

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN EN CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



Evaluación del impacto del tamaño de partícula de extractos de canela en la textura y potencial actividad antimicrobiana contra flora bacteriana bucal.

POR

LETICIA JIMENEZ FRANCO

TESIS

Presentada como requisito parcial para poder obtener el título profesional de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Abril 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIAL ANIMAL

Departamento de ciencia y tecnología de alimentos

**Evaluación del impacto del tamaño de partícula de extractos de canela en la
textura y potencial actividad antimicrobiana contra flora bacteriana bucal.**

TESIS

presentada por

LETICIA JIMÉNEZ FRANCO

Y que somete a consideración del H. jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título profesional de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobado por:



Dra. María Hernández González

Presidente



M.C. Haydeé Yajaira López De la Peña

Vocal



M.P. Francisco Hernández Centeno

Vocal



Dr. Uriel Alejandro Sierra Gómez

Vocal



Dr. José Duñez Alanís

Coordinador de la División de Ciencia Animal



Saltillo, Coahuila, México, abril 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIAL ANIMAL

Departamento de ciencia y tecnología de alimentos

**Evaluación del impacto del tamaño de partícula de extractos de canela en la
textura y potencial actividad antimicrobiana contra flora bacteriana bucal.**

TESIS

presentada por

LETICIA JIMÈNEZ FRANCO

Y que somete a consideración del H. jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el título profesional de

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Fue dirigida por el siguiente comité:

Dr. Maria Hernández González

Asesor principal

M.P Francisco Hernández Centeno

Co-asesor

M.C. Haydeé Yajaira López De la Peña

Co-asesor

Dr. Uriel Alejandro Sierra Gómez

Co-asesor

Saltillo, Coahuila, México, abril 2022

Declaración de no plagio

El autor quien es responsable directo, jura bajo protesta decir la verdad, que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos: Reducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (copiado y pegado); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como copia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin comillas; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. En este sentido, lo anterior puede ser confirmado por el lector, estando consciente de que, en caso de comprobarse plagio en el texto, no respetar los derechos de autor, edición o modificación, será sancionado por las autoridades correspondientes. Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias generadas en caso de existir cualquier tipo de plagio y declaro que este trabajo es original.

ATENTAMENTE

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Leticia Jiménez Franco', with a small star symbol above the final part of the signature.

Leticia Jiménez Franco

AGRADECIMIENTO

Principalmente a Dios por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

A mis padres, ustedes que han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida.

A toda mi familia, por apoyarme cuando mis ánimos decaían, en especial mi tía Teresa Ortega por siempre darme sus consejos y las llamadas de atención para lograr con el objetivo que me propuse desde un principio.

A mi Alma Mater Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, quien me abrió las puertas y me dio muchas oportunidades tanto académicas, sociales y culturales.

A mi Asesora de tesis la Dra. María Hernández González quien con sus conocimientos y apoyo me guio a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.

A mi tutora Sarahi Rangel Ortega, por apoyarme en lo académico desde el inicio de la carrera hasta culminar con ella.

A mis profesores que sus palabras fueron sabias, sus conocimientos rigurosos y precisos, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación perseverancia y tolerancia.

A mis amigos y compañeros de viaje, hoy culminan esta maravillosa aventura y no puedo dejar de recordar cuantas tardes y horas de trabajo nos juntamos a lo largo de nuestra formación y no puedo dejar de agradecerles por su apoyo y constancia, al estar en las horas más difíciles y compartir horas de estudio.

Al grupo de danza Macehualiztli, que gracias a ellos conocí el amor hacia el folcklore.

DEDICATORIA

*A mis padres Felipa Franco Vásquez y Claver
Jiménez Ramírez, a mis hermanos Miguel
Ángel, Félix y José.*

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO.....	5
DEDICATORIA.....	6
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	11
ABREVIATURAS.....	12
RESUMEN	13
I. INTRODUCCION	14
III. JUSTIFICACION	16
IV. HIPOTESIS	17
V. OBJETIVOS	18
4.1 Objetivo general.....	18
4.2 Objetivos específicos	18
VI. MARCO DE REFERENCIA	19
5.1 Aceites esenciales.....	19
5.1.1 Aceite esencial de canela.....	19
5.1.2 Cinamaldehído generalidad, propiedades y retos	20
5.4 Clasificación de los agentes activos.....	22
5.4.1 Naturales.....	22
5.4.2 Sintéticos	23
5.4.3 Eficiencia en función a pureza y tamaño de partícula.....	23
5.5 Vehículos y excipientes para el transporte de principios activos.....	23
.5.1 Ventajas y desventajas del uso de vehículos de transporte	23
.5.2 Tipos de agentes de transporte y afinidad.....	24
5.5.3 Vehículos de liberación prolongada.....	24
5.5.4 Selección y compatibilidad	25
5.5.5 Tipos de vehículos.....	25

5.6	Aplicación de los microencapsulados en la industria	25
5.6.1	Microencapsulados como agentes antimicrobianos	26
5.7	Importancia de la textura.....	27
VII.	MATERIALES Y METODOS	28
7.1	Equipos, materiales y reactivos.	28
7.1.1	Etapa 1: Obtención de los extractos (Cinamaldehído y esteviosidos)...	29
7.1.1.1	Extracción de cinamaldehído	29
7.1.1.2	Extracción de los esteviosidos	30
7.2	Etapa 2: Evaluación de la actividad antimicrobiana	31
7.2.1	Preparación del inóculo <i>staphylococcus aureus</i>	31
7.2.2	Preparación del inóculo de flora bucal.....	31
7.3	Etapa 3: Obtención de la mezcla para la goma de mascar	32
7.4	Etapa 4: Evaluación de los parámetros de textura de la goma de mascar	33
7.5	Etapa 5: Evaluación de la evaluación antimicrobiana.	34
VIII.	RESULTADOS	36
8.1	Extractos.....	36
8.1.1	Extracto de Cinamaldehído	36
8.1.2	Extracto de Stevia.....	37
8.2	Inóculos	37
8.2.1	Caracterización macroscópica de los inóculos	37
8.2.2	Caracterización microscópica	37
8.3	Actividad antimicrobiana	39
8.4	Goma de mascar.....	40
8.5	Parámetros de textura.	41
8.5.1	Evaluación de tensión en las mezclas.	41

8.5.2	Evaluación del % de elongación	42
8.5.3	Evaluación modulo elástico.	43
8.5.4	APT de las mezclas.....	44
IX.	CONCLUSIONES	48
X.	BIBLIOGRAFIA	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Equipos, materiales y reactivos usados durante el experimento	28
Tabla 2. Cantidades para la elaboración de los antibiogramas	32
Tabla 3. Actividad microbiana en las diferentes mezclas.....	39
Tabla 4. Análisis de APT de las mezclas	45
Tabla 5. Análisis de tensión	55
Tabla 6. Análisis de % de elongación	56
Tabla 7. Análisis de modo elástico.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Instalación del equipo soxhlet	30
Figura 2. Muestras de Stevia.....	31
Figura 3. Tubos de ensaye con infusión agar cerebro corazón.	32
Figura 4. a. Elaboración de la base de goma, b. Mezcla terminada e identificada.	33
Figura 5. a.Texturómetro Brookfiel CT3, b.Texturómetro en prueba de TPA para probeta de goma con cinamaldehido, c Texturómetro en prueba de tensión para probeta de goma con cinamaldehido	34
Figura 6. a. Identificación de las cajas Petri, b. realización del procedimiento, c. caja Petri con inóculo y la mezcla.	35
Figura 7. Extractos d canela en malla 80 y 120.....	36
Figura 8 a. frotis de flora bucal 100X b. frotis de Staphylococcus aureus	38
Figura 9. Mezcla de chicle con 10 mL de cinamaldehído y 40 mL de Stevia.	41
Figura 10. Análisis de tensión.....	41
Figura 11. Análisis de % de elongación.....	43
Figura 12. Análisis modo elástico	44

ABREVIATURAS

UE: Unión Europea

CIQA: Centro de Investigación en Química Aplicada

ICTA: Ingeniería en ciencia y tecnología de alimentos

mL: mililitro

g: gramo

N: Newton

Lt: litro

mPa: mega pascales

Pa: pascales

μm : micrómetro

Mm: milímetro

Mj: micro joule

APT: Análisis de Perfil de Textura

H: horas

Min: minuto

μL : micro litro

CMB: concentración mínima bactericida

CMI: concentración mínima inhibitoria

RESUMEN

La canela es una especie reconocida por sus propiedades organolépticas y preservativas, debido a su potencial antioxidante y antimicrobiano. El cinamaldehído y el ácido cinámico, son los principios activos, a los cuales están vinculadas dichas propiedades, por lo que los procesos para su extracción a partir de la matriz en la cual se encuentran inmersos resultan de interés, ya que permiten conocer las condiciones que permitan la mejor eficiencia para obtener los metabolitos de interés. En este sentido tanto el medio extractor como el tamaño de partícula de las muestras deben ser probados. El presente trabajo consistió en la evaluación del impacto del tamaño de partícula para obtener extractos de canela y su impacto en la potencial actividad antimicrobiana contra flora bacteriana bucal, y contra agentes patógenos como lo es el *Staphylococcus aureus*, así como el impacto en la textura de un producto desarrollado a partir de dichos extractos, la goma de mascar. Para ello se realizaron moliendas de canela llevándolas a la reducción de tres tamaños de partícula correspondientes a las mallas 80, 100 y 120, para la posterior obtención de extractos en base etanólica con los cuales se elaboraron gomas de mascar las cuales fueron evaluadas en cuanto a sus propiedades de textura, mediante un análisis TPA (Texture Profile Analysis) por sus siglas en inglés, pruebas de elongación, tensión, así como de actividad antimicrobiana contra flora bucal normal y contra *Staphylococcus aureus*, mediante la técnica de difusión en placa. De lo anterior fue posible apreciar que los inculos de flora bucal de individuos sanos mostraron sensibilidad en cuando a su desarrollo frente a los extractos provenientes de tamices de malla 100 y 120, no sucediendo así para los de 80. El extracto proveniente el tamiz de malla 100 fue eficaz para inhibir el desarrollo de un inculo infeccioso de *S. aureus*, no ocurriendo de la misma manera para los extractos de los tamices de 80 y 120. Las mezclas de goma de mascar elaboradas con los extractos obtenidos presentaron parámetros de textura que se encuentran dentro de los rangos reportados para gomas de mascar comerciales, teniendo que los provenientes de tamanos de partícula más bajos generan gomas ligeramente más duras.

I. INTRODUCCION

Los aceites esenciales derivados de plantas han sido ampliamente utilizados por sus actividades fungicidas, insecticidas y antimicrobianas, se ha encontrado que los aceites esenciales de tomillo, orégano, menta, canela, salvia y clavo poseen las más potentes propiedades antimicrobianas; así mismo, son generalmente reconocidos como seguros y se usan comúnmente en la medicina naturista como saborizantes, aromatizantes en alimentos y en la industria de fragancias. En general, respecto a la canela, la especie más común es *Cinnamomum zeylanicum* y su concentración de aceite esencial oscila entre 0.5 a 3.0 % (Gomez & Et. Al, 2009).

La canela es de la familia lauraceae, del género cinnamomum que comprende aproximadamente 250 especies, el árbol es nativo de la India e Indochina. Los principales componentes de su aceite esencial que provienen de la corteza son: aldehído cinámico (50-80%), eugenol (9- 10%), safrol (0-11%), linalol (10-15%), contiene otros fenilpropanoides (aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, alcohol cinámico y su acetato) y terpenos (limoneno y α -terpineol) (Marca M., 2013). Como se puede apreciar el componente mayoritario es el cinamaldehído (3-fenil-2-propenal), el cual es soluble en éter, cloroformo, alcoholes y aceites, pero insoluble en éter de petróleo, tiene una presión de vapor de 1 mm Hg a 76 °C (Estrada Santizo, 2015). Además, es el responsable del sabor y del olor característico de la canela y posee actividad bactericida y fungicidas (Shinjyo et al, 2020), por lo cual puede ser empleado para el control de este tipo de flora que está presente en diversas fuentes tanto biológicas, como no biológicas.

La microflora oral es el conjunto de los microorganismos que viven en la boca, se han identificado más de 700 especies de bacterias que pueden encontrarse dentro de la boca, según señala un estudio del Journal of Bacteriology (Ramos Perfecto & Brañez, 2016). El desequilibrio entre los diferentes tipos de bacterias favorece a los microorganismos que pueden ser nocivos al desempeñar una función esencial en el proceso patológico (Ramos Perfecto & Brañez, 2016).

Los antisépticos contra flora bucal fenoles y aceites esenciales se han usado en colutorios y caramelos el más conocido es el Listerine (enjuague), triclosán que ha sido utilizado en jabones, y pastas de dientes, fluoruros generalmente administrados en pasta dentífrica (Bascones A, 2006).

Por lo anteriormente expuesto en el presente trabajo se desarrollaron formulaciones a base de extractos de canela para gomas de mascar y se evaluó su eficiencia como agente antimicrobiano, contra la flora bacteriana bucal y *Staphylococcus aureus*, dada su importancia en factores de salud.

III. JUSTIFICACION

El uso gastronómico y medicinal de la canela se ha difundido por generaciones en el país, sin embargo, el conocimiento de los componentes que brindan las propiedades medicinales, antimicrobianas y alimenticias es mínima.

Los aceites esenciales de plantas aromáticas poseen un fuerte potencial antimicrobiano y antioxidante, además de tener una amplia variedad de compuestos químicos que actúan estableciendo relaciones de sinergismo para realizar las actividades antimicrobianas. En el aceite esencial de canela se encuentra un compuesto que tiene una gran actividad antimicrobiana (cinamaldehído), y al ser este un compuesto fácil de conseguir y extraer se ha vuelto una tendencia en la industria alimentaria. El cinamaldehído según diferentes estudios ha demostrado que es el mejor como agente antimicrobiano, por lo que en la industria alimentaria ha tenido gran relevancia para retardar el crecimiento antimicrobiano en los alimentos y estos puedan conservarse con calidad por un prolongado tiempo.

El cinamaldehído presenta un efecto antibacteriano contra las bacterias Gram negativas, dado que poseen una membrana externa rica en lipopolisacáridos que le proporciona una superficie hidrofílica.

La relación de las personas y las bacterias es algo particular. Aunque algunos de estos microorganismos atacan y resultan dañinos para la salud humana, muchas especies bacterianas viven en armonía con el ser humano. La boca es un buen ejemplo de almacenaje de bacterias, puesto que posee más de 600 especies, a pesar de su pequeño tamaño las bacterias tienen una gran importancia para la cavidad oral, puesto que de ellas depende que la cavidad bucal este sana o que se sufra de diversas afecciones.

En la presente investigación se desarrollarán formulaciones con extractos de canela, obtenidos a partir de moliendas a diferentes tamaños de partícula, inclusionados en una base para goma de mascar con la finalidad de evaluar su eficiencia antimicrobiana de tanto en cultivos microbianos procedentes de flora bucal normal como de *Staphylococcus aureus*.

IV. HIPOTESIS

H: La reducción del tamaño de partícula afecta la textura y capacidad antimicrobiana de extractos de canela inclusionados en base para goma de mascar.

H0: La reducción del tamaño de partícula no afecta la textura y capacidad antimicrobiana de extractos de canela inclusionados en base para goma de mascar.

V. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Evaluar la textura y eficiencia antibacteriana de extractos de canela provenientes de diferentes tamaños de partícula.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener, extractos de aceite esencial de canela de diferentes tamaños de partícula.
- Encapsular los extractos obtenidos
- Evaluar la eficiencia antimicrobiana de los productos encapsulados cultivos de microorganismos Gram positivos y flora normal bucal.
- Evaluar la textura del producto encapsulado.

VI. MARCO DE REFERENCIA

5.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales también llamados esencias, aceites volátiles o aceites etéreos, son una mezcla de sustancias aromáticas producidas por muchas plantas. Están presentes en minúsculas gotas en las hojas, en la piel de la fruta, en la resina, en la madera o en las ramas. (Padrini & Lucheroni, 1997)

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes). (Martínez M., 2003)

Se les llaman aceites por su naturaleza física y porque su consistencia es bastante parecida a la de los aceites grasos (aceites fijos), pero se distinguen de ellos, porque al dejar caer unas gotas de aceite esencial sobre un papel, estas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella, ni mancha grasosa (Asbahani et al., 2015). Dado que los aceites esenciales se encuentran en muy pequeña concentración en la planta, por lo que es necesario una gran cantidad de material vegetal.

5.1.1 Aceite esencial de canela

Cinnamomum zeylanicum Blume “canela” pertenece a la familia Lauraceae, es un pequeño árbol que alcanza entre 3 y 10 m. de altura. Esta planta es originaria de Ceilán y suroeste de la India (Juárez, 2015)

Los principales componentes del aceite esencial (0,5-2%) de la corteza de canela son: aldehído cinámico (50-80%), eugenol (9- 10%), safrol (0-11%), linalol (10-15%), contiene otros fenilpropanoides (aldehído hidroxicinámico, aldehído o-metoxicinámico, alcohol cinámico y su acetato) y terpenos (limoneno y α -terpineol) (Marca M., 2013). Ensayos realizados en cinco especies de “canela”, *Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum tamal*, *Cinnamomun burmannii* y *Cinnamomm pauciflorum* para determinar el contenido de cinamaldehido y eugenol, se encontró que la *C. cassia* y *C. zeylanicum* tenían la mayor cantidad de

cinamaldehído y *C. zeylanicum*, *C. burmannii* y *C. pauciflorum* eran ricas en eugenol. (Wang et al., 2009)

5.1.2 Cinamaldehído generalidad, propiedades y retos

El cinamaldehído, el cual es responsable de los característicos sabor y olor de la canela, de fórmula molecular C_9H_8O y masa molecular 136.2 g/mol, se encuentra presente en la naturaleza como trans-cinamaldehído, y está compuesto por un aldehído insaturado unido a un grupo fenilo; por ello, tiene aromaticidad. Es de color amarillo pálido, y presenta una baja solubilidad en agua, siendo muy soluble en aceites. (Carrizosa, 2000)

Esta sustancia posee alta actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antioxidante y en la actualidad se utiliza ampliamente en las industrias de cosméticos, de alimentos y de productos farmacéuticos. Sin embargo, posee algunos inconvenientes como son su fuerte olor y su alta volatilidad (Casado, 2016).

5.1.2.1 Comercialización del cinamaldehído

Existen 10 proveedores de Aceite esencial de canela en el Centro de Negocios para la Industria. El aceite de canela en particular es un aceite escaso con mayor valor económico, así que solamente se necesita exportar pequeños volúmenes para tener un impacto importante para los productores (Necesidad, 2021).

Las empresas comercializadoras de aceite de canela son: Natural Taste International (Estados Unidos), CODISA (Colombia), Biorganix (Mexico), Laboratorios Hersol (México).

5.2 Flora bucal

La microbiota oral es uno de los ecosistemas microbianos más antiguos en ser reconocido, y su descripción inicia en 1863 cuando Anton Van Leeuwenhoek observa por primera vez en el microscopio a estos microorganismos en placas dentales (Héctor Alejandro Serrano-Coll 1, 2015).

Se considera que la cavidad oral del ser humano es el nicho ecológico con mayor biodiversidad conocido hasta ahora. En el año 2001 se estimaba que existían 500 especies en la cavidad oral, hoy se calcula que serían unas 700 las que la habitan (Perea, 2004).

La presencia de esta flora bucal no es origen de enfermedad, pero el desequilibrio cualitativo y cuantitativo de este ecosistema es la base de infecciones prevalentes en la población como la caries dental y las enfermedades periodontales, que presentan factores de riesgo significativos para condiciones de salud humana, tales como tumores, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, bacteriemia, el parto prematuro y el bajo peso al nacer en los bebés . (MARTÍNEZ, 2003).

En la etiología de las enfermedades periodontales cabe destacar por su frecuencia y la importancia de sus complicaciones, una serie de especies como son *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Tannerella forsythensis*, en el proceso infeccioso se encuentran las bacterias como: *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* (Bascones Martínez A, 2004).

5.3 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es una bacteria muy resistente que se encuentra en el medio ambiente y está ampliamente distribuida en la naturaleza. Su principal reservorio son los animales y las personas.

Staphylococcus aureus es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. Es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida (Cervantes-García E, 2014).

Se ha informado ampliamente que *Staphylococcus aureus* es la causa bacteriana más común de miocarditis y generalmente ocurre en el contexto de bacteriemia y sepsis (McGee, 2018).

Pertenece al género *Staphylococcus* de la familia micrococcaceae. Las especies del género staphylococcus son cocos Gram positivos de 0.5 a 1 µm de diámetro, inmóviles, aerobios y anaerobios (Ordás, 2006).

En medios no selectivos, presenta colonias de 1 a 3 mm de diámetro, lisas, levemente elevadas, de bordes enteros, levemente convexas y generalmente pigmentadas con un color que puede ir desde el crema al amarillo, cuando crecen en agar sangre ovina se puede observar una zona de β-hemólisis alrededor de las colonias. Presenta colonias generalmente de menor tamaño y estas no presentan pigmentación (Guevara L., 2017).

El vehículo de contaminación *S. aureus* puede transferirse a los alimentos a través de ambientes y de superficies inertes y vivas (Fuentes R. S, 211).

5.4 Clasificación de los agentes activos

Se entiende por principio activo aquella molécula, producto del metabolismo de los organismos vegetales, que posee actividad farmacológica y que es susceptible de utilización terapéutica (Talevi, 2020).

Algunos principios activos son poco solubles, se absorben muy lentamente, o bien pueden ser irregularmente absorbidos por el organismo (Lluís Berdones, 1995).

5.4.1 Naturales

Los agentes activos naturales son productos medicinales acabados y etiquetados cuyos ingredientes activos están formados por partes aéreas o subterráneas de plantas u otro material vegetal, o combinaciones de éstos. Por material vegetal se entiende: jugos, resinas, aceites vegetales y cualquier otra sustancia de naturaleza semejante (Soler Cano et al., 2009).

Algunos ejemplos de agentes activos naturales son: los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos o heterósidos, los mucílagos y gomas, y los taninos (Orellana, 2014).

5.4.2 Sintéticos

Los agentes activos sintéticos vienen de materiales fundamentales que no se encuentran en la naturaleza. En vez, son producidos por el hombre de piezas químicas más pequeñas (Moreno-Ortiz et al., 2013). Algunos ejemplos de principios de origen sintético son: vitamina A, vitamina C, vitamina B, vitamina E, vitamina B₃, Ácido hialurónico (Gimena & Micaela, n.d.)

5.4.3 Eficiencia en función a pureza y tamaño de partícula

El tamaño de partícula de los principios activos y de los excipientes influye directamente en la velocidad de disolución y en la homogeneidad del lote (peso o riqueza) (García, 2001).

5.5 Vehículos y excipientes para el transporte de principios activos

El vehículo es la suma de los excipientes en los que puede estar inmerso un principio activo para que pueda ser aplicado en la piel y los excipientes se le adjuntan para modificar sus características organolépticas u otras (Em, 2021).

El vehículo ideal debe ser cosméticamente agradable, no irritante, no tóxico, no alérgico, fácil de aplicar, químicamente estable y compatible con el producto activo. Los vehículos más comunes son el agua, la solución salina, el polietilenglicol, los aceites vegetales, el dimetilsulfóxido y varios solventes orgánicos. (Cinfa, 2016).

.5.1 Ventajas y desventajas del uso de vehículos de transporte

Algunas ventajas que encontramos del uso de vehículos de transporte de los principios activos son (Cañigüeral & Villa, 2018):

- Aumentan el volumen de la fórmula.
- Aseguran la estabilidad del principio activo, actúan como conservantes o antioxidantes

- Permiten "vehicular" ese principio activo, como lubricantes, deshidratantes, aglutinantes, espesantes.
- Como colorantes, edulcorantes y aromatizantes mejoran las propiedades organolépticas (es decir el sabor, el olor y la apariencia) del fármaco facilitando su ingesta.
- Mejoran la biodisponibilidad (es decir la cantidad de fármaco que llega al torrente sanguíneo).

Desventajas del uso de vehículos de transporte de los principios activos (Echegaray Rodríguez et al., 2011).

- Algunos son tóxicos.
- Son costosos.
- Principios activos con sabores amargos, olores desagradables o sensibles al oxígeno.
- Principios activos con pobre humectabilidad, bajas propiedades de disolución o gran dosificación.

.5.2 Tipos de agentes de transporte y afinidad

La absorción de un agente activo depende de sus propiedades fisicoquímicas, su formulación y su vía de administración, pueden atravesar las membranas celulares por (Vertzoni et al., 2019):

- Difusión pasiva
- Difusión pasiva facilitada
- Transporte activo
- Pinocitosis

5.5.3 Vehículos de liberación prolongada

La liberación prolongada del principio activo se libera inicialmente en proporción suficiente para producir su efecto, y después, de manera lenta, no necesariamente

constante, manteniendo la concentración eficaz durante más tiempo (Domínguez, 2005).

Matrices inertes lipídicas o hidrófilas: consistentes en una matriz polimérica en la que está embebido el fármaco. Su difusión está determinada por las características fisicoquímicas del principio activo y de la matriz. El *MST Continus* obedece a este tipo de formulación (Salud, 2007).

Microcápsulas, microgránulos o microesferas: consistentes en la aplicación de una fina cubierta de gelatina u otros materiales de naturaleza polimérica sobre pequeñas partículas que contienen uno o varios principios activos. La permeabilidad de la cubierta condiciona la velocidad de liberación. Las microcápsulas, microgránulos o microesferas pueden comprimirse (*Beloken Retard*) o introducirse en una cápsula (Salud, 2007).

5.5.4 Selección y compatibilidad

Para elegir correctamente el vehículo adecuado hay que tener en cuenta:

Polaridad: Debe ser lo más parecida a la del soluto.

pH: El vehículo debe proporcionar un pH adecuado para garantizar la solubilidad y/o estabilidad del principio activo, pero sin perder de vista la tolerancia fisiológica del preparado.

Al seleccionar correctamente el vehículo permitirá favorecer la actividad de los principios activos y mantener la estabilidad de la preparación (Masanas, 2021).

5.5.5 Tipos de vehículos

Los vehículos o excipientes son las grasas, los polvos y los líquidos (Terapia, 2021).

5.6 Aplicación de los microencapsulados en la industria

La microencapsulación consiste en un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas en forma líquida o gaseosa (enzimas, sabores, vitaminas o aceites esenciales) son introducidas en una matriz homogénea o heterogénea, con el

objetivo de impedir su pérdida, para protegerlas de la reacción con otros compuestos presentes en el alimento, impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno o controlar su liberación hasta llegar a su objetivo (Jesús et al., 2016).

Las aplicaciones de esta técnica han ido incrementándose en la industria de los alimentos debido a la protección de los materiales encapsulados de factores como calor y humedad, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad. La microencapsulación puede mejorar el sabor y la estabilidad de medicamentos. Las microcápsulas han sido también barreras contra malos olores y sabores, las microcápsulas ayudan a que los materiales frágiles resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de sus productos. La industria alimentaria busca la microencapsulación para reducir costos en diferentes procesos (HAS, 2013).

5.6.1 Microencapsulados como agentes antimicrobianos

La mayoría de investigaciones y desarrollos que se han hecho hasta la fecha en la UE relacionados con la microencapsulación de antimicrobianos van orientadas al empleo de materiales de naturaleza orgánica y las tecnologías empleadas están centradas en la preparación de emulsiones. Se ha hecho muy poco en lo relativo a la microencapsulación con materiales antimicrobianos de aplicación en alimentos orientadas principalmente a superar barreras mecánicas y térmicas que puedan hallarse en los procesos productivos (Fay, 1967).

5.6.1.1 Mecanismos

El proceso de microencapsulación con alginato se lleva a cabo a través de dos mecanismos de gelificación iónica: la gelificación externa y la gelificación interna, dependiendo de si el calcio se suministra desde fuera de las cápsulas o en el interior de las mismas. Para la preparación de microcápsulas de alginato de calcio con aplicaciones alimentarias, se tienen las técnicas por extrusión, en emulsión y secado por atomización (Lupo et al., 2012).

5.6.1.2 Aplicaciones

La aplicación de los microenpasulados no se limita únicamente al campo de los medicamentos, sino que se extiende a campos tan diversos como la agricultura, la cosmética y la alimentación. Actualmente en el ámbito alimentario la encapsulación se aplica para estabilizar y/o proteger numerosos ingredientes o sustancias activas (colorantes, aromas, microorganismos, antioxidantes, antimicrobianos o nutrientes) frente a la oxidación, fotosensibilidad, volatilidad o la reacción con otros compuestos presentes en el alimento; para mejorar su dosificación; enmascarar sabores y olores desagradables de algunos compuestos; controlar la liberación de sustancias activas a una velocidad o localización determinada, y para mejorar la biodisponibilidad de determinados nutrientes (Alfredo *et al.*, 2002).

5.7 Importancia de la textura

La textura es un atributo de calidad utilizado en la industria de los alimentos, tanto en frescos como procesados, para evaluar la aceptabilidad y la calidad; entre las características principales encontramos la dureza (Torres, 2014). La textura es uno de los atributos primarios que junto con el sabor, color y aroma conforman la calidad, es la característica de calidad más apreciada por el consumidor.

Los productos de consumo tienen éxito en el mercado en parte porque los clientes perciben que "características de textura" son deseables. Esto es cierto con productos en industria alimenticia ya que el análisis de textura se puede aplicar en una amplia gama de segmentos de mercado en esta industria, tales como: Hidrocoloides (agentes espesantes), Lechería, Panadería, Carnes y pescados, Dulces, Surimi, Frutas y vegetales, Pasta, Aperitivos (Milde, 2020).

VII. MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios de inocuidad y empaques y de ensayos físico mecánicos del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

La canela usada para la extracción se compró en un supermercado, controlando la variedad como *cinnamomun verum* con un total de 2 kg.

7.1 Equipos, materiales y reactivos.

En la Tabla 1 se muestran los equipos, materiales y reactivos que se utilizaron en la presente investigación.

Tabla 1. Equipos, materiales y reactivos usados durante el experimento

Equipos	Materiales	Reactivos
<ul style="list-style-type: none">• Balanza analítica• Roca	<ul style="list-style-type: none">• Espátulas	<ul style="list-style-type: none">• Etanol 100%
<ul style="list-style-type: none">• Licuadora Oster	<ul style="list-style-type: none">• Matraz bola	<ul style="list-style-type: none">• Agua destilada
<ul style="list-style-type: none">• Bomba	<ul style="list-style-type: none">• Vasos de precipitado	<ul style="list-style-type: none">• Canela
<ul style="list-style-type: none">• Equipo soxhlet• Kima	<ul style="list-style-type: none">• Papel filtro	<ul style="list-style-type: none">• Glicerol
<ul style="list-style-type: none">• Microscopio Lauka	<ul style="list-style-type: none">• Tina de plástico	<ul style="list-style-type: none">• Extracto de goma.
<ul style="list-style-type: none">• Campa de flujo laminar• Isaac lab	<ul style="list-style-type: none">• Mangueras	<ul style="list-style-type: none">• Caldo Infusión cerebro corazón.
<ul style="list-style-type: none">• Texturómetro Brookfield CT3	<ul style="list-style-type: none">• Soportes universales	<ul style="list-style-type: none">• Agar nutritivo.

<ul style="list-style-type: none"> • Estufa de cultivo Ecoshel FCE-3000 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamices (#80, #100 y #120) 	<ul style="list-style-type: none"> • Agar para staphylococcus
Espectrofotómetro Genesis 10 uv	<ul style="list-style-type: none"> • Estufas eléctricas 	<ul style="list-style-type: none"> • Cristal violeta
	<ul style="list-style-type: none"> • Termómetro 	<ul style="list-style-type: none"> • Lugol
	<ul style="list-style-type: none"> • Parrillas de agitación 	<ul style="list-style-type: none"> • Safranina
	<ul style="list-style-type: none"> • Cajas Petri. 	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de inmersión
	<ul style="list-style-type: none"> • Micropipeta (1000ul). 	<ul style="list-style-type: none"> • DNS
	<ul style="list-style-type: none"> • portaobjetos 	
	<ul style="list-style-type: none"> • cubreobjetos 	
	<ul style="list-style-type: none"> • Puntillas para micropipeta (1000ul). 	

La cepa de *Staphylococcus aureus* usada para la presente investigación fue donada por el Departamento de Materiales Avanzados del Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA).

La presente investigación se llevó a cabo en cinco etapas:

7.1.1 Etapa 1: Obtención de los extractos (Cinamaldehído y esteviosidos)

7.1.1.1 Extracción de cinamaldehído

Para la extracción de cinamaldehído, se molieron 2kg de canela en la licuadora Oster de alta potencia hasta obtener un producto resultante fino, una vez el producto molido se colocaron los tamices del más grande al más pequeño (120, 80, 100). El producto resultante de cada tamizado se guardó en un frasco con tapa, para alejarlo de la humedad y la luz.

La extracción se llevó a cabo pesando 1g de cada una de las muestras y se colocaron en el papel filtro doblado adecuadamente para llevar a cabo su extracción,

el paquete se introdujo en el sifón, se instaló en el equipo Soxhlet como se muestra en la figura 1, sujetándose al soporte universal, por otro lado, en un matraz bola se añadieron 250 mL de etanol y se puso sobre la parrilla de calentamiento. Una vez que el agua estuviera suficientemente fría y el matraz bola tuviera una temperatura de 60°C se inició la recirculación. El proceso se llevó a cabo durante 10 hrs.



Figura 1. Instalación del equipo soxhlet

7.1.1.2 Extracción de los esteviosidos

Para el proceso de extracción se manejó una temperatura de 90°C con un total de 5 muestras, bajo las condiciones establecidas por (Reyes-Sánchez 2015).

En matraces de 250 mL se colocaron 100 mL de agua destilada y se calentaron en parrillas de agitación hasta alcanzar la temperatura, posteriormente, se adicionó 1 g de muestra y se mantuvo a esa temperatura durante una hora.

La muestra fue separada de los componentes no deseables, mediante un colador de malla pequeña.

De las muestras libres de componentes visibles de gran tamaño, se procedió a guardarlo en un recipiente de vidrio color ámbar bajo refrigeración hasta su uso como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Muestras de Stevia

Posteriormente se determinó la concentración de azúcares por el método del DNS.

7.2 Etapa 2: Evaluación de la actividad antimicrobiana

7.2.1 Preparación del inóculo *staphylococcus aureus*

Para la preparación del inóculo de los microorganismos a usar durante la presente investigación, se recibió un liófilo identificado como *Staphylococcus aureus*, proporcionado por el laboratorio de Materiales Avanzados del CIQA. Para el proceso se prepararon 250 mL de caldo infusión cerebro corazón (3.7g/100mL). la infusión se colocó en tubos para cultivo, que fueron posteriormente esterilizados. Los tubos con el caldo de cultivo se inocularon en la campana de flujo laminar con ayuda de un asa microbiológica para su posterior incubación en una estufa de marca Ecoshel modelo FCE-3000 Serial de cultivo a una temperatura de 37°C.

7.2.2 Preparación del inóculo de flora bucal

Para la inoculación de la flora bucal se usó una muestra de un voluntario sano, se prepararon 100 mL de infusión cerebro corazón (3.7g/mL), esta se colocó en tubos para cultivo para su esterilización en autoclave. Posteriormente se inocularon bajo condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar Isaac lab y con ayuda de un hisopo estéril con el cual se tomó la muestra de la boca del voluntario, pasando el mismo por toda la cavidad bucal y enjuagando en el tubo del medio de proliferación. Los tubos se llevaron a la estufa de cultivo para su incubación a 37°C. La figura 4 muestra los tubos a incubar.



Figura 3. Tubos de ensaye con infusión agar cerebro corazón.

Para el vaciado del inóculo hacia las cajas Petri se llevó a cabo en la campana de flujo laminar de marca Isaac lab y con ayuda de un asa microbiológica se tomó una muestra del inóculo y se realizó un estriado en la caja Petri, este procedimiento se realizó con los dos microorganismos, cada uno de ellos en su respectiva caja previamente identificada.

7.3 Etapa 3: Obtención de la mezcla para la goma de mascar

Para la elaboración de los antibiogramas, se usaron 3 mezclas para cada uno de los extractos de cinamaldehído (#80, #100 y #120) como se muestra en la tabla 2, se adiciono a 120gr de base goma hasta formar una mezcla chiclosa.

Tabla 2. Cantidades para la elaboración de los antibiogramas

mL de cinamaldehído	mL de Stevia.
10	40
20	30
15	35

Para la preparación de los antibiogramas se elaboró la mezcla de cinamaldehído más estevia en 9 matraces, tres matraces las muestras de cinamaldehído de #80, en otros tres las mezclas con el cinamaldehído de #100 y los tres últimos con el cinamaldehído de #120.

Una vez lista la mezcla en un recipiente de plástico previamente limpio se colocó una cucharada de base goma (80g) y se agregó la primera mezcla del primer matraz (10mL de extracto de malla #80 más 40mL de estevia), con ayuda de una espátula se revolvió hasta formar una pasta, para darle mayor consistencia se añadió media cucharada de glicerol y se mezcló hasta formar una pasta chiclosa. El mismo procedimiento se realizó con las ocho mezclas restantes. Se guardaron resguardándose de la luz y la humedad y se identificaron con su respectiva mezcla y tamaño de partícula, como se muestra en la figura 4.

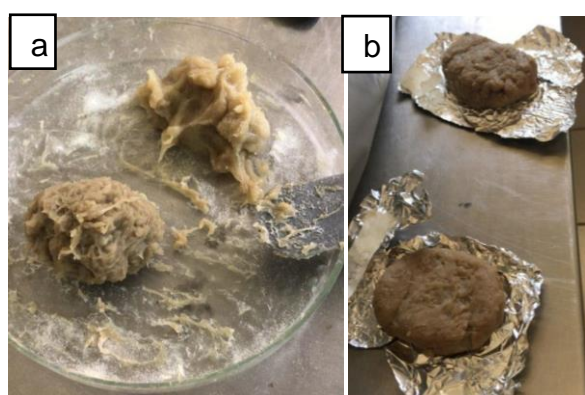


Figura 4. a. Elaboración de la base de goma, b. Mezcla terminada e identificada.

7.4 Etapa 4: Evaluación de los parámetros de textura de la goma de mascar

La evaluación de textura de la goma de mascar se llevó a cabo en el laboratorio de pruebas físico mecánicas del departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, para llevar a cabo las pruebas mecánicas de elongación se usaron probetas de la goma obtenida de aproximadas de 5-6 mm de grosor, 15-17mm de anchura y 60-70 mm de largo para cada una de las mezclas obtenidas con una carga de activación de 6.8 g y una velocidad del test de 0.50 mm/seg, para el análisis APT se utilizaron probetas de medidas de 10mm de largo y 70mm de diámetro basándose en la forma de un cilindro con una carga de activación de 0.067 N y a una velocidad del test de 0.50 mm/seg.

La prueba consistió en colocar la muestra con las medidas ya establecidas sobre la base del texturómetro y dejar correr el test hasta obtener los resultados y guardarlos

con su respectiva identificación. La figura 5 muestra el equipo usado durante las pruebas.



Figura 5. a. Texturómetro Brookfield CT3, b. Texturómetro en prueba de TPA para probeta de goma con cinamaldehido, c. Texturómetro en prueba de tensión para probeta de goma con cinamaldehido

7.5 Etapa 5: Evaluación de la evaluación antimicrobiana.

Para la siembra de los microorganismos se usarán 3 cajas Petri por cada mezcla (3 mezclas), por cada uno de los tamaños de partícula ensayados (3 tamaños) dando un total de 27 cajas Petri por cada microorganismo. Se coló 1 L de agua destilada en un matraz de 2 L, se le adicionaron 15 g de agar base más 37g de infusión cerebro corazón, se tapó con algodón y papel aluminio, enseguida se hirvió durante 5 minutos, transcurrido el tiempo se colocó en el autoclave para llevar a cabo la esterilización (121°C durante 15 min a 15 libras de presión), una vez a completado el tiempo se esperó que llegara a una temperatura soportable y se llevó a la campana de flujo laminar junto con las cajas Petri. El vaciado consistió en llenar 1/3 parte de la caja Petri con el agar y esperar aproximadamente su solidificación.

Las cajas se dejaron en el refrigerador hasta su uso.

La siembra de los microorganismos se llevó a cabo en la campana, teniendo listas las cajas con el agar correspondiente y los inóculos de los microorganismos además

de las mezclas, se procedió a la siembra para verificar la actividad antimicrobiana de las mezclas previamente descritas.

Se inició con el *Staphylococcus aureus*, identificando las cajas correspondientes a cada tamaño de partícula del tratamiento y la concentración utilizada, ejemplo: #80C1R1(tamaño 80, concentración 1, repetición 1). Una vez identificadas las cajas se realizaron círculos con la masa del chicle correspondiente a la mezcla que sembraría, colocando cinco muestras para cada caja, con ayuda del asa microbiológica se toma la muestra del inóculo y sembró sobre el inóculo, terminado se procede a colocar las muestras a ser evaluadas en la caja inculada, distribuidas correctamente. El mismo procedimiento se llevó a cabo para todos los tratamientos. Las cajas Petri se incubaron en la estufa durante 72 h a una temperatura de 37°C, después del tiempo se sacaron de la estufa para evaluar el crecimiento microbiano y una vez concluido el ensayo se esterilizaron y desecharon de acuerdo con los protocolos de seguridad e higiene. En la figura 6 se muestran las cajas Petri identificadas, el procedimiento y la caja Petri con el inóculo.

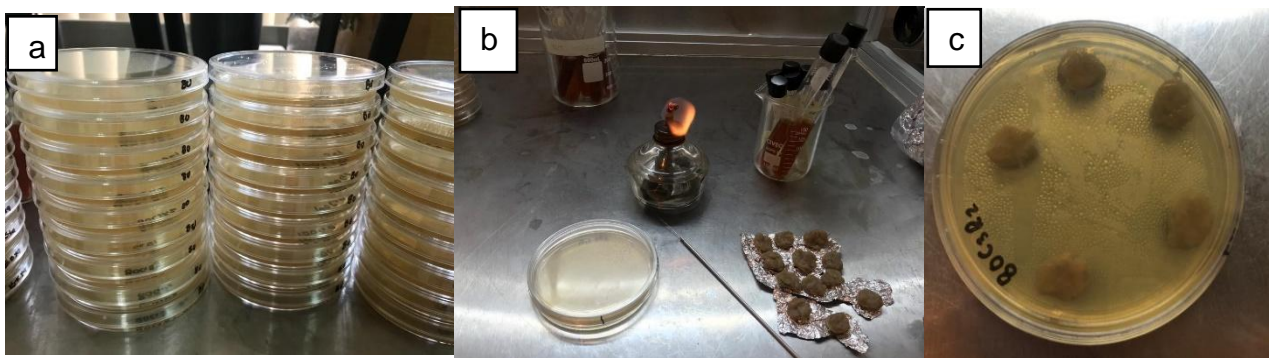


Figura 6. a. Identificación de las cajas Petri, b. realización del procedimiento, c. caja Petri con inóculo y la mezcla.

VIII. RESULTADOS

8.1 Extractos.

8.1.1 Extracto de Cinamaldehído

De los tres tratamientos de molienda que fueron sometidos al proceso de extracción con etanol se apreciaron diferencias en la coloración de los líquidos recuperados como se puede apreciar en la figura 7 donde, la muestra del tamaño de partícula malla 80 presentó un color naranja opaco y el de malla 120 presentó un color naranja oscuro, por lo que a menor tamaño de partícula mayor intensidad de color se presenta, lo cual se puede atribuir tanto a la concentración de los compuestos extraídos como al arrastre de otros compuestos que puedan modificar el pH de la muestra ya que de acuerdo con (Linko, 1961) el cinamaldehído es un principio activo donde el pH es un factor crítico y de acuerdo con sus resultados obtuvo una muestra de cinamaldehído con un pH de 2-4 que resultó de un color rojo, un pH de 4-6 con color anaranjado y el pH de 6-8 con color amarillo, tonalidades que son presentadas en este estudio.

En cuanto a los rendimientos del proceso de extracción fue posible recuperar 200 de los 250 mL de etanol colocados inicialmente para posteriormente ser concentradas mediante un proceso de evaporación que permita obtener una muestra libre de solvente.



Figura 7. Extractos d canela en malla 80 y 120.

8.1.2 Extracto de Stevia

La Stevia resultante de la extracción presentó un color verde claro, con aroma dulce y ligeramente herbal, de consistencia levemente espesa. Se cuantificó la concentración de azúcares reductores obteniéndose una media de 0.26 mg/mL, dicho rendimiento concuerda con lo reportado por Reyes 2015, para la obtención de steviosidos por métodos físicos, como se realizó en el presente estudio.

8.2 Inóculos

Los inóculos microbianos fueron incubados durante 72 h para su posterior caracterización micro y macroscópica.

8.2.1 Caracterización macroscópica de los inóculos

Se trabajó con dos inóculos bacterianos, uno de ellos identificado como *Staphylococcus aureus* y cuya morfología microscópica evidenció colonias lisas, convexas, de color blanco amarillento y apariencia brillante, dicha morfología concuerda con lo presentado por Mandell & Bennett, 2012. En el caso de la flora bucal bacteriana, se presentaron colonia pequeñas lisas, color blanco-beige brillantes similares a las presentados en el cultivo de *S. aureus*, pero de menor tamaño.

8.2.2 Caracterización microscópica

La evaluación microscópica de los inóculos estudiados se llevó a cabo mediante la tinción de Gram en donde ambos cultivos estudiados (*Staphylococcus aureus* y flora bucal) resultaron ser microorganismos Gram positivos (+), al ser microorganismos con capa de peptidoglicano gruesa en donde se insertó la tinción de Gram, lo que originó un color violeta intenso al microscopio como se muestra en la figura 8, lo que ayudó a su clasificación del grupo taxonómico.

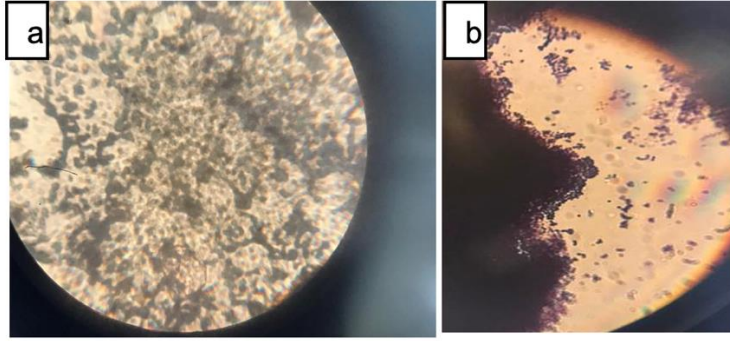


Figura 8 a. frotis de flora bucal 100X b. frotis de *Staphylococcus aureus*

En el caso del frotis obtenido de *S. aureus* se pudo apreciar que las células descritas como cocos Gram positivos, presentan además la tendencia a agruparse en racimos, dicha formación ha sido descrita como característica para este tipo de microorganismos. En cuanto a la morfología descrita para la flora bucal, esta, concuerda con los descrito por (Ruíz, 2014) quien cita que la flora bucal está constituida por bacterias Gram positiva, en su mayoría.

8.3 Actividad antimicrobiana

En la tabla 3. se muestran las figuras de la actividad microbiana de *Staphylococcus aureus* y flora bucal en agar infusión cerebro corazón.

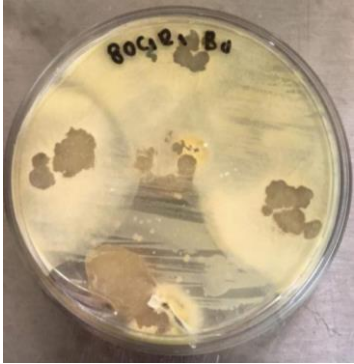
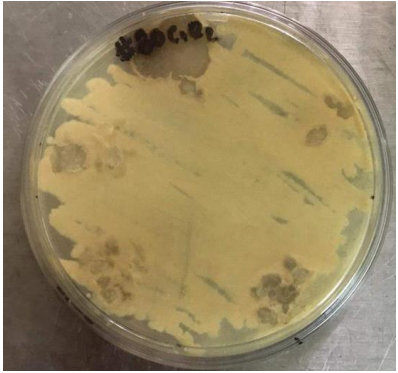
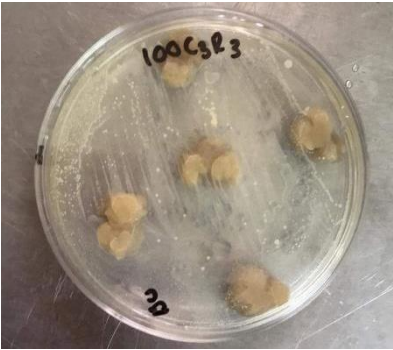


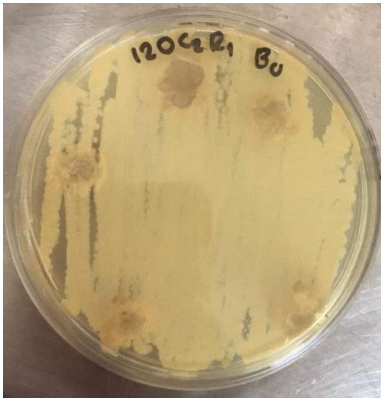
	FLORA BUCAL	STAPHYLOCOCCUS AUREUS
#80		
#100		
#120		

Tabla 3. Actividad microbiana en las diferentes mezclas.

Como se puede apreciar el *S. aureus* tuvo mayor crecimiento en las mezclas, al ser un microorganismo más prevalente a diferencia de la flora bucal que su crecimiento

se ve muy tenue, de acuerdo a las concentraciones de extracto en función al tamaño de partícula de 80, las dos figuras muestran resultados negativos, esto al tener crecimiento microbiano en todo el medio de cultivo y no mostrando sensibilidad a las mezclas antimicrobianas, de igual manera las mezclas con la concentración de 120 donde el crecimiento de los microorganismos en el agar fue muy representativo, la concentración de cinamaldehído de 100 mostraron los mejores resultados, apreciándose claramente como los microorganismos no crecieron alrededor de la mezcla de base de goma, de acuerdo a los resultados obtenidos por (ARGOTE EMILIO, 2017) los aceites esenciales mostraron inhibición bacteriana, los aceites de eucalipto y mandarina frente a la bacteria Gram positiva con una CMI y CMB de 6,8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y para la Gram negativa el aceite esencial de cascara de mandarina y eucalipto con una CMI y CMB de 13,2 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Los aceites esenciales que refiere dicho autor son diferentes al utilizado en esta investigación.

Se logra apreciar que, en la mezcla de 80 de flora bucal, la figura se muestra con presencia de hongo dentro del cultivo, de acuerdo con lo reportado por (Cepero, 2012) señala que el crecimiento de hongos mesófilos puede ser atribuido a la presencia de azúcares metabolizables, en este caso proporcionados por el stevia que favorecieron el crecimiento de este tipo de flora, donde el aditivo inclusionado no presentó efecto inhibitorio sobre estos organismos.

8.4 Goma de mascar

La goma de mascar fue elaborada bajo las condiciones previamente descritas teniendo que su consistencia varió de acuerdo a la cantidad de extracto que contenía. Las muestras con 10 mL de extracto presentaron una consistencia más firme, y viscosa como se puede apreciar en la figura 9. A diferencia de la goma que fue adicionada con 20 mL que presentó una consistencia menos viscosa.

El color de las gomas a diferentes en las diferentes formulaciones no presentó variaciones, presentándose un color café oscuro, con apariencia ligeramente áspera, tal como se muestra en la figura 9. Su peso fue de entre 110 y 120 g.



Figura 9. Mezcla de chicle con 10 mL de cinamaldehído y 40 mL de Stevia.

8.5 Parámetros de textura.

Los análisis de textura que se muestran a continuación se realizaron empleando un texturometro marca Brookfield modelo C3 empleando el elemento TA-DGA para resistencia a la tensión, % de elongación y modulo elástico, así como la sonda TA5 para el análisis de perfil de textura.

8.5.1 Evaluación de tensión en las mezclas.

La evaluación de resistencia a la tensión de las mezclas fue determinada en unidades de Pa tal como se muestra en la figura 10.

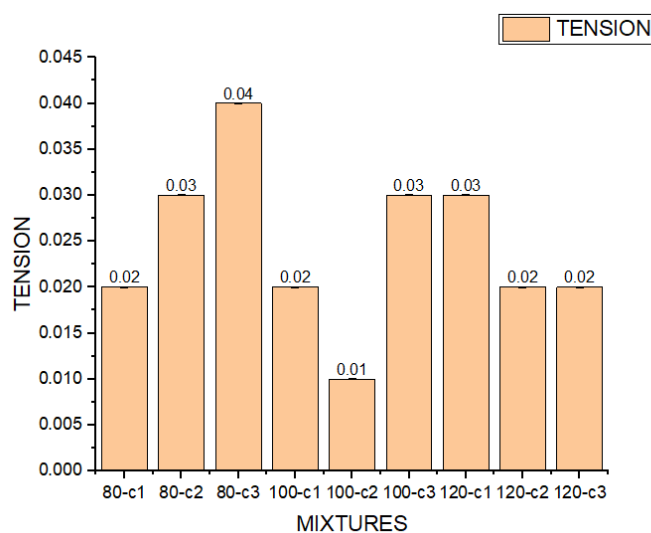


Figura 10. Análisis de tensión

Como se puede apreciar en la figura 10, la mezcla que presentó mayor resistencia a la tensión fue la mezcla 3 correspondiente a los extractos procedentes de molienda tamiz 80, seguido de la mezcla 2, 3 y 1 con tamaños procedentes de los tamices 80, 100 y 120 respectivamente. En un nivel más abajo de con respecto a este parámetro se encuentran las mezclas 1 procedente del tamiz 80 y 100 y las mezclas 2 y 3 procedentes del tamiz 120, finalmente, la mezcla que obtuvo la menor resistencia a la tensión fue la mezcla 2 con un tamaño de partícula de 100 (Lozano, 2016) menciona que un material resistente no necesariamente tiene que ser rígido si no que varía de acuerdo a la naturaleza de este. De acuerdo a una investigación realizada por (Cárdenas *et al.*, n.d.) referente a prototipos de zuelas de zapatos con residuos de goma de mascar, en un análisis de resistencia a la tensión menciona que se encuentra dentro de un rango de 0.0012 y 0.0017 Pa, para lo cual los resultados obtenidos en esta investigación se encuentran dentro de este parámetro y el cual da indicio de que pudiera tener mejores condiciones ya que la goma empleada por el autor es goma residual.

8.5.2 Evaluación del % de elongación

El % de elongación se determinó relacionando el estiramiento máximo que alcanzó la muestra entre la longitud inicial. Los resultados obtenidos se representan en la figura 13.

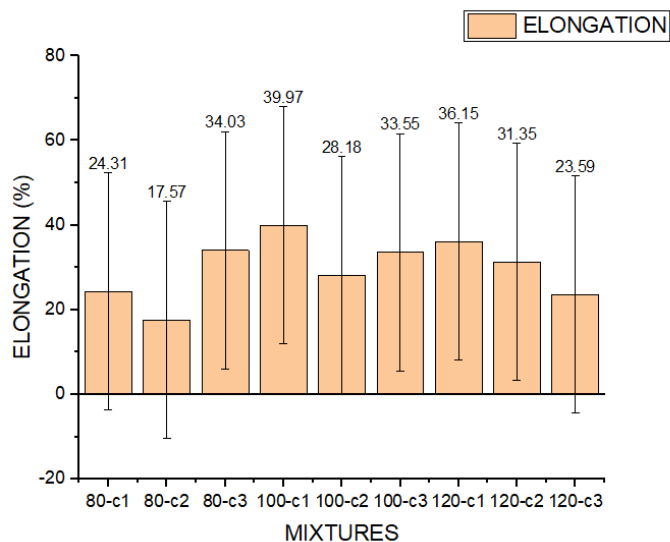


Figura 11. Análisis de % de elongación

La figura 11 representa el análisis del % de elongación, donde se puede apreciar que la mezcla que obtuvo el mayor porcentaje fue la número 1 del tamaño de partícula del cinamaldehído de 100, seguida de las mezclas 1 del cinamaldehído de 80, 3 del cinamaldehído de 80, 2 y 3 del cinamaldehído de 100 y las mezclas 1,2,3 del cinamaldehído de 120. Por último, se encuentra la mezcla 2 del cinamaldehído de 80. De acuerdo a la empresa líder productora de gomas base (S.A.U, 2012) la temperatura de la goma es importante para definir su elongación ya que el autor menciona que por debajo de 30°C es un sólido quebradizo, y por encima de 30°C es un sólido elástico que puede convertirse en un líquido muy viscoso, la temperatura empleada en el análisis de las mezclas fue la del medio ambiente (24°C) por lo que los resultados obtenidos corresponden a una goma quebradiza sin embargo comparando los resultados con (Cárdenas et al., n.d.) el % de elongación no se ve afectado por la temperatura.

8.5.3 Evaluación modulo elástico.

El módulo elástico fue calculado con la relación del esfuerzo elástico entre la deformación elástica, obteniendo como resultado los datos que se representan gráficamente en la figura 12.

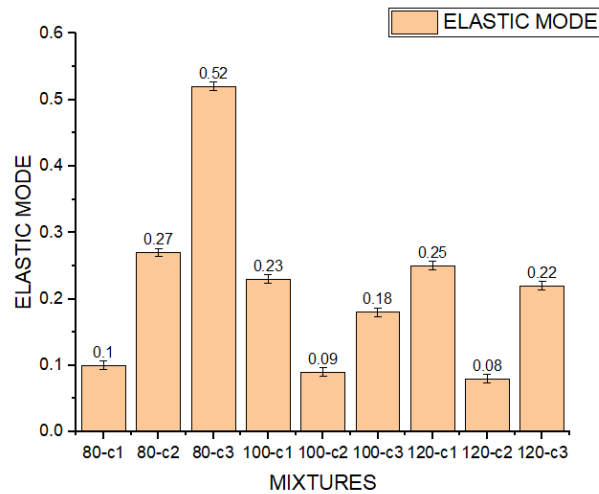


Figura 12. Análisis modo elástico

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 7 del modo elástico, la mezcla que obtuvo un mayor módulo elástico fue la mezcla 3 del cinamaldehído de 80, la cual indica una mayor elasticidad en la zona elástica lo cual indica una resistencia a la deformación más prolongada de acuerdo a (Mogliazza, 2007) cualquier material que se determinó el módulo elástico, cuando inicie la fuerza gráficamente se observará una línea constante la cual va a indicar la zona elástica del material y, una vez que empieza a ceder fuerza el comportamiento gráfico torna a ser una curva es ahí donde inicia la deformación plástica. Por otra parte (Guerrero Ramirez, 2018) menciona un módulo elástico para gomas de mascar reforzadas con texturizantes que va desde 0.27 hasta 0.988 en el cual se observa que los resultados planteados acerca de esta investigación entran dentro de este rango con valores cercanos a los inferiores por lo que los agentes texturizantes influyen en este parámetro.

8.5.4 APT de las mezclas

El análisis de perfil de textura se realizó en el departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos en el laboratorio de Caracterización empleando un texturometro marca Brookfield modelo C3, con número de sonda TA5. los parámetros principales se muestran a continuación.

Tabla 4. Análisis de APT de las mezclas

Muestra	Mezcla	Dureza (N)	Trabajo en la primera fractura (mj)	Índice de elasticidad	Gomosis (N)	Masticabilidad (mj)	Cohesión	Adhesividad (mj)
#80	1	3.98	8.58	4.82	3.84	18.56	0.96	0.15
#80	2	6.07	10.75	4.7	5.63	27.07	0.92	0.62
#80	3	2.82	6.59	4.82	2.71	13.09	0.95	0.14
#100	1	4.86	10.20	4.86	4.51	21.99	0.92	0.21
#100	2	3.06	7.44	4.93	2.93	14.49	0.96	0.16
#100	3	5.69	11.37	4.74	5.33	25.38	0.93	0.28
#120	1	3.05	6.23	4.89	2.93	14.38	0.96	0.08
#120	2	5.72	8.79	4.85	5.38	26.27	0.93	0.11
#120	3	5.52	10.66	4.82	5.14	24.90	0.92	0.18

Como se aprecia en la tabla 4, respecto a los resultados de dureza, se observa que la mezcla con mayor dureza es la mezcla 2 cinamaldehído de 80 y la que presenta menor dureza es la mezcla 3 cinamaldehído de 80, en donde la diferencia significativa de los resultados está en la mezcla, ya que los resultados obtenidos se diferencian dentro del mismo el tamaño de partícula (80). Se puede apreciar que entre menor cantidad de cinamaldehído se le agrega a la mezcla su dureza será mayor, en comparación con el de cinamaldehído de 120. (Guerrero Ramirez, 2018) menciona una dureza APT para una goma de mascar entre los 2.33 y 11.03 N lo que indica que los resultados que se muestran entran dentro del rango.

De acuerdo a los resultados de trabajo, la mezcla que requirió mayor trabajo para la primera fractura fue la mezcla 2 cinamaldehído 80 y la de menor trabajo requerido fue la mezcla 1 cinamaldehído de 120, donde se observa que entre menor tamaño de partícula es menor el trabajo requerido para la primera ruptura.

Por otra parte, los resultados obtenidos del índice de elasticidad todas las mezclas estuvieron dentro del mismo rango, no presentó diferencia estadísticamente significativas en este parámetro, sin embargo estos resultados se encuentran por

encima de los reportados por (Guerrero Ramirez, 2018) para una goma de mascar en donde se puede deducir que el efecto de los agentes texturizantes pudieran influenciar en los resultados de este parámetro.

De acuerdo a los resultados de gomosidad, la mezcla que presenta mayor gomosidad es la mezcla 2 cinamaldehído de 80 y la mezcla con menor gomosidad fue la mezcla 3 cinamaldehído 80, en donde se aprecia que el tamaño de partícula de 80 es más eficaz en cuanto al parámetro de gomosidad.(Guerrero Ramirez, 2018) menciona un rango de gomosidad para una goma de mascar entre 2.13 y 9.53 el cual indica que los resultados que se presentan entran dentro de este rango.

Los resultados obtenidos demuestran que la mezcla con mayor masticabilidad fue la mezcla 2 cinamaldehído 80 y la de menor masticabilidad fue la mezcla 3 cinamaldehído de 80, resultando el tamaño de partícula el agente primordial para una buena masticabilidad y en segundo la concentración de cinamaldehído agregado a la mezcla. Datos reportados por (Guerrero Ramirez, 2018) menciona una masticabilidad promedio de 58.89 para una goma de mascar reforzada con texturizantes en donde se puede apreciar que los resultados que se presentan en esta investigación se encuentran por debajo de lo reportado en el 2018 lo que sugiere que el efecto de los materiales texturizantes beneficia este parámetro.

Para los resultados de cohesividad las mezclas con mayor cohesividad fueron: mezcla 1 cinamaldehído de 80, mezcla 2 cinamaldehído de 100 y mezcla 1 cinamaldehído de 120 y las mezclas con menor cohesividad fueron: la mezcla 2 cinamaldehído 80, mezcla 1 cinamaldehído de 100, mezcla 3 cinamaldehído de 120. De acuerdo con lo reportado por (Guerrero Ramirez, 2018) menciona un promedio de cohesividad de 0.8 lo que indica que los resultados mostrados en esta investigación se encuentran por encima de los que menciona el autor.

Los resultados de adhesividad mostraron que la mezcla con mayor adhesividad fue la 2 cinamaldehído de 80 y la de menor adhesividad es la mezcla 1 de cinamaldehído de 120, entre mayor es el tamaño de partícula la adhesividad es más alta a diferencia de la partícula de menor tamaño. Un estudio realizado por (Guerrero Ramirez, 2018) menciona una adhesividad promedio de 7.85 mj en el

cual se puede apreciar que los resultados mostrados en la tabla 5 son inferiores en el cual se deduce que los efectos de los agentes texturizantes influyen en este parámetro.

Los resultados descritos anteriormente son semejantes con los resultados descritos por el autor (Ramírez, 2012) al realizar formulaciones en la goma de mascar con ingredientes texturizantes, siendo los mismos parámetros de textura analizados.

IX. CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos de muestras de canela de diferentes tamaño de partícula presentan diferencias de color atribuibles a que la mayor superficie de contacto permitirá el arrastre de compuestos que afectan el pH de las muestras lo que origina estos cambios.

El extracto proveniente del tamiz de malla 100 presentó eficiencia para inhibir el desarrollo de *S.aureus* de acuerdo con al estudio de difusión en placa, presentando resultados negativos para los extractos obtenidos de tamices 80 y 100.

Los inóculos de flora bucal de individuos sanos mostraron sensibilidad en cuanto a su desarrollo frente a los extractos provenientes de tamices 100 y 120, no siendo así para los de 80.

La mezcla de goma de mascar que contiene azúcares metabolizables, como los rebaudiosidos procedentes de los extractos de estevia pueden ser empleados como fuente de energía que favorece el desarrollo de flora fungica, como sucedió en la formulación procedente de los extractos de malla 80.

Las mezclas de goma de mascar elaboradas con extractos de canela y estevia presentan parámetros de textura que están dentro de los rangos reportados para gomas de mascar comerciales, teniendo que los extractos provenientes tamaños de partícula más bajos generaran gomas ligeramente más duras .

X. BIBLIOGRAFIA

- Alfredo, J., Montoya, S., & Martinez, L. C. (2002). *Aplicaciones Biotecnológicas de la Microencapsulación*. January.
- Asbahani, A. El, Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. H. A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F. N. R., & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1–2), 220–243.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Calidad, C. D. E. (n.d.). *Cerebro Corazón Infusión*.
- Cañigueral, S., & Villa, R. (2018). *Fitoterapia*. 3–5.
- Carrizosa, C. (2000). Cinamaldehído : no sólo un dulce aroma. *Universidad Pablo de Olavide*, 2–5.
- Casado, A. (2016). Propiedades antimicrobianas y liberación de cinamaldehído en films de PLA. *Universitat Politècnica de València Intituto de Ingeniería de Alimentos Para El Desarrollo*, 1–21.
- Cepero de García, M. C. (2012). *Biología de hongos*. Ediciones Uniandes-

Universidad de los Andes.

Cinfa. (2016). *Guía práctica Cinfa del medicamento*. 1–5.

Domínguez, P. (2005). Formas farmacéuticas de liberación modificada y estereoisómeros ¿Nos aportan algo en la práctica clínica? *Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra*, 13, 1–10.

Echegaray Rodríguez, J., Echegaray González, P., Mosquera Fernández, A., & Gerrikaetxebarria Peña, J. (2011). Fitoterapia y sus aplicaciones. *Revista Española de Podología*, 22(6), 258–267.

Em, P. (2021). *Absorción y Mecanismos de Transporte*. 9, 4–6.

Fay, D. L. (1967). microencapsulación de antimicrobianos. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., 1–9.

García, E. (2001). Desarrollo Farmacotécnico (II): Fase de Formulación y compatibilidad. *Optimización, Validación y Modelización de Un Proceso de Fabricación de Comprimidos. Desarrollo de Una Aplicación Interactiva Multimedia, II*, 165–204.

Gimena, M., & Micaela, M. (n.d.). *Producción Académica Principios activos utilizados en la formulación de cosméticos antiejejecimiento para el contorno de ojos Tesis para la obtención del título de grado de*.

HAS, 2010. (2013). Microencapsulación. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.

Jesús, C. De, Margarita, J., Hernández, M.-, Luis, J., Hernández-torres, C. D. J., Iliana, A., Ventura-sobrevilla, J. M., & Hernández, J. L. M.-. (2016). La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 50(1), 12–19.

Juarez, E. (2015). Efecto antifúngico del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume "canela" sobre el crecimiento de *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. *Sagasteguiana*, 3(2), 137–144. www.cienciaytrabajo.cl

- Lluís Berdones, J. (1995). Principios activos y preparaciones farmacéuticas de las plantas medicinales. *Natura Medicatrix*, 37–38, 42–48.
- Lupo, B., González, C., & Maestro, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 130–151.
- Mandell, G., & Bennett, J. (2012). Etiopatogenia microbiológica 16. “*Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica*,” 255–272.
- Marca M. (2013). ACTIVIDAD ANTIMICOTICA “in vitro” DEL ACEITE ESENCIAL *Cinnamomun zeylanicum* Breyn “canela” FRENTE A *Cándida albicans* ATCC 6538, TACNA, 2012. *Tesis*, 102.
- Martínez M., A. (2003). Aceites Esenciales. *División de Publicaciones UIS*, 180.
- Masanas, R. (2021). ¿ Por qué es importante la selección de vehículos y excipientes en la formulación magistral ? *Suscríbete al newsletter de " Bienestar contigo "* Déjanos tu correo electrónico y te enviaremos cada mes las novedades del blog . *Sobre Acofarma Productos y serv.* 1–3.
- Moreno-Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzov-Jinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonett, C., & Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44(4), 17–29.
- Necesidad, A. U. N. E. (2021). *Desarrollo y comercialización de aceites esenciales raros de nuestros proyectos de reforestación* . 1–8.
- Orellana, J. (2014). *Estudio de plantas útiles empleadas en la comunidad Shuar El Kiim - Yacuambi de la provincia de Zamora Chinchipe*. 1–73.
- Padrini, F., & Lucheroni, M. T. (1997). *Aceites esenciales: para recuperar la vitalidad, el bienestar* (p. 95).
- Reyes Sánchez, Angelica, Hernández González, María, Flores Verastegui, M. I., & Hernández Centeno, F. M. (2015). Extracción y cuantificación de compuestos

activos presentes en la stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), mediante procesos físicos.

Ruíz, M. E. (2014). *Estudio clínico epidemiológico de prevalencia de caries en niños de 0 a 30 meses y determinación de los factores de riesgo en una población de la ciudad de Berisso*. 197.

Salud, E. De. (2007). *Manipulación de especialidades farmacéuticas*. 44–48.

Soler Cano, D., Macías Bestard, C., Pereira Relis, E., Dranguet Olivero, Y., Guzmán, V., & Calzada Rodríguez, A. (2009). Farmacología de la plantas medicinales. *Revista Información Científica*, 61(1), 2–14.

Talevi, A. (2020). Procesos biofarmacéuticos. *Procesos Biofarmacéuticos*.

Terapia, C.-. (2021). *Problemas dermatológicos*. Figura 1, 5–6.

Vertzoni, M., Augustijns, P., Grimm, M., Koziolk, M., Lemmens, G., Parrott, N., Pentafragka, C., Reppas, C., Rubbens, J., Van Den Abeele, J., Vanuytsel, T., Weitschies, W., & Wilson, C. G. (2019). Impact of regional differences along the gastrointestinal tract of healthy adults on oral drug absorption: An UNGAP review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 134, 153–175.

Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(2), 289–292.

ARGOTE EMILIO, S. Z. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*.

Bascones A, M. S. (2006). Antisépticos orales. Revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*.

- Bascones Martínez A, A. U.-E. (2004). Documento de consenso sobre el tratamiento antimicrobiano de las infecciones bacterianas odontogénicas. *n Med Oral Patol Oral Cir Bucal*.
- Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., & Díaz Maqueira, Y. (2006). Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar*.
- Cárdenas, S. H., Hassib, D., Méndez, R., Toro, M. S., Cristina, I., & Cuéllar, C. (n.d.). *CALZADO A PARTIR DE UN NUEVO PROCESO DE*.
- Cepero, G. (2012). *Biología de hongos*. Universidad de los Andes.: Ediciones Uniandes.
- Cervantes-García E, G.-G. R.-S. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 28-40.
- Fuentes R. S, E. M. (211). *EVALUACIÓN DE RIESGOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENTEROTOXIGÉNICO EN ALIMENTOS PREPARADOS NO INDUSTRIALES EN COLOMBIA*. bogota: Imprenta Nacional de Colombia.
- Guerrero Ramirez, J. I. (2018). REDUCCIÓN EN LA ADHESIVIDAD DE GOMA DE MASCAR POR MEDIO DE FORMULACIÓN CON INGREDIENTES TEXTURIZANTES. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., 10–27.
- Guevara L., B. L. (2017). Aislamiento y caracterización morfológica de cepas nativas de actinomicetos y su actividad antagónica contra *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* sp. *PEG-IAD*.
- Héctor Alejandro Serrano-Coll 1, M. S.-J.-C. (2015). Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. *CES Odontología ISSN 0120-971X*.

JOSÉ DAVID TORRES GONZÁLEZ, K. J. (2014). ANÁLISIS DEL PERFIL DE TEXTURA EN FRUTAS, PRODUCTOS CÁRNICOS Y QUESOS.

Lozano, E. S. (2016). Obtención de goma base a partir del látex del árbol de nispero. *Agronomía Colombiana*, 307-309.

MARTÍNEZ, M. O. (2003). Tratamiento de las enfermedades de la cavidad bucal. 80-86.

McGee, M. S. (2018). Miocarditis por *Staphylococcus aureus* con trombo apical ventricular izquierdo asociado. *Reporte de casos en cardiología*.

Milde, L. B. (2020). Analisis de textura . *Revista de Ciencia y Tecnología*.

Miranda, L. S. (2013). *Determinacion de compuestos funcionales en canela (Cinnamomum zeylanicum)*. Mexico D.F.

Mogliazza, L. (28 de marzo de 2007). "El chicle".

Ordás, C. B. (2006). *Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de staphylococcus aureus aisladas en hospitales españoles*. Barcelona.

Perea, E. J. (2004). La flora de la boca en la era de la biología molecular. *Oral Patol Oral Cir Bucal*.

Ramírez, J. I. (septiembre de 2012). REDUCCIÓN EN LA ADHESIVIDAD DE GOMA DE MASCAR POR MEDIO DE FORMULACIÓN CON INGREDIENTES TEXTURIZANTES.

S.A.U, C. G. (2012). Efecto del polivinil acetato en la liberación de polifenoles en una matriz de chicle comprimido.

ANEXOS

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS MECANICAS

Tensión

Tabla 5. *Análisis de tensión*

Mezcla	Cinamaldehído	Medias
1	80	0.0283 ± 0.0046 B
2	80	0.0389 ± 0.0046 AB
3	80	0.0466 ± 0.0046 A
1	100	0.0262 ± 0.0046 BC
2	100	0.0141 ± 0.0046 C
3	100	0.0303 ± 0.0046 B
1	120	0.0360 ± 0.0046 AB
2	120	0.0289 ± 0.0046 B
3	120	0.0289 ± 0.0046 B

% de elongación

Tabla 6. Análisis de % de elongación

Mezcla	Cinamaldehído	Medias
1	80	24.31 ± 3.9690 AB
2	80	17.57 ± 3.9690 B
3	80	34.03 ± 3.9690 AB
1	100	39.97 ± 3.9690 A
2	100	28.18 ± 3.9690 AB
3	100	33.55 ± 3.9690 AB
1	120	36.15 ± 3.9690 AB
2	120	31.35 ± 3.9690 AB
3	120	23.59 ± 3.9690 AB

Modo elástico

Tabla 7. Análisis de modo elástico.

Mezcla	Cinamaldehído	Medias
1	80	0.10 ± 0.0478 B
2	80	0.27 ± 0.0478 B
3	80	0.52 ± 0.0478 A
1	100	0.23 ± 0.0478 B
2	100	0.09 ± 0.0478 B
3	100	0.18 ± 0.0478 B
1	120	0.25 ± 0.0478 B
2	120	0.08 ± 0.0478 B
3	120	0.22 ± 0.0478 B