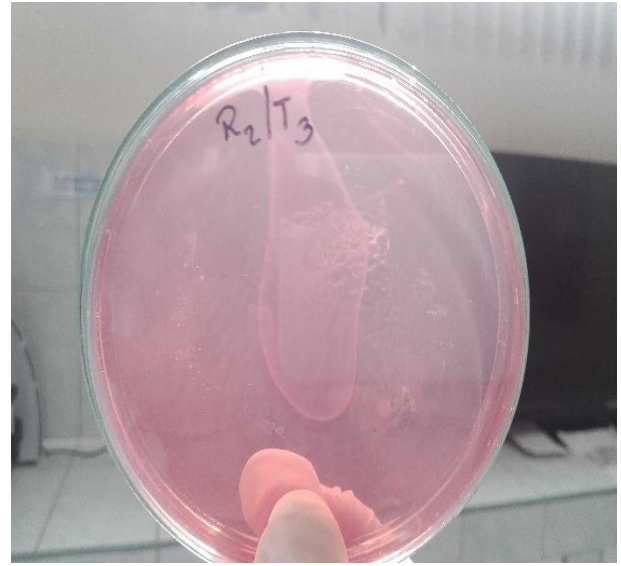
PRESENCIA DE MICRORGANISMOS EN EL ZUMO DE NARANJA TRATADO CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE QUITOSANO				
TRATAMIENTOS	MOHOS UFC/ml	LEVADURAS UFC/ml	COLIFORMES FECALES UFC/ml	AEROBIOS MESOFILOS UFC/ml
T1, R1, SD	3	80		2
T1, R1, SD	5	97		3
T1, R1, -1		37		-
T1, R1, -1		22		1
T1, R1, -2		9		
T1, R1, -2		5		
T1, R1, -3		2		
T1, R1, -3		2		
T1, R2, SD	3	33		7
T1, R2, SD	1	43		3
T1, R2, -1		13		-
T1, R2, -1		11		2
T1, R2, -2		6		1
T1, R2, -2		4		
T1, R2, -3		1		
T1, R2, -3		-		
T1, R3, SD		75		
T1, R3, SD		79		
T1, R3, -1		21		
T1, R3, -1		25		
T1, R3, -2		9		
T1, R3, -2		7		
T1, R3, -3		2		
T1, R3, -3		2		
T2, R1, SD	2	3		4
T2, R1, SD	3	2		3
T2, R1, -1		1		1
T2, R1, -1		2		1
T2, R1, -2		1		
T2, R1, -2		1		
T2, R1, -3		16		
T2, R1, -3		18		
T2, R2, SD		7		
T2, R2, SD		6		
T2, R2, -1		3		
T2, R2, -1		2		
T2, R2, -2		1		
T2, R2, -2		2		

T2, R2, -3		4	
T2, R2, -3		3	
T2, R3, SD	4	2	
T2, R3, SD	2	2	
T2, R3, -1		1	
T2, R3, -1	1	2	
T2, R3, -2		-	
T2, R3, -2		1	
T2, R3, -3		-	
T2, R3, -3		-	
T3, R1, SD	1	1	
T3, R1, SD	2	2	
T3, R1, -1		1	
T3, R1, -1		-	
T3, R1, -2		1	
T3, R1, -2		-	
T3, R1, -3		-	
T3, R1, -3		-	
T3, R2, SD	1	1	
T3, R2, SD		1	
T3, R2, -1		-	
T3, R2, -1		1	
T3, R2, -2		-	
T3, R2, -2		-	
T3, R2, -3		-	
T3, R2, -3		-	
T3, R3, SD	1	10	1
T3, R3, SD	1	12	2
T3, R3, -1		5	
T3, R3, -1		4	
T3, R3, -2		2	
T3, R3, -2		3	
T3, R3, -3		-	
T3, R3, -3		1	
MR	7	173	117
MR	4	147	125

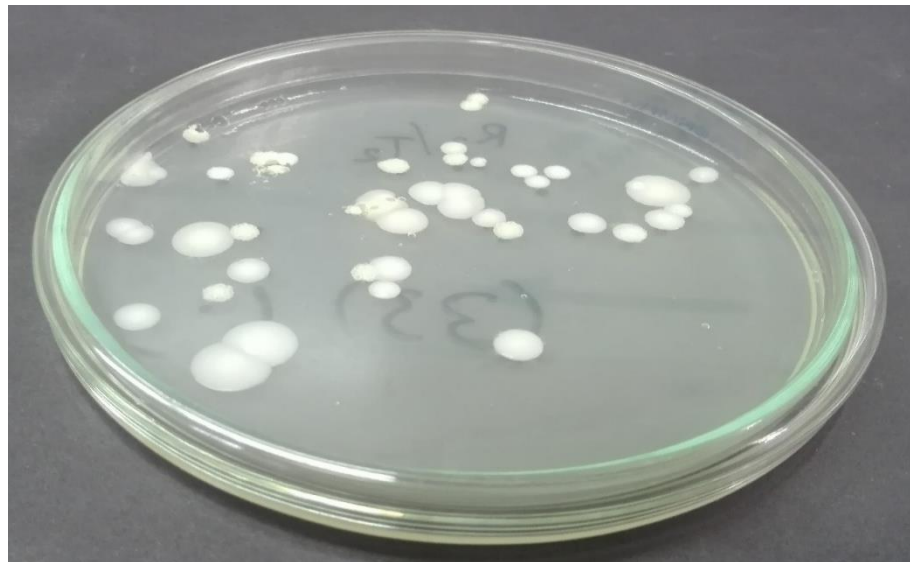
Anexo 04: Resultados microbiológicos del primer ensayo del zumo tratado



Resultados de muestra de medio
Potato Dextrosa Agar.



Resultados de muestra de medio
MacConkey agar.



Resultados de muestra de medio Plate Count Agar.