

# Elaboración de néctares de pera, durazno y manzana utilizando como agente conservante extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*).

Pablo Ernesto Milian Mindiola  
Microbiólogo  
Centro Nacional de Hotelería, Turismo y Alimentos SENA

## Resumen

El presente estudio plantea la aplicabilidad de extractos naturales y su inclusión en la formulación de bebidas de néctares elaboradas con pulpas de pera, durazno y manzana con la finalidad de evaluar la interacción de diferentes variables de tipo fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y, finalmente, el impacto que ejerce sobre la conservación y la vida útil de este tipo de productos. Se obtuvieron extractos acuosos a partir de astillas de canela (*Cinnamomum verum*), a través del método de calentamiento, separación de fases y filtración. Se realizaron filtrados sucesivos en sistema de vacío, hasta obtener los extractos los cuales fueron almacenados en frascos de vidrio estériles color ámbar a 4 °C. Se evaluó el efecto de la inclusión de los extractos acuosos de canela en la formulación de néctares de pera, manzana y durazno, en paralelo con tratamientos adicionados con un conservante convencional de origen químico (sorbato de potasio) y un tratamiento control sin ningún tipo de conservante a los cuales no se les aplicó tratamiento térmico de pasteurización. Se evaluaron características microbiológicas (mesófilos aerobios, mohos y levaduras) y fisicoquímicas (acidez titulable, grados Brix – sólidos solubles, pH y densidad) el día o correspondiente al día de producción y, posteriormente, con intervalos de cinco días para cada una de las frutas evaluadas. Se evidenció que las variables microbiológicas de mesófilos aerobios, mohos y levaduras presentan un significativo aumento después del día 20 de producción solo en los tratamientos control sin la adición de ningún conservante para los néctares de manzana y pera y a partir del día 15 para el tratamiento control de los de durazno. La acidez titulable y pH, tuvieron un comportamiento muy estable en función de los días de producción evaluados, pero se encontraron diferencias significativas en los tratamientos con sorbato de potasio con respecto a los tratamientos control y extracto acuoso de canela, lo que indica un efecto positivo de estos sobre la estabilidad del pH en los néctares de las frutas en un rango de 3,25 a 3,60, como parámetro de conservación de la vida útil.

Palabras clave: frutas, inhibición, vida útil, inocuidad, capacidad antimicrobiana.

**Production of pear, peach and apple juices using aqueous extracts from cinnamon (*Cinnamomum verum*) as preservative.**

## Abstract

The present study proposes the natural extracts applicability and their inclusion in the formulation of nectar beverages made from pear, peach and apple pulps to evaluate the interaction of different physicochemical, microbiological, sensory



variables likewise its impact on the conservation and useful life of this type of products. Aqueous extracts were obtained from cinnamon splinters (*Cinnamomum verum*), using the method of heating, phase separation and filtration. Successive filtrations were carried out in a vacuum system, until the extracts were obtained, which were stored in sterile amber glass bottles at 4 °C. The effect of the inclusion of aqueous extracts of cinnamon in the formulation of pear, apple and peach nectars was evaluated, in parallel with treatments added with a conventional preservative of chemical origin (potassium sorbate) and a control, without any type of preservative, to which pasteurization heat treatment was not applied. Microbiological (aerobic mesophilic, moulds and yeasts) and physicochemical characteristics (titratable acidity, Brix degrees - soluble solids, pH and density) were evaluated on day 0 corresponding to the day of production and subsequently with intervals of five days for each of the fruits evaluated. It was evidenced that the microbiological variables of aerobic mesophilic, moulds and yeasts show a significant increase after day 20 of production only in the control treatments without the addition of any preservative for apple and pear nectars and from day 15 for the control treatment of peach nectars. The titratable acidity and pH variables had a very stable behaviour in function of the days of production evaluated, but significant differences were found in the treatments with potassium sorbate with respect to the control treatments and aqueous extract of cinnamon, which indicates a positive effect of these on the stability of the pH in fruit nectars in a range of 3.25 to 3.60, as a conservation parameter of shelf life.

**Keywords:** fruits, inhibition, shelf life, innocuousness, antimicrobial capacity.

## 1. Introducción

Los alimentos son la base de la nutrición y determinan el estado de salud de los seres humanos. En su procesamiento es necesaria la creación de nuevas industrias que cumplan con los lineamientos legales establecidos por las entidades de control y de la población en términos de calidad, nutrición e inocuidad; por consiguiente, garantizar la elaboración de productos saludables, seguros e inocuos para el consumo de la población se convierte en una prioridad.

De acuerdo a la encuesta de ingresos y gastos EIG 2006-2007, se encontró que las personas en Colombia destinaban 19% al rubro de “alimentos y bebidas no alcohólicas”, que correspondía al tercer renglón de gastos más importante dentro de los hogares promedio colombianos, lo cual es un dato valioso al analizar las dinámicas entorno al consumo de algunos alimentos que conforman este gasto <sup>(1)</sup>.

El consumo mundial de jugos de frutas superó los 80 mil millones de litros en 2015, lo que representa el 10 % del volumen actual de bebidas refrescantes, según estudios de la consultora Zenith International. Se prevé que el consumo de jugo a nivel global (África, Medio Oriente, Asia Pacífico, América Latina, Norteamérica y Europa Occidental) va a seguir en aumento a un ritmo de 5%, llegando a 105 mil millones de litros en 2020 <sup>(2)</sup>.

El informe cubre jugos de frutas al 100%, néctares con un 25-99% de contenido de jugo, y bebidas con sabor a fruta con un 5-24 % contenido frutal <sup>(2)</sup>.

Las bebidas con sabor a frutas es el segmento más importante al representar alrededor del 50% del consumo de jugos en el año 2015. Norteamérica y Europa occidental tienen el consumo porcentual per cápita de jugo más alto, mientras que Asia Pacífico es el mercado más grande, con el 40% de las ventas mundiales <sup>(2)</sup>.

El Ministerio de Salud y Protección Social, define un néctar de fruta como un producto sin fermentar, elaborado con jugo (zumo) o pulpa de frutas concentrados o no, clarificados o no, o la mezcla de estos, adicionado de agua, aditivos permitidos, con o sin adición de azúcares, miel, jarabes, o edulcorantes o una mezcla de estos<sup>(3)</sup>. Uno de los principales retos del sector de la industria de alimentos es corresponder con la demanda de la población generando equilibrio entre costo, beneficio y calidad y, finalmente, enfocándolo directamente al uso de los conservantes más adecuado en eficiencia y estabilidad<sup>(4)</sup>.

El uso de antimicrobianos como agentes conservantes es una práctica común en la industria de los alimentos. Tradicionalmente, se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos causan daño en la salud de los consumidores (como en el caso de los sulfitos) redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos<sup>(5)</sup>.

En la actualidad existen diversos agentes conservantes y/o aditivos permitidos con gran eficiencia en la inhibición de la carga microbiológica contaminante en diferentes etapas del proceso de producción; sin embargo, la tendencia es cada vez consumir productos más frescos y sanos, lo más parecido a su forma original. Esto debido a que se ha asociado el consumo de conservantes químicos como son los benzoatos, nitritos y nitratos, anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), entre otros con intoxicaciones, cáncer y otras enfermedades degenerativas. Esto genera la necesidad de buscar alternativas de conservación que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento<sup>(5)</sup>.

Una de las alternativas más viables corresponde a los conservantes de origen natural encontrada en el potencial de la naturaleza. La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales<sup>(6)</sup> y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos<sup>(5)</sup>.

En la actualidad existen varias formas para aprovechar la actividad antimicrobiana de diferentes compuestos en la materia vegetal<sup>(7)</sup>, una de ellas es la obtención de los aceites esenciales cuya actividad de inhibición microbiana se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos, incluidos los involucrados en la producción de energía y la síntesis de componentes estructurales<sup>(8)</sup>. Por otra parte, los compuestos fenólicos y terpénicos afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de la membrana, actuando como desacopladores, los cuales interfieren en la traslocación de protones sobre la membrana y, subsecuentemente, interrumpen la fosforilación del adenosín difosfato<sup>(8)</sup>.

Los antimicrobianos naturales más estudiados son los aceites esenciales<sup>(9)</sup> de plantas, hierbas o especias como la pimienta de Jamaica (*Pimenta dioica*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y cuyos principales constituyentes son: el eugenol, timol, carvacrol y aldehído cinámico<sup>(8)</sup>.

Pastrana *et al.* (2017) referencian el estudio de las propiedades microbianas de 30 especias y resumen el espectro antibacteriano de cada una. Se encontró que el 80% de ellas inhibía el crecimiento de más del 50% de las bacterias del estudio, de hecho, el clavo y la canela, inhibieron entre el 75 y el 100% de las cepas bacterianas utilizadas en el estudio)<sup>(10)</sup>. Por lo anterior, se considera como principales opciones para la aplicación en bebidas tipo néctar de extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*).

Al presente, la industria de alimentos utiliza en todo el mundo una gran cantidad de antimicrobianos. Estos difieren según el país, ya que su uso está regulado por las leyes alimentarias de cada nación. La producción de antimicrobianos genera una fuente de ingresos económicos importante a nivel mundial. Tan solo en los Estados Unidos en 1991 se consumieron 37,5 millones de kilogramos de conservantes, cifra que va en aumento desde entonces. Se estima que, a nivel mundial, el consumo de antimicrobianos aumenta 4,1% anualmente, siendo los más utilizados los sorbatos, los propionatos y los benzoatos<sup>(5)</sup>.

La actividad antimicrobiana de estos aditivos se debe porque atacan la pared y/o membrana celular, enzimas metabólicas, la síntesis de proteínas y el sistema génico<sup>(11)</sup>. Cada uno de estos puntos, son esenciales para el desarrollo celular, por lo tanto, si uno de ellos es atacado o inactivado, la velocidad de crecimiento del microorganismo se afecta<sup>(5)</sup>.

Sin embargo, muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos. Incluso muchos de ellos han sido estudiados por su potencial como antimicrobianos alimentarios directos<sup>(12)</sup>. El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costos de formulación, procesamiento o comercialización. Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen<sup>(5)</sup>:

1. Origen animal, incluye proteínas, enzimas líticas como lisozima, hidrolasas como lipasas y proteasas y polisacáridos como el quitosán.
2. Origen vegetal, incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas.
3. Origen microbiano, incluye compuestos producidos por microorganismos como las bacteriocinas y antibióticos<sup>(5)</sup>.

Algunas otras especias y hierbas exhiben actividad antimicrobiana; entre las usadas en alimentos se encuentran por ejemplo el apio, cilantro, laurel, almendra, albahaca, café, angélica, puerro, rábano picante, hierbabuena, tomillo, etc. Los compuestos presentes en especias y hierbas que tienen actividad antimicrobiana son derivados simples y complejos del fenol, los cuales son volátiles a temperatura ambiente. Las especias son raíces, cortezas, semillas, brotes, hojas o frutos de plantas aromáticas que se añaden a los alimentos como agentes saborizantes. Sin embargo, se sabe desde tiempos antiguos que las especias y sus aceites esenciales tienen diferentes grados de actividad antimicrobiana. El primer reporte del uso de las especias como conservantes se remonta a 1.550 años a.c., cuando los egipcios las empleaban para conservar alimentos y embalsamar muertos<sup>(5)</sup>.

Ciertas especias inhiben el crecimiento de microorganismos. En general son más efectivas frente a organismos Gram-positivos que frente a bacterias Gram-negativas <sup>(5)</sup>:

- Canela, clavo y mostaza: gran poder conservante “El aceite esencial de canela está constituido fundamentalmente por 65 - 75% de aldehído cinámico y de 5 - 10% de eugenol” <sup>(8)</sup>.
- Pimienta negra/roja, jengibre: inhibidores débiles frente a una gran variedad de microorganismos.
- Pimienta, laurel, cilantro, comino, orégano, romero, salvia y tomillo: actividad intermedia.
- Otros: anís, menta, hinojo, apio, eneldo, cúrcuma.

La función conservadora se debe a los aceites esenciales que poseen, en cuya composición se encuentran compuestos tipo eugenol o aldehído cinámico con poder antimicrobiano, aunque también presentan actividad las oleorresinas de estas especias <sup>(5)</sup>.

A pesar de las grandes alternativas que representa el uso de conservantes de origen natural podemos citar algunas desventajas o impactos negativos generados por sus usos: por ejemplo, una alta concentración de sus extractos es necesaria para obtener un efecto de preservación y, por lo tanto, se generan alteraciones en el sabor. Por consiguiente, el uso de extractos vegetales como agentes antimicrobianos está limitada a los alimentos en los cuales el cambio en el sabor es considerado deseado <sup>(5)</sup>.

La acción de los antimicrobianos sobre las células de los microorganismos en la conservación de alimentos está basada en una gran variedad de efectos individuales <sup>(13)</sup> dentro de los que se incluyen mecanismos físicos, fisicoquímicos y reacciones bioquímicas de la célula afectada. Algunas veces diversos factores individuales pueden producir un efecto tanto acumulativo como de bloqueo <sup>(10)</sup>. Ellos actúan sobre los microorganismos inhibiendo la síntesis de la pared, de la membrana celular, de los ácidos nucleicos y la de las proteínas. Los solutos hidrofílicos de menor tamaño son capaces de pasar la membrana externa a través de los poros proporcionando a las proteínas transmembranales canales hidrófilos, mientras que la membrana externa sirve como barrera de penetración hacia las macromoléculas y compuestos hidrófobos, y es por esta razón que las bacterias Gram-negativas son relativamente resistentes a los antibióticos y a las drogas tóxicas hidrófobas <sup>(10)</sup>.

El género *Cinnamomum*, familia Lauraceae, es nativa de Sri Lanka. Son árboles de hojas perennes y aromáticos en su mayoría. Su sabor es debido a sus aceites esenciales aromáticos, que comprenden entre el 0,5% y 1% de su composición <sup>(14)</sup>. Comprende una variedad de especies que están distribuidas en Asia y Australia, de las cuales las más representativas, por sus aceites, son: *Cinnamomum zeylanicum*, *C. cassia* y *C. camphora* <sup>(15)</sup>. *Cinnamomum zeylanicum* (canela) a veces conocido como *C. verum*, es oriundo de Sri Lanka y su aceite extraído de la corteza y de las hojas tiene diversas aplicaciones; en cocina, en bebidas, en la industria farmacéutica y en perfumería. El aceite esencial de la Canela, tiene entre sus componentes a (E)-cinnamaldehído (68,95%), benzaldehído (9,94%) y (E)-cinnamylacetatoe (7,44%), los cuales demostraron proporcionar propiedades antimicrobianas y anticarcinogénicas, sugiriendo ser empleadas 10 contra infecciones y neoplasias <sup>(15)</sup>.

Entre los efectos antimicrobianos de *C. verum* tenemos el aumento de la permeabilidad y la salida de iones de la membrana. Dicha actividad se da gracias a la acción de componentes como taninos, saponinas, compuestos fenólicos, aceites esenciales y flavonoides. Incluso sus extractos etanólicos muestran gran actividad contra las cepas resistentes, a diferencia de los antibióticos convencionales, cuya aplicación, en condiciones similares, fracasa <sup>(15)</sup>.

Los estudios muestran que el aceite esencial de *C. verum* y sus componentes poseen actividad antimicrobiana, insecticida, acaricida, actividad antitirosinasa, antioxidante y antimutagénica. Otra función del aceite de la canela es la de inducir a la apoptosis. Esto a su vez genera la consecuente necrosis a través de un mecanismo por el cual se interfiere con la función mitocondrial de las células de las levaduras. Incluso, se ha demostrado que la canela, en diversas células cancerosas presenta actividad citotóxica, así como apoptosis. El efecto antimicrobiano dura hasta las 24 horas después de la exposición. Éste resulta mayor sobre levaduras que sobre bacterias; sin embargo, si comparamos sus efectos con los de otros aceites, la canela guarda una mayor actividad antimicrobiana <sup>(15)</sup>.

Las sustancias antioxidantes pueden ayudar a proteger el organismo humano o animal contra varios tipos de daños oxidativos, ocasionados por especies reactivas del oxígeno <sup>(16)</sup> (anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, ozono, oxígeno singlete, entre otras) y del nitrógeno (óxido nítrico, dióxido de nitrógeno, radical peroxinitrito). Los oxidantes y antioxidantes juegan papel importante en la patogenia de un número importante de enfermedades (cáncer, diabetes, artritis, envejecimiento prematuro, Parkinson, aterosclerosis) y lesiones tisulares como las úlceras y la inflamación <sup>(17)</sup>.

Con el presente estudio se espera un gran impacto en las áreas de producción industrial de bebidas a base de néctares de frutas, orientado hacia la implementación de estrategias naturales de conservación de alimentos, la reducción de costos de fabricación, la reducción del impacto negativo generado por los conservantes químicos sobre la salud de los consumidores, la reducción en la emisión de agentes contaminantes como resultados de los procesos industriales de elaboración de alimentos, la conservación de los recursos naturales (aire, suelo, agua) <sup>(18)</sup> e incentivar en el sector educativo en la investigación y la creación de nuevas alternativas para la producción de alimentos sanos e inocuos que garanticen los requerimientos nutricionales de los consumidores sin generar efectos secundarios; sin dejar a un lado las políticas normativas y de producción sostenible, en vista del aprovechamiento de las nuevas tecnologías, conocimientos y la gran esencia de los recursos con los que contamos.

## 2. Materiales y métodos

**Fase I - Obtención de los extractos acuosos:** Los extractos acuosos fueron obtenidos implementando la metodología propuesta por Sánchez-Barrueto y Luján-Corro (2013) <sup>(15)</sup>. Se pesaron 50 gramos de la materia seca deshidratada de canela (astilla de Canela) y se mezclaron con 250 mL de agua destilada estéril del equipo desionizador de agua Milipore. Posteriormente se llevó a calentamiento a 100 °C, durante 15 minutos (Figura 1). Se dejó enfriar y sedimentar los sólidos presentes en la mezcla durante dos horas y posteriormente se realizó la separación de las fases mediante mecanismos de filtración.



**Figura 1.** Alistamiento de materiales en cabina de flujo laminar: Materiales utilizados en la obtención de los extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*), posterior al proceso de esterilización a 121 °C, 15 PSI, durante 15 minutos.

Inicialmente se realizó la separación de los sólidos de mayor tamaño con el uso de gases estériles y posteriormente se realizó el proceso de filtración utilizando membranas de celulosa con diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , en sistema de vacío. Se recolectó el producto del proceso de filtración en recipientes estériles color ámbar (Figura 2) y se le realizó control microbiológico de microorganismos indicadores de contaminación en el proceso (mesófilos aerobios, mohos y levaduras), evidenciando ausencia de contaminación en los extractos acuosos. Los frascos ámbar fueron almacenados en la nevera de refrigeración a temperatura entre 2 y 4 °C.



**Figura 2.** Izquierda: Pesaje materia seca de canela. Derecha: Filtrado de la solución acuosa. Método de preparación para los extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*). A la izquierda se observa el pesaje de la materia seca de canela en la balanza de precisión y en la derecha el filtrado final de la solución, a través de una membrana de celulosa con diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , para extraer las partículas con diámetro superior a 0,45  $\mu\text{m}$ .

**Fase II - Inclusión de los extractos acuosos en el proceso de producción:** Se evaluó el efecto de la presencia de los extractos acuosos de canela (*C. verum*) en la formulación de néctares de pera, manzana y durazno, en paralelo con tratamientos adicionados con los conservantes de origen químico convencionales (sorbato de potasio) y un tratamiento control al cual no se le adicionó ningún tipo de conservante. Se establecieron para cada tipo de fruta los siguientes tratamientos a los cuales no se les aplicó tratamiento térmico de pasteurización:

- Tratamiento 1: Control (néctar sin la adición de sorbato de potasio, sin la adición de extractos acuosos de canela).
- Tratamiento 2: Sorbato de potasio (néctar + sorbato de potasio) concentración 0,5 g/Litro de preparación.
- Tratamiento 3: Canela (néctar + extracto acuoso de canela) concentración 0,2 g/Litro de preparación.

El proceso de producción fue ejecutado en la planta piloto de FRUVER ubicado en la sub sede Álamos en Bogotá, con el apoyo de los aprendices de los programas Tecnología en Control de calidad de alimentos, Tecnología en Procesamiento de alimentos y los aprendices del semillero de investigación “Alimentos Orgánicos” (Figuras 3 y 4). Los aditivos de diferente naturaleza fueron agregados a cada tratamiento bajo las mismas condiciones de personal, equipos, temperatura y humedad relativa. Los recipientes utilizados para envasar el producto fueron esterilizados en las mismas condiciones (frascos de vidrio borosilicato transparente tapa metálica con cierre hermético, con capacidad de 200 mL).



**Figura 3.** Alistamiento de materiales en planta de producción de FRUVER: Aprendices del programa Tecnología en Procesamiento de alimentos y los aprendices del semillero de investigación “Alimentos Orgánicos”, en el proceso de alistamiento de los materiales para producción.



**Figura 4.** Izquierda: Obtención de extractos acuosos de canela. Derecha: Adición de extractos acuosos a tanque mezclador: Proceso de adición de los extractos acuosos a las preparaciones con cada una de las frutas (pera, manzana y durazno).

Concluido el proceso de producción se evaluaron variables microbiológicas según normatividad legal vigente – Resolución 3929 de 2013 (mesófilos aerobios, mohos, levaduras, coliformes totales y *Escherichia coli*) y variables fisicoquímicas (acidez titulable, pH, grados Brix – sólidos solubles). Las diferentes pruebas fueron ejecutadas (Figura 5) con el apoyo de los aprendices perteneciente al grupo de semillero “Alimentos Orgánicos” en los laboratorios especializados para control de calidad de alimentos Microbiológico y Fisicoquímicos del Centro Nacional de Hotelería, Turismo y Alimentos.



**Figura 5.** Izquierda: Análisis fisicoquímico en muestras de néctar. Derecha: Análisis microbiológico en muestras de néctar: Aprendices del semillero “Alimentos Orgánicos”, desarrollando pruebas de análisis microbiológico y fisicoquímico a los productos terminados para el estudio de vida útil de los néctares.

Se evaluaron muestras en los días 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30, por triplicado cada tratamiento y a la vez cada prueba de laboratorio por triplicado. Los resultados del proceso fueron analizados de acuerdo con las diferencias presentadas entre cada uno de los tratamientos con el fin de evidenciar el comportamiento de las diferentes variables evaluadas en función del tiempo de vida útil estimando principalmente los requisitos microbiológicos en función de la posible capacidad antimicrobiana ejercida por los extractos acuosos de *C. verum* (Figura 6).



**Figura 6.** Recuento de colonias: Proceso de recuento de colonias de bacterias y hongos, realizado por aprendices del semillero de investigación “Alimentos Orgánicos”.

**Fase III - Evaluación *in vitro* de los extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*):** sobre cinco (5) cepas de importancia en enfermedades transmitidas por alimentos (*Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus bovis* y *Candida albicans*).

Se prepararon extractos acuosos de *C. verum* con el método propuesto por Sánchez-Barrueto y Luján-Corro (2013). Se pesaron 8, 12, 16, 20 y 24 gramos de la materia seca deshidratada de canela (astilla de canela) y se mezclaron en cinco (5) recipientes diferentes de vidrio borosilicato con 100 mL (Figura 7) de agua destilada estéril, posteriormente, se llevó a calentamiento a 100 °C, durante 15 minutos. Se dejó enfriar y sedimentar los sólidos presentes en la mezcla durante 2 horas y se realizó la separación de las fases mediante mecanismos de filtración.



**Figura 7.** Preparación de los extractos acuosos de canela: Preparación de los extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*) en concentraciones de 8, 12, 16, 20 y 24 gramos por 100 mL.

Se realizó la separación de los sólidos de mayor tamaño con el uso de gasas estériles y se efectuó el proceso de filtración utilizando membranas de celulosa con diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  en sistema de cierre al vacío. Se recolectó el producto del proceso de filtración en recipientes estériles de vidrio y se realizó control de microorganismos indicadores de contaminación (mesófilos aerobios, mohos y levaduras) (Figura 7) evidenciando ausencia de contaminación en los extractos acuosos.

Se preparó una suspensión bacteriana para cada una de las cepas a evaluar, aplicando la metodología de escala de McFarland. En tubos con agua destilada estéril, con la ayuda de un asa de punta redonda se adicionó biomasa obtenida a partir de cajas de Petri con cultivos puros incubados en agar nutritivo incubados a  $35 \pm 1$  °C durante 18 a 24 horas. Posteriormente, se ajustó la turbidez del tubo hasta lograr la absorbancia requerida adicionando agua destilada estéril o biomasa del cultivo, obteniendo valores de absorbancia entre 0,148 y 0,162 con longitud de onda de 620 nm, en los cuales se asume que se presenta una concentración celular de 150.000.000 células/mL, según la escala de McFarland (Figura 8). Se confirmó la concentración celular para cada una de las suspensiones preparadas obteniendo rangos de concentración entre 6.300.000 y 400.000.000 células/mL.



**Figura 8.** Preparación de las suspensiones microbianas: Aprendices de semillero de investigación “Alimentos Orgánicos” e Instructor en la preparación de las suspensiones microbianas con base en la metodología escala de McFarland.

Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas utilizando frascos de vidrio transparente boca ancha con 99 mL y 9 mL de agua destilada estéril a partir de las suspensiones iniciales para cada una de las cepas de trabajo, hasta lograr estandarizar suspensiones celulares de 150, 1.500 y 15.000 células/mL. De acuerdo con la Tabla 1, se obtuvieron diferentes valores de absorbancia para cada una de las suspensiones celulares con las cepas de referencia.

**Tabla 1.** Estandarización de la concentración celular

Cepa Microbiana ATCC	Longitud de onda (λ)	Absorbancia	Concentración celular (Células/mL)
<i>Bacillus cereus</i>	620 nm	0,153	52.450.000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	620 nm	0,148	6.300.000
<i>Enterococcus faecalis</i>	620 nm	0,162	399.500.000
<i>Streptococcus bovis</i>	620 nm	0,152	250.700.000
<i>Candida albicans</i>	620 nm	0,148	160.000.000

Concentraciones celulares de las cepas microbianas (Células/mL), en función de la absorbancia detectada por el equipo espectrofotómetro de luz UV vis a 620 nm de longitud de onda.

Se verificó la concentración celular de cada una de las preparaciones celulares con las cepas de referencia, realizando diluciones con base 10 adicionando 1 mL de la suspensión madre a un frasco con 99 mL de agua destilada estéril y de esta manera sucesivamente hasta encontrar el rango adecuado de lectura, los cuales fueron analizados por duplicado para dos diluciones consecutivas (Figura 8). De cada una de las diluciones se inoculó 1 mL en profundidad aplicando el método recuento de colonias, se llevó a incubación a 35 +/- 1 °C, durante 18 a 24 horas. Se realizó el conteo celular luego de transcurrido el periodo de incubación.

Luego de estandarizadas las suspensiones se procedió a la aplicación de los diferentes tratamientos: En 5 mL de caldo infusión cerebro corazón (BHI) se mezcló 1 mL de la suspensión celular con concentración conocida con 1 mL del extracto acuoso en cada una de las cinco concentraciones de (*C. verum*) (8 g/100 mL, 12 g/100 mL, 16 g/100 mL, 20 g/100 mL y 24 g/100 mL). Posteriormente se incubó a 35 +/- 1 °C, durante 18 a 24 horas, para comprobar finalmente la viabilidad de las células luego de la exposición a los extractos acuosos en un medio líquido nutritivo. Se realizó el conteo de las células viables utilizando la técnica de recuento de colonias en placa, inoculando en profundidad 1 mL de la mezcla de caldo nutritivo llevado previamente a incubación. Se llevó a incubación en aerobiosis a 35 +/- 1 °C, durante 18 a 24 horas, finalmente se realizó el conteo de las colonias y se estableció el porcentaje de remoción microbiana con respecto al conteo inicial en cada uno de los tratamientos.

Las mismas suspensiones microbianas con concentración conocida fueron aplicadas en las superficies de placas con agar PCA (Plate Count Agar), y posteriormente se ubicaron cinco discos de celulosa impregnados con cada una de las soluciones acuosos con *C. verum*) se llevó a incubación durante 24 +/- 2 horas y se tomó nota del halo de inhibición aclarado alrededor de los discos.

Nota: Se realizaron pruebas de identificación morfológica, agrupación y reacción a la tinción de Gram en las cepas de referencia utilizadas, evidenciando concordancia con respecto a las características esperadas. En la tabla 2 se resumen los resultados en la verificación de las propiedades microscópicas.

**Tabla 2.** Características morfológicas de las cepas de referencia

Cepa de referencia	Tinción de Gram	Morfología	Agrupación
<i>Enterococcus faecalis</i>	(+)	Cocos	En cadenas
<i>Bacillus cereus</i>	(+)	Bacilos cortos	En pares
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	Bacilos	En Pares
<i>Streptococcus bovis</i>	Gram (+)	Cocos	En cadenas
<i>Candida albicans</i>	No aplica	Ovaladas	En racimos

Resultados de la verificación microscópica luego de realizar el proceso de tinción de Gram, observando en el microscopio óptico a 100 X de aumento.

### 3. Resultados y discusión

**Fase I - Obtención de los extractos acuosos:** Se logró obtener extractos acuosos a partir de la materia seca de canela (*C. verum*), en una concentración de 0,2 g/L, lo cual se pudo incluir en la formulación del producto para los néctares de manzana, pera y durazno en la etapa previa al envasado. Se evidenció ausencia de microorganismos indicadores (mesófilos aerobios, mohos y levaduras) en las pruebas de control de calidad microbiológicas. Se presentó dificultad en la preparación de los extractos debido a que inicialmente la materia seca fue sometida a molienda, lo cual generó partículas finas que no quedaban retenidas en el filtrado primario, dificultando el paso de la solución a través de la membrana con diámetro de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ , por lo cual se realizó el ensayo con materia seca en astilla. Finalmente, los extractos presentaron características de turbiedad de acuerdo con las concentraciones preparadas las cuales fueron de 0,2 g/L, para la aplicación en el proceso de planta y de 8g/100 mL, 12g/100 mL, 16g/100 mL, 20g/100 mL y 24g/100 mL para la evaluación de acción antimicrobiana en condiciones de laboratorio. Es importante tener en cuenta que, a pesar del proceso de filtrado en dos etapas, el producto final de los extractos acuosos de *C. verum*, cambiaban sus características de textura, densidad y apariencia luego de almacenados durante dos o tres días, principalmente presentándose dos fases en la solución lo que es una alteración en el producto, es preciso mencionar que las pruebas microbiológicas para los extractos acuosos después del tercer día, almacenados entre 2° y 6 °C, arrojan resultados conformes los parámetros indicadores de microorganismos mesófilos aerobios, mohos y levaduras. Por lo anterior es importante evaluar la estabilidad y las características fisicoquímicas de los extractos acuosos en función del tiempo y de acuerdo con los objetivos de este estudio considerar la preparación inmediatamente antes de la adición a los tratamientos con la finalidad de favorecer una mayor estabilidad de los compuestos activos.

**Fase II - Inclusión de los extractos acuosos en el proceso de producción:** El proceso de inclusión de los extractos de *C. verum* en los tratamientos designados para los néctares de pera, durazno y manzana significó un reto muy complejo debido a que la variable concentración podía afectar significativamente el sabor de los néctares, por lo anterior se adicionó un volumen de 10 mL de extracto acuoso de canela en concentración de 0,2 gramos por cada litro de preparación. Al realizar las pruebas de laboratorio se evidencia un efecto positivo en la conservación de néctares de manzana por la adición de extractos acuosos de canela en las características microbiológicas, hasta el día 27 de producción, sin la aplicación de tratamiento térmico (pasteurización) y almacenadas en un rango de temperatura entre 16° y 25 °C. Con

respecto al tiempo de conservación se analiza que las variables temperatura de almacenamiento y la ausencia del tratamiento térmico, facilitan evidenciar el efecto de los extractos en un periodo de tiempo más reducido, por lo cual se considera una buena alternativa evaluar la acción de conservación por parte de los extractos en función de la temperatura de almacenamiento.

Se evidenció un efecto positivo en la conservación de los néctares de manzana y pera adicionados con extractos acuosos de canela en una concentración de 0,2 g/L, con respecto a los tratamientos control entre los días 20 y 30 post de producción. Para el caso de los néctares de durazno, no se evidenció un efecto significativo entre con respecto a los tratamientos control, para las muestras adicionadas con extractos acuosos de canela.

También fue posible verificar un comportamiento positivo en las muestras para los tratamientos adicionados con extractos acuosos de canela, con respecto al tratamiento con Sorbato de Potasio en la variable fisicoquímica pH, la cual presenta un comportamiento similar al tratamiento control (sin adición de conservantes), considerándose como un aporte importante en virtud de que el pH se constituye un factor sensible e influyente en el crecimiento microbiano y por ende se puede aprovechar en conjunto con las características del producto a trabajar como un factor de apoyo a la inhibición microbiana en las bebidas tipo néctares.

La variable pH fue afectada de manera significativa por la adición de extractos acuosos de canela, con referencia a los tratamientos con conservantes químicos convencionales (sorbato de potasio). Las variables mesófilas aerobios, mohos y levaduras, como indicadores de inocuidad fueron las más afectadas por la ausencia de conservantes en los tratamientos control.

Por otra parte, los parámetros seleccionados de carácter químico, después de comparar los efectos en las tres frutas, permiten observar que los grados Brix presentan un comportamiento muy inestable y por ende son los menos confiables, seguidos por el índice de acidez cuya variabilidad es menor, pero con presencia de datos por fuera del comportamiento medio esperado; Por último, el pH es la variable química que mejor se comportó en los análisis comparativos de las tres frutas.

Se identificaron las posibilidades de la inclusión de la canela como agente conservante, así como también considerando los aportes nutricionales que podría generar en diferentes alimentos de tipo bebidas y su incorporación en la gastronomía.

**Fase III - Evaluación *in vitro* de los extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*):** Al evaluar cinco cepas microbianas diferentes (*Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* y *Bacillus cereus*) un rango de 150 a 15.000 células/mL, se pudo evidenciar que los tratamientos aplicados para los extractos acuosos en cada una de las cepas de trabajo, presentaron un efecto de inhibición en las concentraciones más elevadas (20 g/100 mL y 24 g/100 mL) (Figura 9), para todas las poblaciones evaluadas, mostrando un efecto marcado en su acción sobre las cepas Gram (+) positivas (*S. bovis*, *E. faecalis* y *B. cereus*) y *C. albicans*.



**Figura 9.** Halo de inhibición para *Bacillus cereus*: Halo de inhibición para la cepa de referencia ATCC *Bacillus cereus*, al aplicar discos impregnados con extractos acuosos de canela (*Cinnamomum verum*) en una concentración de 24 g/100 mL.

En el transcurso de este estudio se pudo evidenciar que las concentraciones más bajas de los extractos acuosos de canela no presentaron efecto de inhibición microbiana en ninguna de las poblaciones evaluadas (Tabla 3), a pesar de que la concentración empleada a nivel de planta fue de 2 gramos por cada 100 mL de preparación; lo que se puede explicar al considerar la concentración celular de los tratamientos empleados y el rango de trabajo; lo que finalmente nos conduce a pensar que el efecto antimicrobiano de los agentes activos de la canela son influenciados directamente por la densidad de la población celular del sustrato en el que se pretenda emplear y el tiempo de exposición en las condiciones específicas de almacenamiento. Para el caso de los tratamientos evaluados en el proceso de producción y el estudio de vida útil, se contempló un tiempo prolongado de almacenamiento lo que probablemente pudo favorecer el comportamiento y la acción germicida de los extractos acuosos de canela sobre la carga presente en los productos, permitiendo evaluar la estabilidad de los agentes activos en la canela.

**Tabla 3.** Resultados halos de inhibición sobre cepas de referencia

Disco/ Concentración del extracto (gramos/100 mL).	<i>Enterococcus faecalis</i>				
	Halo de inhibición microbiana (mm)				
	6 g/100 mL	12 g/100 mL	16 g/100 mL	20 g/100 mL	24 g/100 mL
Disco 1	0,0	0,0	0,0	0,2	1,2
Disco 2	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5
Disco 3	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
Disco 4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
Disco 5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5

<i>Bacillus cereus</i>					
Disco/ Concentración del extracto (gramos/100 mL).	Halo de inhibición microbiana (mm)				
	6 g/100 mL	12 g/100 mL	16 g/100 mL	20 g/100 mL	24 g/100 mL
Disco 1	0,1	0,1	0,3	1,5	2,2
Disco 2	0,0	0,2	0,3	1,2	1,5
Disco 3	0,0	0,2	0,3	1,2	2,0
Disco 4	0,0	0,0	0,0	1,5	2,0
Disco 5	0,0	0,0	0,0	1,5	2,0

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>						
Disco/ Concentración del extracto (gramos/ mL).	Halo de inhibición microbiana (mm)					
	6 g/mL	12 g/mL	16 g/ mL	20 g/mL	24 g/mL	
Disco 1		0,1	0,2	0,3	0,4	0,7
Disco 2		0,1	0,2	0,3	0,3	0,5
Disco 3		0,1	0,2	0,2	0,3	0,5
Disco 4		0,0	0,0	0,2	0,3	0,4
Disco 5		0,0	0,0	0,3	0,3	0,5

<i>Streptococcus bovis</i>						
Disco/ Concentración del extracto (gramos/ mL).	Halo de inhibición microbiana (mm)					
	6 g/mL	12 g/mL	16 g/ mL	20 g/mL	24 g/mL	
Disco 1		0,2	0,3	0,7	1,7	2
Disco 2		0,2	0,2	0,4	2,0	2,5
Disco 3		0,2	0,3	0,2	2,5	2,5
Disco 4		0,3	0,2	0,3	1,0	2,5
Disco 5		0,2	0,2	0,2	1,5	2,5

<i>Candida albicans</i>						
Disco/ Concentración del extracto (gramos/ mL).	Halo de inhibición microbiana (mm)					
	6 g/mL	12 g/mL	16 g/ mL	20 g/mL	24 g/mL	
Disco 1		0,1	0,1	0,7	1,0	2,0
Disco 2		0,0	0,1	0,8	1,3	2,1
Disco 3		0,0	0,1	0,5	1,2	1,8
Disco 4		0,0	0,1	0,6	1,4	2,0
Disco 5		0,1	0,1	0,5	1,2	1,5

Resultados de la evaluación del espectro de inhibición microbiana, al someter las suspensiones microbianas de las cepas (*Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* y *Candida albicans*) a diferentes concentraciones de extractos acuosos de canela.

Por otra parte, se evidenció que los extractos acuosos de canela presentan efecto de reducción en la población microbiana de cuatro (4) cepas patógenas de importancia en alimentos (*S. bovis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *B. cereus*), en concentraciones dentro del rango entre  $1,5 \times 10^3$  y  $1,5 \times 10^5$  células/mL. En la tabla 4, se plasman los resultados del ensayo de evaluación de la reducción celular de las cepas de trabajo, encontrando en el estudio que los extractos acuosos de canela en las concentraciones de 8 g/100 ml, 12 g/100 ml, 16 g/100 ml, 20 g/100 ml y 24 g/100 ml ejercieron reducción de la población celular en las cepas Gram (+) positivas (*S. bovis*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *B. cereus*), para las cepas Gram (-) negativas (*P. aeruginosa*) solo se presentó reducción a partir de la concentración de 8 g/100 mL (Tabla 4). Se encontró un 100 % de remoción microbiana solo para las cepas *E. faecalis* y *P. aeruginosa* a partir de las concentraciones de 12 g/100 mL y 20 g/100 mL, respectivamente. Para las cepas de *S. bovis* y *B. cereus* se presentó una reducción de la concentración celular del 92,18% y 97,331%, respectivamente por lo cual podemos afirmar que los extractos acuosos de canela presentan una alta efectividad en inhibición del crecimiento para las cuatro cepas, resaltando una condición determinante que cumple el tiempo de exposición de los microorganismos en condiciones óptimas de crecimiento. Por los resultados también podemos mencionar que las cepas Gram (+) positivas son más susceptibles al efecto de los agentes activos presentes en los extractos acuosos de canela.

**Tabla 4.** Porcentaje de remoción microbiana

Concentración de Canela (g/100 mL)	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
8	87,989%	0,000%	86,874%	34,471%
12	87,989%	66,667%	89,946%	100,000%
16	91,992%	77,778%	90,505%	100,000%
20	95,996%	100,000%	91,063%	100,000%
24	97,331%	100,000%	92,180%	100,000%

Teniendo en cuenta los recuentos obtenidos en la estandarización de la concentración celular de las suspensiones preparadas se establece el porcentaje de eliminación microbiana en función del recuento final obtenido con relación al recuento inicial de las preparaciones, luego de aplicar los extractos acuosos de canela en diferentes concentraciones.

#### 4. Conclusiones y recomendaciones

Se evidencia un efecto positivo en la conservación de néctares de manzana y pera por la adición de extractos acuosos de canela en las características microbiológicas, hasta el día 27 de producción, sin la aplicación de tratamiento térmico de pasteurización.

La variable pH es afectada de manera significativa por la adición de extractos acuosos de canela, con referencia a los tratamientos con conservantes químicos convencionales.

Las variables mesófilos aerobios, mohos y levaduras, como indicadores de inocuidad son las más afectadas por la ausencia de conservantes en los tratamientos control.

Los extractos acuosos de canela presentan un efecto de inhibición microbiana significativo, generando mayor efecto sobre las cepas microbianas Gram (+) positivas.

Todas las cepas de trabajo fueron afectadas por la exposición al efecto de los extractos acuosos de canela generando mejores resultados con respecto al rango de inhibición de crecimiento celular en las concentraciones más elevadas de canela.

El tiempo de exposición es una variable muy importante relacionada con la eficiencia de los extractos acuosos de canela frente a la eliminación de la carga microbiana, se recomienda evaluar la estabilidad de los agentes activos de los extractos acuosos de canela y su interacción con los componentes de los sustratos en los que se pretende aplicar.

Se recomienda caracterizar las propiedades de la variedad de canela empleada en el proceso de evaluación en miras a la implementación de extractos aceitosos en otros procesos de producción como cárnicos, panadería y repostería.

Evaluar la capacidad de inhibición microbiana de los extractos aceitosos de sustratos como clavo, laurel, orégano, tomillo, anís estrellado, ajo y pimentón; en condiciones de laboratorio frente a cepas de importancia en control de calidad de alimentos e implementar su uso en los procesos de producción de alimentos derivados cárnicos.

## Agradecimientos

Los agradecimientos de este estudio están dirigidos a:

Los aprendices pertenecientes al grupo de semillero de investigación “Alimentos Orgánicos” y aprendices de los programas de Tecnología en control de calidad de alimentos y Tecnología en Procesamiento de alimentos en formación del Centro Nacional de Hotelería, Turismo y Alimentos – Regional Distrito Capital.

Equipo de instructores del Centro Nacional de Hotelería, Turismo y Alimentos quienes aportaron sus conocimientos en el desarrollo de este estudio; especialmente a los Instructores (a) Ing. Graciela Torres, Ing. Juan Carlos Cruz, Ing. Natalia Cucaita, Qco. Jorge Armando Martínez, Ing. Diego González Páez.

## Referencias

1. Ministerio de salud y de protección social. (2013). Perfil nacional de consumo de frutas y verduras. Recuperado de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA/perfil-nacional-consumo-frutas-y-verduras-colombia-2013.pdf>
2. Zenith International. (17 de agosto de 2015). Juice innovation around the world. Zenith International. <https://www.revistavirtualpro.com/noticias/el-consumo-mundial-de-jugos-aumentaria-5-al-ano>
3. Ministerio de salud y de protección social. (2013). Resolución 3929 de 2013. Recuperado de: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-3929-de-2013.pdf>

4. Valencia, S. C. E, Guevara, P. A. (2013). Variación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos durante el procesamiento del néctar de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(2), 116–125.
5. Rodríguez S., E. N. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Revista Ra Ximhai*, 7(1), 153-170.
6. Alvarado H., A. M., Barrera N., L. L., Hernández L., A. N., y Velázquez V., M. G. (2012). Efecto antifúngico in vitro e in situ del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb:Fr.) Vuill. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional] Repositorio Institucional IPN <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/7172>
7. González C, M. V. (2010). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*). [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo] Repositorio Institucional ESPOCH <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/737>
8. Armas C., C. Márquez V, L., Pretell V, C. (2011). Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado. *Pueblo Continente*, 22(1), 123–132.
9. Cáceres R, L, I., Colorado V, R., Salas M, E., Muñoz C, L. N, y Hernández O, L. (2013). Actividad Antifúngica in vitro de Extractos Acuosa de Especies contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium digitatum* y *Aspergillus niger*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(2), 105–112.
10. Pastrana P, Y. I., Durango V, A. M, y Acevedo C, D. (2017). Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(1), 56–65.
11. García-Camarillo, E. A., Quezada-Viay, M. Y., Moreno-Lara, J., Sánchez-Hernández, G., Moreno-Martínez, E., y Pérez-Reyes, M. C. J. (2006). Actividad Antifúngica de Aceites Esenciales de Canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su Efecto sobre la Producción de Aflatoxinas en Nuez Pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 8–12.
12. Castaño S, M. V. (2012). Evaluación de la capacidad conservante de los aceites esenciales de clavo (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*), sobre la levadura (*Rhodotorula mucilaginosa*) en leche chocolatada. [Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia] Repositorio Institucional UNAL <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11663>
13. López-Benítez, A., López-Betancourt, S. R., Vázquez-Badillo, M. E., Rodríguez-Herrera, S. A., Mendoza-Elos, M., y Padrón-Corral, E. (2005). Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuosa. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(2), 183–190.

14. Narváez G, S. A. (2006). Evaluación del efecto antifúngico In Vitro del aceite esencial de hoja de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) puro y microencapsulado [Tesis de pregrado] Repositorio Institucional Zamorano. <http://hdl.handle.net/11036/766>
15. Sánchez-Barrueto, C., y Luján-Corro, M. (2013). Efecto antimicrobiano del aceite esencial y del extracto acuoso de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre *Candida albicans* y *Streptococcus mutans*. *SCIENDO*, 16(1), 68–78.
16. Martín G, D. (2015). Evaluación de la capacidad antioxidante de la miel y su potencial como conservante natural. [Tesis de grado, Universidad de Salamanca] Repositorio Documental Gredos. [https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/128094/TG\\_%20MARTIN%20GARRETAS%2c%20David\\_Evaluaci%3%b3n%20de%20la%20capacidad.zip?sequence=1&isAllowed=y](https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/128094/TG_%20MARTIN%20GARRETAS%2c%20David_Evaluaci%3%b3n%20de%20la%20capacidad.zip?sequence=1&isAllowed=y)
17. Murillo, E., Fernández, K., Viña, A., y Méndez, J. J. (2007). Actividad antioxidante in vitro y antimicrobiana de extractos metanólicos de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué. *Revista Tumbaga*, 1(2), 72 – 84.
18. Ochoa F, Y M., Cerna C, E., Landeros F, J., Hernández C, S., y Delgado O, J. C. (2012). Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 81, 69-73.
19. Gutiérrez G, M. L., Armas G, C., Alejo I, F., Márquez y L, M. A. (2015). Evaluación de Bacterias acidófilas como indicadores de inocuidad en aderezos. *Revista de divulgación científica*, 1(1), 111 – 116.
20. Cabrera P, L., Ojeda R, G., Céspedes, E., y Colina, A. (2003). Actividad antibacteriana de miel de abejas multiflorales (*Apis mellifera scutellata*) de cuatro zonas apícolas del estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 18(3), 205-211.

**Pablo Ernesto Milian Mindiola**  
Microbiólogo, Esp. Sistema de  
Gestión de Laboratorio de ensayos  
ISO/IEC 17025. Instructor  
Microbiología - Centro Nacional de  
Hotelería, Turismo y Alimentos  
SENA.  
[pemilian@misena.edu.co](mailto:pemilian@misena.edu.co)