



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Desarrollo de una bebida a base de frutas tropicales y verduras e inclusión de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*)

Camila Andrea Avila Ortiz

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Área Curricular de Alimentos y Agroindustria
Bogotá, Colombia
2022

Desarrollo de una bebida a base de frutas tropicales y verduras e inclusión de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*)

Camila Andrea Avila Ortiz

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director (a):

Ph. D María Soledad Hernández

Codirector (a):

Ph. D Andrés Giraldo Toro

Línea de Investigación:

Diseño y desarrollo de productos alimenticios

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Área Curricular de Alimentos y Agroindustria

Bogotá, Colombia

2022

Dedico y agradezco a Dios por su infinito amor y misericordia, las cuales me han traído hasta este punto de la vida.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



Camila Andrea Avila Ortiz

Fecha 15/08/2022

Agradecimientos

No ha sido un camino fácil llegar hasta aquí, muchas veces maquiné cómo desistir... aunque solo quedaron en ideas. Ciertamente lo logré, gracias al apoyo de muchas personas que de maneras diferentes estuvieron en el lugar y momento indicado, y por ello considero un honor poderlas exaltar en este espacio. Iniciaré agradeciéndole a la Doctora María Soledad Hernández González, directora de esta tesis y quien se puso la 10 y me ayudó en todo cuanto fue necesario, no solo me instruyó en lo relacionado a este estudio, sino que me acogió (aun sabiendo que llegaba tarde y me dormía en sus clases) para apoyarme en todo y alentarme durante pandemia a continuar y nunca desfallecer con este trabajo; muchas gracias mi profe.

Agradezco de todo mi corazón a mis padres quienes me impulsaron en todo, me soportaron, y siempre con sus palabras de aliento y ánimo me apoyaron incondicionalmente a creer e ir por sobre mis obstáculos y deficiencias, ¡sin ellos no lo habría logrado nunca! También gracias a mis hermanos Daniel y Luisa, definitivamente fueron un apoyo emocional, siempre buscaban sacarme una sonrisa en mis épocas de estrés y cansancio, y por más caras que hicieran nunca dudaron en probar los productos (y ser muy sinceros cuando les desagradaba); ciertamente la familia es la base de la sociedad y gracias a Dios por dármeles a todos ustedes como familia, son irremplazables.

Agradezco al ICTA y todo su personal, así como los diferentes laboratorios y espacios de la Universidad Javeriana donde desarrollé mi tesis. También al proyecto que me acogió y a todos sus profesores, especialmente a la Doctora Valentina Guzmán (directora del proyecto) y al Doctor Andrés Giraldo Toro (codirector de tesis). Finalmente agradezco a Yolis y a todos quienes con sus ideas y aportes pude finalizar este proyecto.

Resumen

Desarrollo de una bebida a base de frutas tropicales y verduras e inclusión de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*)

El objetivo del presente estudio fue evaluar la factibilidad tecnológica en la incorporación de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*) en una bebida de frutas y vegetales. Inicialmente se analizó el efecto de la relación soluto-solvente (1:10 – 1:15) y porcentaje de etanol (96%, 70%, 45%) en una extracción respecto al contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, luego se incorporó dicho extracto, a tres concentraciones diferentes (1000, 2500, 5000 mg/kg), en una bebida tipo néctar y a través de una prueba hedónica y una de ordenamiento se determinó aquella de mayor preferencia. Por último, se realizó un estudio de estabilidad por 30 días de almacenamiento a tres temperaturas diferentes (10, 20 y 30 °C) evaluando pH, acidez, sólidos solubles, densidad, compuestos fenólicos totales, capacidad antioxidante, recuento de mesófilos, hongos y levaduras y análisis sensorial (20 °C). En la extracción de los compuestos fenólicos de la capuchina, la relación 1:10 soluto-solvente junto con una mezcla de etanol (70%) es la más efectiva. De la evaluación sensorial con panelistas no entrenados, la bebida con menor contenido de extracto (1000 mg/kg) fue la de mayor aceptación debido a su sabor y consistencia. Esta bebida fue la utilizada para el estudio de estabilidad, en el cual se evidenció estable durante 15 días a las diferentes condiciones de almacenamiento; sin embargo, en la evaluación sensorial el 20% de los panelistas rechazaron la muestra a los 7 días de almacenamiento, debido a la fermentación que se desarrolló por el crecimiento microbiano.

Palabras clave: *Tropaeolum majus*, extracción por solventes, evaluación sensorial, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

Abstract

Development of a beverage based on tropical fruits and vegetables and inclusion of an extract of nasturtium (*Tropaeolum majus*)

The objective of the present study was to evaluate the technical feasibility of the incorporation of an extract of nasturtium (*Tropaeolum majus*) in a fruit and vegetable drink. Initially, the effect of the solute-solvent ratio (1:10 – 1:15) and the percentage of ethanol (96%, 70%, 45%) in extraction was analyzed concerning the content of phenolic compounds and antioxidant capacity, then it was incorporated in a beverage, at three different concentrations (1000, 2500, 5000 mg/kg), and through a hedonic test and a scaling test, the most preferred one was determined. Finally, a stability study was conducted for 30 days of storage at three different temperatures (10, 20 and 30 °C) evaluating pH, acidity, soluble solids, density, total phenolic compounds, antioxidant capacity, mesophilic, fungi and yeasts count and sensory analysis (20 °C). In the extraction of phenolic compounds from nasturtium, the 1:10 solute-solvent ratio together with an ethanol mixture (70%) is the most effective. From the sensory evaluation with untrained panelists, the beverage with the lowest extract content (1000 mg/kg) was the most accepted due to its flavour and consistency. This beverage was used for the stability study, in which it was shown his stability for 15 days under different storage conditions; however, in the sensory evaluation, 20% of the panelists rejected the sample after 7 days of storage, due to the fermentation that developed for the microbial growth.

Keywords: *Tropaeolum majus*, total phenolic compounds, antioxidant activity, extraction with solvents, hedonic test.

Contenido

| | Pág. |
|--|-------------|
| Resumen | IX |
| Lista de figuras | XIII |
| Lista de gráficos | XIV |
| Lista de tablas | XV |
| Introducción | 17 |
| 1. Capítulo 1: Extracto de capuchina, como ingrediente activo en productos alimenticios de origen vegetal | 19 |
| Resumen | 19 |
| Summary | 20 |
| Introducción | 20 |
| 1.1 Compuestos fenólicos | 21 |
| 1.1.1 flavonoides | 21 |
| 1.1.2 taninos..... | 22 |
| 1.1.3 ácidos fenólicos | 23 |
| 1.2 Capuchina (<i>Tropaeolum majus</i>) | 23 |
| 1.2.1 Contenido nutricional | 24 |
| 1.2.2 Compuestos fenólicos de la capuchina | 25 |
| 1.3 Extracción de compuestos bioactivos..... | 26 |
| 1.3.1 Método Soxhlet..... | 27 |
| 1.3.2 Maceración | 28 |
| 1.3.3 Extracción por solventes orgánicos..... | 28 |
| 1.4 Objetivos | 29 |
| 1.4.1 Objetivo general..... | 29 |
| 1.4.2 Objetivos específicos | 29 |
| 1.5 Conclusiones..... | 30 |
| 2. Estudio de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales de <i>Tropaeolum majus</i> en un extracto hidroetanólico | 31 |
| Resumen | 31 |
| Summary | 32 |
| Introducción | 32 |
| 2.1 Materiales y métodos | 33 |
| 2.1.1 Alistamiento materia prima | 33 |
| 2.1.2 Extracción hidroetanólica..... | 33 |
| 2.1.3 Determinación capacidad antioxidante | 34 |
| 2.1.4 Determinación compuestos fenólicos..... | 35 |
| 2.2 Resultados y análisis..... | 35 |
| 2.3 Conclusiones..... | 37 |
| 3. Evaluación de la aceptación sensorial de una bebida de frutas y verduras en la incorporación del extracto de capuchina (<i>Tropaeolum majus</i>), y sus cambios en el tiempo | 39 |

| | |
|---|-----------|
| Resumen..... | 39 |
| Summary..... | 40 |
| Introducción..... | 40 |
| 3.1 Materiales y métodos..... | 42 |
| 3.1.1 Elaboración néctar | 42 |
| 3.1.2 Evaluación sensorial | 43 |
| 3.1.3 Estudio de los cambios de las propiedades fisicoquímica, microbiológica y sensorial durante el tiempo | 44 |
| 3.1.3.1 Evaluación de las propiedades fisicoquímica | 44 |
| 3.1.3.2 Evaluación microbiológica | 45 |
| 3.1.3.3 Evaluación sensorial | 46 |
| 3.2 Resultados y análisis | 47 |
| 3.2.1 Desarrollo preliminar de la bebida | 47 |
| 3.2.2 Evaluación sensorial | 49 |
| 3.2.3 Caracterización fisicoquímica de la bebida..... | 51 |
| 3.2.4 Estudio de los cambios de las propiedades fisicoquímica, microbiológica y sensorial durante el tiempo | 53 |
| 3.3 Conclusiones | 58 |
| 4. Conclusiones y recomendaciones | 59 |
| 4.1 Conclusiones | 59 |
| 4.2 Recomendaciones | 59 |
| Bibliografía | 60 |
| A. Anexo: Formato utilizado para la evaluación sensorial capítulo 2..... | 65 |
| B. Anexo: Formato para evaluación sensorial de cambios en el tiempo | 68 |
| C. Anexo: Cálculos del porcentaje de rechazo por consumidores de la bebida almacenada a 20 °C | 71 |

Lista de figuras

| | Pág. |
|---|------|
| Ilustración 1-1: Estructura química de los flavonoides | 22 |
| Ilustración 1-2: Mastuerzo o capuchina | 24 |
| Ilustración 1-3: Equipo para el método de extracción Soxhlet..... | 27 |
| Ilustración 3-1: <i>Aspergillus</i> (izquierda) y <i>Penicillium</i> (derecha), cepas presentes durante el análisis microbiológico | 57 |

Lista de gráficos

| | Pág. |
|---|-------------|
| Gráfico 1-1: Comparación de 26 especies florales en el contenido de compuestos fenólicos..... | 26 |
| Gráfico 2-1: Capacidad antioxidante y Fenólicos totales de los seis experimentos | 36 |
| Gráfico 3-1: Media de las evaluaciones sensoriales para el atributo “percepción general” | 47 |
| Gráfico 3-2: Media de las evaluaciones sensoriales para el atributo “Sabor dulce” | 48 |
| Gráfico 3-3: Medias de los atributos y prueba de ordenamiento para las tres muestras evaluadas | 50 |
| Gráfico 3-4: Diagrama de cajas y bigotes de las muestras evaluadas por ordenamiento | 51 |
| Gráfico 3-5: Cambios fisicoquímicos de la bebida durante el almacenamiento a diferentes temperaturas | 54 |
| Gráfico 3-6: Cambios en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales durante el almacenamiento | 55 |
| Gráfico 3-7: Crecimiento microbiológico en la bebida durante su almacenamiento | 56 |
| Gráfico 3-8: Porcentaje de rechazo por parte de los consumidores a lo largo del tiempo | 57 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|---|------|
| Tabla 1-1: Contenido nutricional de la planta <i>Tropaeolum majus</i> | 24 |
| Tabla 1-2 : Compuestos fenólicos contenidos en la planta capuchina | 25 |
| Tabla 2-1: Variables de cada uno de los experimentos evaluados..... | 34 |
| Tabla 2-2: Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos para los extractos estudiados | 35 |
| Tabla 3-1: Características fisicoquímicas del néctar de frutas..... | 41 |
| Tabla 3-2: Características microbiológicas de los néctares de frutas | 41 |
| Tabla 3-3: Formulación del néctar de frutas y verduras | 49 |
| Tabla 3-4: Medias de los atributos para las muestras evaluadas | 49 |
| Tabla 3-5: Caracterización fisicoquímica de la bebida desarrollada | 52 |
| Tabla 3-6: Caracterización microbiológica de la bebida desarrollada..... | 52 |
| Tabla 3-7: Media del atributo "el producto en general" evaluado en la prueba de supervivencia | 58 |

Introducción

En los últimos años se ha visto una creciente tendencia en el estudio de compuestos bioactivos provenientes de una matriz alimentaria que tienen la funcionalidad de tratar y/o prevenir ciertas enfermedades al ser consumidos por las personas (Corbo et al., 2014). Gracias a lo anterior, se busca, desde la tecnología en alimentos, adicionar dichos compuestos a determinados alimentos para no solo aportar el valor nutricional del alimento en sí, sino proporcionar un bienestar adicional, como por ejemplo prevenir enfermedades crónicas no transmisibles (Pathak, 2014; Zeng et al., 2015).

Uno de estos compuestos bioactivos con potencial uso para la salud encontrados en vegetales y flores comestibles son los glucosinolatos, los cuales han demostrado una acción inversa entre su consumo y el desarrollo de enfermedades como cáncer (Hasler, 1998). Dichos compuestos se encuentran en plantas de la familia Brassica y tropeolácea, como la *Tropaeolum tuberosum* y la *Tropaeolum majus*, esta última conocida comúnmente como capuchina o mastuerzo, la cual también tiene un alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (Navarro-González et al., 2015)

Conforme a lo anterior, esta propuesta busca promover la inclusión de plantas, o sus extractos, en productos alimenticios para el consumo humano; permitiendo así la industrialización de este tipo de material vegetal como materia prima, promoviendo la investigación aplicada en la inclusión de compuestos bioactivos de la *Tropaeolum majus* en bebidas de frutas y verduras, e innovando en el desarrollo de productos con bioactivos que demuestren capacidad antioxidante, provenientes de plantas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la factibilidad tecnológica de la incorporación de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*) en una bebida de frutas y vegetales, el cual se dividió en tres objetivos específicos, que fueron: 1. Evaluar el efecto de las variables de extracción en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de la capuchina en una extracción etanólica. 2. Analizar el efecto de la incorporación del extracto de una bebida a

base de frutas y verduras respecto a su evaluación sensorial. 3. Estudiar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sus cambios en el tiempo, para la bebida desarrollada

A causa del uso reciente e innovador de dicha planta en un producto alimenticio, se hizo necesario partir del estudio y evaluación de la obtención del extracto variando tanto la relación soluto-solvente y contenido de etanol en la mezcla de solventes para conseguir el mayor contenido de compuestos fenólicos totales y su capacidad antioxidante. Luego, dicho extracto fue incorporado en una bebida tipo néctar, y como se dijo anteriormente, de frutas y verduras, y sin azúcar añadida, estableciendo a través de evaluación sensorial el contenido de extracto aceptable por los consumidores en la bebida; y finalizando en una evaluación de su estabilidad durante el almacenamiento.

1. Capítulo 1: Extracto de capuchina, como ingrediente activo en productos alimenticios de origen vegetal

Resumen

Los compuestos bioactivos son moléculas no esenciales que ejercen efectos saludables en el organismo, ejemplo de ello son los compuestos fenólicos, los cuales suelen tener capacidad antioxidante. A través de este capítulo se busca exponer los compuestos fenólicos, su clasificación y sus fuentes; también se muestra una materia prima emergente en dichos compuestos como el mastuerzo o berro monje (*Tropaeolum majus*). También se mencionan métodos de extracción que permiten extraer y hacer uso de estos compuestos en productos alimenticios. Al final este capítulo será el fundamento teórico del desarrollo metodológico del presente estudio.

Palabras clave: Mastuerzo, compuestos bioactivos, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

Summary

Bioactive compounds are non-essential molecules that have beneficial effects on the body, an example of these are the phenolic compounds, which usually have antioxidant capacity. This chapter exposes the phenolic compounds, their classification, and their sources. Also, an emerging raw material, which has higher amounts of these phenolic compounds, like the nasturtium or monk cress (*Tropaeolum majus*). Extraction methods are also mentioned that allow these compounds to be extracted and used in food products. In the end, this chapter will be the theoretical foundation for the methodological development of this study.

Keywords: phenolic compounds, organic solvent extraction, nasturtium.

Introducción

Debido al cambio en la demanda de los consumidores hacia productos más saludables y benéficos para la salud, desde la industria se ha visto la necesidad de buscar e incluir compuestos que aumenten la calidad nutricional de los productos alimenticios. Compuestos como vitaminas y minerales, así como compuestos bioactivos son de interés para la inclusión en matrices alimentarias.

Los compuestos bioactivos son moléculas que no hacen parte de los micronutrientes y no son esenciales para la salud, pero al ser ingeridos pueden ejercer efectos benéficos en el tratamiento de enfermedades o preventivos. Estos compuestos se pueden clasificar en cuatro grupos: nitrogenados, azufrados, terpénicos y fenólicos (Martínez-Navarrete et al., 2008). En los compuestos azufrados se encuentran compuestos organosulfurados como la s-alilcisteína, sulfuros de dialilo, alicina e isotiocianatos, con propiedades antioxidantes (todos), antiinflamatorias y antitrombóticas (alilcisteína y sulfuros de dialilo), y anticancerígenas (isotiocianatos); estos compuestos se encuentran en vegetales de la familia de las coles, cebollas, ajos, brócoli, etc. (Drago et al., 2006; Martínez-Navarrete et al., 2008). Los compuestos terpénicos son sustancias con carbonos isoprenoides que se encuentran en alimentos de origen vegetal, suelen ser compuestos liposolubles (Drago et al., 2006), dentro de este grupo están el d-limoneno, carotenoides y fitoesteroles. El d-

limoneno es el precursor de compuestos como el mentol, carvona y carveol (Drago et al., 2006). Los carotenoides son un grupo pigmentos que confieren colores rojos y naranjas en los alimentos y que tienen efectos antioxidantes, algunos de ellos son: betacaroteno, luteína, licopeno, zeaxantinas y xantófilas (Urango Marchena et al., 2009). Los fitoesteroles son triterpenos insaturados que se encuentran en productos como frutos secos, aceites vegetales y cereales, y se asocian con la disminución del riesgo de enfermedades del corazón (inhibición de la absorción intestinal del colesterol) (Drago et al., 2006; Urango Marchena et al., 2009). Para finalizar algunos compuestos fenólicos son flavonoides, fenilpropanoides, estilbenoides, y derivados del ácido benzoico (Martínez-Navarrete et al., 2008). En este capítulo se exponen los compuestos fenólicos y su importancia en la salud.

1.1 Compuestos fenólicos

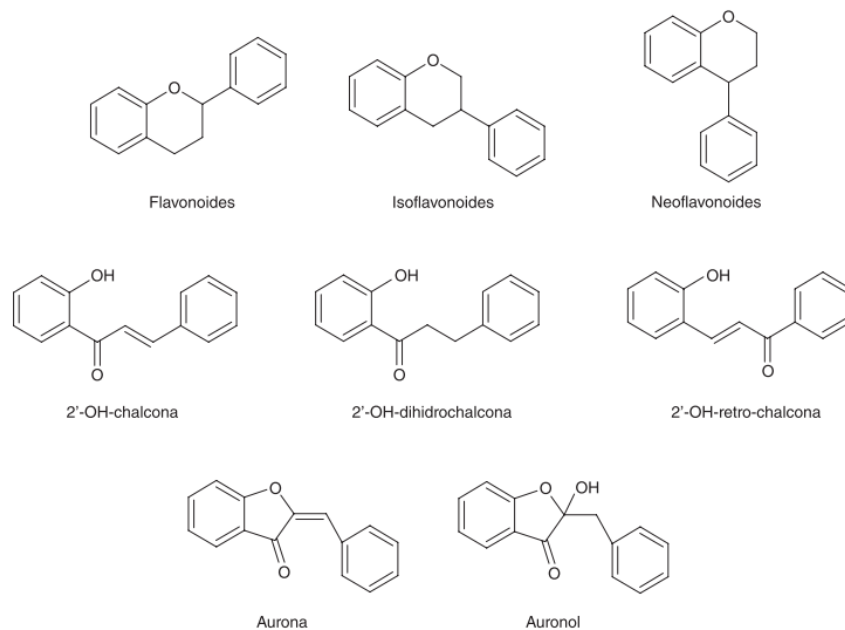
Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios obtenidos de plantas, tienen en su estructura un anillo aromático y grupos hidroxilo, a los que se les atribuyen diversos efectos tales como antioxidantes, antimicrobianos, anticancerígenos y antiinflamatorios (Zhang et al., 2022). Estos se clasifican en cinco grupos: flavonoides, taninos, lignanos, ácidos fenólicos y estilbenoides. A continuación, se mencionará algunos grupos.

1.1.1 flavonoides

Los flavonoides son compuestos con anillos aromáticos heterocíclicos, algunos de ellos confieren color a los productos y otros no; se pueden clasificar, según el carbono benzopirano en el que se une el grupo fenil (ver ilustración 1-1), en flavonoides, isoflavonoides, neoflavonoides y otros (auronas y auronoles). Se encuentran en hojas, raíces, flores, tallos y cortezas de una gran variedad de vegetales (Cabrera & Mach, 2012). En el grupo de flavonoides hacen parte las antocianinas, flavonas, flavanonas, flavonoles, isoflavonas y chalconas. Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, suelen conferir colores desde el rojo hasta el azul, en las plantas son los responsables de la atracción para la polinización, así como acción preventiva a la acción microbiana (Strack & Wray, 1994); en la industria de alimentos las antocianinas tienen su aplicación como colorantes naturales (Garz, 2008). Las Isoflavonas, también nombradas como fitoestrógenos, son abundantes en productos de soya, las más comunes de este grupo son la genisteína y daidzeína (Drago et al., 2006). Las flavanonas son isómeros de las chalconas y son los principales flavonoides de los cítricos: hesperitina en naranjas, eriodictiol en limones,

agliconas en toronjas (Zhang et al., 2022). Las flavonas, a diferencia de las flavanonas, el enlace doble está dentro del anillo central, suelen tener actividad anticancerígena (Gangopadhyay et al., 2022).

Ilustración 1-1: Estructura química de los flavonoides



Tomado de: (Cabrera & Mach, 2012)

1.1.2 taninos

Los taninos son compuestos hidrosolubles que se clasifican en hidrolizables o condensados; el grupo de hidrolizables son productos del ácido gálico y son aquellos que tienen un enlace éster entre el ácido benzoico y los azúcares, estos son el ácido tánico, egálico y digálico (Dhawale et al., 2022), mientras que los condensados son las proantocianidinas. Los taninos están presentes en cereales, leguminosas y frutas (Zhang et al., 2022) como las manzanas, peras, cerezas y granadas. Los taninos son anti mutagénicos y anticancerígenos (Martínez-Navarrete et al., 2008).

1.1.3 ácidos fenólicos

En los ácidos fenólicos se encuentran los ácidos hidroxibenzoico (ácido vainílico, gálico, siríngico y protocatequico), se obtienen de las semillas oleaginosas, cereales, café, mora y frambuesas. Y los ácidos hidroxinámico, los cuales tienen cadenas laterales de tres carbonos, como el ácido cumárico, cafeico y ferúlico; estos están naturalmente en café, cereales, melocotones, espinacas, papas y almendras (Zhang et al., 2022). Los ácidos fenólicos reducen la peroxidación de lípidos y previenen enfermedades cardiovasculares (Martínez-Navarrete et al., 2008).

Debido al interés en los compuestos bioactivos se buscan materias primas ricas en dichos fitoquímicos. Ejemplo de ello son las plantas comestibles, las cuales son fuentes de minerales como fósforo o potasio, así como compuestos que confieren propiedades analgésica, citostática, antioxidante, antiespasmódica, etc. (Lara-Cortés et al., 2013). Algunas plantas son la amapola, azucena, jamaica, lila, berros silvestres, capuchina, maca, etc. En la siguiente sección se hablará de una planta de reciente atractivo debido a sus fitoquímicos con actividad terapéutica, tales como glucosinolatos, flavonoides, curcubitacinas y carotenoides (Brondani et al., 2016).

1.2 Capuchina (*Tropaeolum majus*)

La capuchina, mastuerzo o berro monje es una planta trepadora de rápido crecimiento, perteneciente a la familia *Tropaeolaceae* originaria en Sudamérica y cultivada de forma ornamental (Brondani et al., 2016). Es característica por sus hojas redondas y peltadas de color muy verdoso; sus flores son grandes y aisladas de colores naranja, amarillo o rojo, con cáliz amarillo (Hegnauer, 1973) (ver ilustración 1-2). Como se dijo anteriormente, la capuchina es sembrado para fines ornamentales, sin embargo, en las comunidades donde se siembra se usan las hojas para ensaladas y las flores para decoraciones culinarias, además de infusiones para tratar infecciones respiratorias, o tratamiento de enfermedades de la piel (Alonso & Desmarchelier, 2015).

Ilustración 1-2: Mastuerzo o capuchina



Tomado de: <https://www.natursan.net/capuchina-descubre-sus-propiedades-medicinales-y-nutritivas/>

1.2.1 Contenido nutricional

La capuchina tiene 89% de humedad, es rica en carbohidratos y fibra, y abundante en minerales como zinc, hierro, cobre y estroncio (Navarro-González et al., 2015). En la siguiente tabla se observa el análisis proximal de la capuchina:

Tabla 1-1: Contenido nutricional de la planta *Tropaeolum majus*

| Componente | Unidad | Valor |
|-----------------------|------------|-------|
| Energía | Kcal/100 g | 21.44 |
| Humedad | % | 89.32 |
| Carbohidratos totales | % | 7.14 |
| Fibra dietaria | % | 4.51 |
| Proteína | % | 1.99 |
| Grasa | % | 0.33 |
| Cenizas | % | 0.63 |
| Calcio | mg/100g | 0.055 |
| Cobre | mg/100g | 0.472 |
| Hierro | mg/100g | 0.551 |

| | | |
|-----------|---------|-------|
| Potasio | mg/100g | 0.225 |
| Magnesio | mg/100g | 0.035 |
| Manganeso | mg/100g | 0.397 |
| Sodio | mg/100g | 0.010 |
| Fósforo | mg/100g | 0.050 |
| Azufre | mg/100g | 0.040 |
| Estroncio | mg/100g | 0.388 |
| Zinc | mg/100g | 0.660 |

Tomado de: (Navarro-González et al., 2015). Valores en base húmeda.

1.2.2 Compuestos fenólicos de la capuchina

Respecto a los compuestos fenólicos, la capuchina contiene compuestos del grupo de los flavonoides (flavonoles) y ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxicinámico) (Martínez-Navarrete et al., 2008); más específicamente flavonoles: quercitrina, flavanolas: epicatequina, ácidos fenólicos: ácido egálico, gálico, ácidos cinámicos: cafeico, clorogénico y cumárico (Demasi et al., 2021).

Las flores de la capuchina son fuente de luteína, antocianinas como delphinidina y pelargonidina (según el color de las mismas) (Jakubczyk et al., 2018). En la siguiente tabla se observa el contenido de compuestos fenólicos:

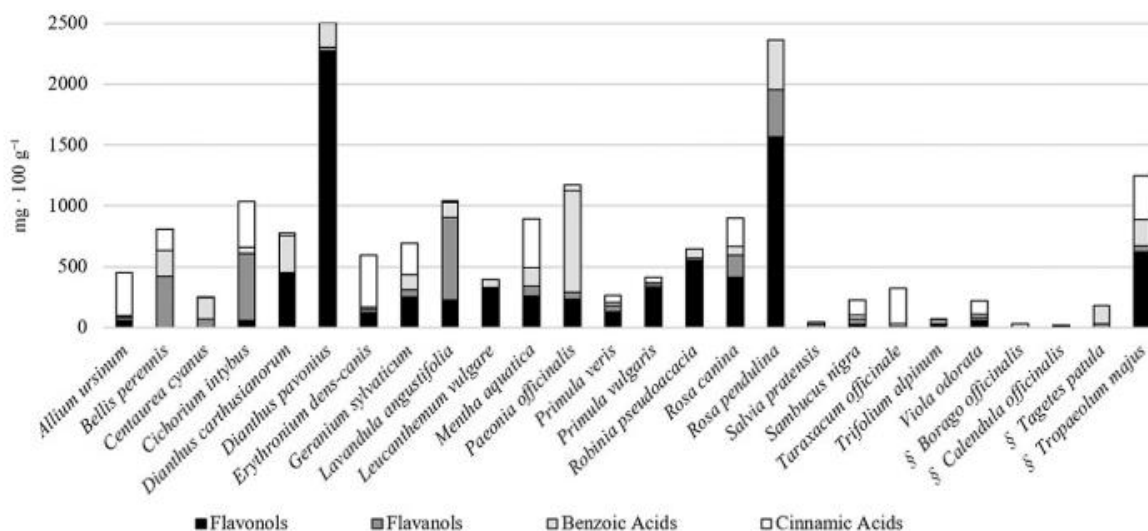
Tabla 1-2 : Compuestos fenólicos contenidos en la planta capuchina

| Compuesto | Unidad | Valor |
|------------------------------|-----------------------------|-------|
| Compuestos fenólicos totales | mg GAE / 100 g ¹ | 355.8 |
| Quercitrina | mg/ 100g | 619.6 |
| Epicatequina | mg/ 100g | 49.1 |
| Ácido egálico | mg/ 100g | 214.3 |
| Ácido cafeico | mg/ 100g | 14.1 |
| Ácido clorogénico | mg/ 100g | 241.2 |
| Ácido cumarico | mg/ 100g | 109.6 |
| Vitamina C | mg/ 100g | 17.7 |

Tomado de: (Demasi et al., 2021). ¹ unidades de equivalentes de ácido gálico.

En el siguiente gráfico se compara el contenido de los diferentes grupos de compuestos fenólicos en 26 especies florales. Se puede evidenciar que la capuchina es de las especies con mayor contenido de fenólicos, sobre todo del grupo de ácido benzoico.

Gráfico 1-1: Comparación de 26 especies florales en el contenido de compuestos fenólicos



Tomado de: (Demasi et al., 2021).

Luego de ver los potenciales nutricionales de la capuchina, y en concordancia con uno de los objetivos de la tecnología de alimentos, que es el desarrollo de nuevos productos e incorporar compuestos de fuentes emergentes en dichos productos, se hace necesario revisar métodos de extracción de compuestos nutritivos.

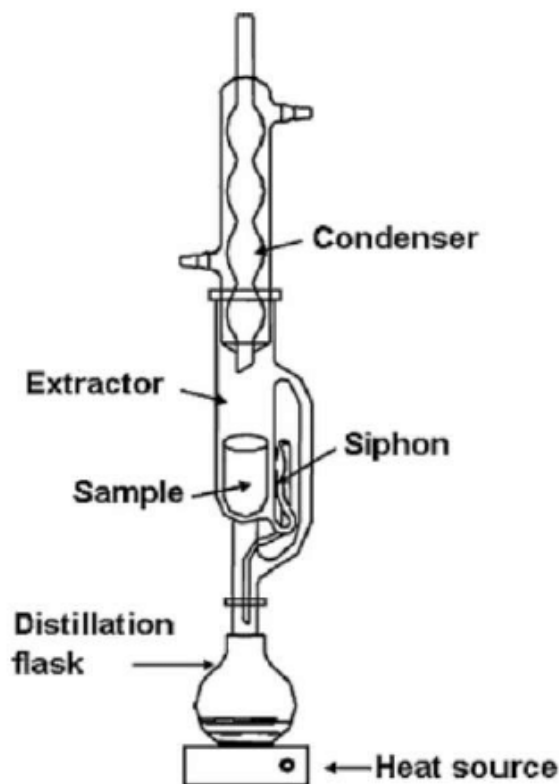
1.3 Extracción de compuestos bioactivos

Existen diferentes métodos de extracción, los cuales se pueden clasificar como convencionales o emergentes. Los convencionales son los métodos de mayor uso en la industria, mientras que los emergentes son aquellos donde se busca realizar procesos más eficientes, amigables con el medio ambiente, así como mejorar la selectividad de la extracción (Jha & Sit, 2022). A continuación, se mencionarán algunos métodos de extracción que son comúnmente utilizados para la extracción de compuestos bioactivos.

1.3.1 Método Soxhlet

El método Soxhlet fue desarrollado con el fin de extraer lípidos, diversificándose a un sinnúmero de compuestos (Jha & Sit, 2022). Es un proceso continuo (ver ilustración 3) donde un solvente se lleva hasta punto de ebullición (en el balón de destilación), evaporándose y subiendo por el equipo hasta el sistema de condensación (condensador), donde se condensará por la transferencia de calor con agua fría y descenderá hasta el dedal donde se ingresa la muestra para la extracción (sample), es allí donde se da la extracción (Daud et al., 2022).

Ilustración 1-3: Equipo para el método de extracción Soxhlet



Tomado de: (Anisa Aris & Morad, 2014)

Este método ha sido utilizado para la extracción de aceites esenciales de las semillas de maracuyá (Pereira et al., 2019) y en la vid (Lachman et al., 2015) y compuestos fenólicos del anís, cilantro y nuez moscada (Kozłowska et al., 2016). Si bien es un método versátil se resalta la necesidad de la buena selección del solvente a utilizar para maximizar el rendimiento de la extracción (Daud et al., 2022).

Una ventaja evidente del método Soxhlet es su facilidad para ser aplicada en cualquier producto, también permite el uso de altas temperaturas, es un proceso de bajo costo y de constante extracción debido a la alimentación continua de solvente fresco. Dentro de las desventajas están el largo tiempo de extracción, la pérdida de compuestos sensibles a la temperatura, casi siempre los compuestos que se buscan extraer (Jha & Sit, 2022).

1.3.2 Maceración

Otro método convencional es la maceración, en la cual no se aplica calor (se trabaja a temperatura ambiente), la matriz se macera junto con el solvente de extracción en constante agitación, aumentando así el área superficial de contacto y facilitando la salida de los compuestos de interés de la matriz (Jha & Sit, 2022). Los solventes comúnmente utilizados son el agua, aceites y alcoholes, estos se seleccionan según la afinidad con el compuesto y su polaridad (Galanakis, 2020). Este método es preferible para la extracción de compuestos termosensibles, lo que lo convierte en una ventaja, además de ser una técnica simple y de fácil implementación; sin embargo, los largos tiempos de extracción no lo hacen un método muy utilizado, sin contar su bajo rendimiento (Jha & Sit, 2022; Soquetta et al., 2018).

1.3.3 Extracción por solventes orgánicos

En la extracción por solventes orgánicos se busca recuperar el compuesto de interés de la matriz vegetal debido al contacto íntimo entre el solvente y el producto; para ello se mezcla el producto con el solvente, en uno o varios ciclos, extrayendo así el compuesto bioactivo debido a la transferencia de masa por difusión y osmolaridad (Deng et al., 2014). Como pre-procesos a la extracción se tiene el secado y disminución del tamaño de partícula de la materia prima, para facilitar el contacto entre el solvente y el material, dando una mayor superficie de transferencia. Y como proceso posterior se encuentra la separación del material sólido del solvente, y la concentración del extracto; este último paso se suele realizar a través de un roto-evaporador en el cual se recupera el solvente utilizado y se obtiene el extracto del bioactivo (Jha & Sit, 2022)

A la descripción anterior, se pueden optimizar algunas variables tales como la temperatura de extracción, por ejemplo temperaturas mayores a la ambiente, para así disminuir el

tiempo de tratamiento o inactivar enzimas que pueden degradar el bioactivo (Renard, 2018). También el uso de mezclas de solventes y mejorar así la selectividad, cabe aclarar que se debe estudiar la proporción de cada solvente en la mezcla para lograr una óptima extracción. Otra variable a estudiar es la proporción de solvente-material vegetal, ya que una de las desventajas de este método es el uso excesivo de solvente (Sharma et al., 2022); dentro de las proporciones más utilizadas son la relación 1:10 y 1:15 matriz-solvente (Deng et al., 2014; Sharma et al., 2022).

Se resalta la importancia de la selección apropiada del (los) solvente(s) a utilizar, ya que de ello depende no solo la extracción del compuesto de interés sino también la seguridad de este al ser utilizado como ingrediente en algún producto alimenticio. Conforme a lo anterior, en la industria de alimentos, los solventes comúnmente utilizados son el etanol y el agua, así como mezclas entre ellos, dando así extractos reconocidos como seguros para el consumidor y amigables con el medio ambiente (Pappou et al., 2022).

Este estudio está enmarcado en el proyecto de investigación titulado “*Desarrollo de un producto innovador a partir de la planta Tropaeolum majus*” financiado por MinCiencias y con código 120380863525 y contrato número 828 de 2018, del cual la Pontificia Universidad Javeriana es la entidad ejecutora y la Universidad Nacional de Colombia la Co-ejecutora. A continuación, se presentan los objetivos de este estudio.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la factibilidad tecnológica en la incorporación de un extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*) en una bebida de frutas y vegetales.

1.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las variables de extracción en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de la capuchina en una extracción etanólica.
- Analizar el efecto de la incorporación del extracto de una bebida a base de frutas y verduras respecto a su evaluación sensorial.

- Estudiar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sus cambios en el tiempo, para la bebida desarrollada.

1.5 Conclusiones

Existen diversos compuestos bioactivos que producen beneficios a la salud cuando son ingeridos en matrices alimentarias, es por ello por lo que la industria busca cada día incluir estos compuestos en los productos alimenticios convencionales, para así aumentar sus beneficios para el consumidor. Si bien tanto las frutas como las verduras son buena fuente de dichos compuestos, existe una emergente investigación en las plantas comestibles, las cuales han demostrado tener cantidades similares y mayores de estos compuestos respecto a las fuentes conocidas. Conforme a lo anterior, en este estudio se presenta en la capuchina como una de estas plantas potenciales en el uso de sus compuestos para fines tecnológicos. Debido a ello, es importante la revisión y estudio de procesos de extracción que permita la obtención de compuestos bioactivos, como por ejemplo compuestos fenólicos, de la capuchina para su inclusión en matrices alimentarias convencionales.

2. Estudio de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales de *Tropaeolum majus* en un extracto hidroetanólico

Resumen

La capuchina (*Tropaeolum majus*) es una planta ornamental de flores comestibles y hojas con potencial antioxidante. Debido a ello, se ha estudiado la posibilidad de incluir el extracto de las hojas de capuchina en productos alimenticios. El objetivo de este estudio fue estimar la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales de una extracción con solventes orgánicos (etanol y agua) a tres concentraciones diferentes de etanol: 45%, 70% y 96%, y dos relaciones soluto-solvente (1:10 y 1:15). Las hojas de capuchina fueron liofilizadas y pulverizadas. La extracción se realizó a temperatura ambiente durante 48 horas. La capacidad antioxidante se analizó por el método FRAP y los compuestos fenólicos totales se realizaron por el método de Folin-Ciocalteu. Para el análisis estadístico se realizó un análisis ANOVA. El extracto con mayor capacidad antioxidante fue aquel con una concentración de etanol del 96% (36,30 TEAC) y relación 1:15, seguido por el extracto de 70% y 1:15 (32,21 TEAC). Para los compuestos fenólicos totales, la muestra con mayor contenido fue 45% - 1:15, seguido por la muestra de 70% - 1:10 (40,75 – 39,58 mg GAE/g). Los resultados demuestran que un mayor contenido de etanol permite una mejor extracción de compuestos fenólicos; se evidencia también la extracción de otros compuestos los cuales aumentan el valor de la capacidad antioxidante. Finalmente, para una efectiva extracción de compuestos fenólicos y su correspondiente capacidad antioxidante, es necesario un solvente con etanol de 70% de pureza y relación 1:10.

Palabras clave: Solventes orgánicos, FRAP, *Tropaeolum majus*, Folin-Ciocalteu

Summary

The nasturtium or cress (*Tropaeolum majus*) is an ornamental plant with edible flowers and leaves with antioxidant potential. Due to this, the possibility of including the extract of nasturtium leaves in food products has been studied. The objective of this study was to estimate the antioxidant capacity and total phenolic compounds of extraction with organic solvents (ethanol and water) at three different concentrations of ethanol: 45%, 70% and 96%, and two solute-solvent ratios (1:10 and 1:15). Nasturtium leaves were freeze-dried and powdered. Extraction was performed at room temperature for 48 hours. The antioxidant capacity was analyzed by the FRAP method and the total phenolic compounds were determined by the Folin-Ciocalteu method. For statistical analysis, an ANOVA analysis was performed. The extract with the highest antioxidant capacity was the sample with an ethanol concentration of 96% (36.30 TEAC) and a 1:15 ratio, followed by the extract of 70% and 1:15 (32.21 TEAC). For total phenolic compounds, the sample with the highest content was the sample 45% - 1:15, followed by the 70% - 1:10 sample (40.75 – 39.58 mg GAE/g). The results show that a higher ethanol content allows better extraction of phenolic compounds; also, it is evident the extraction of other compounds that increased the value of the antioxidant capacity. Finally, to effectively extraction of phenolic compounds and their corresponding antioxidant capacity, a solvent with 70% purity ethanol and a 1:10 ratio is necessary.

Keywords: organic solvents, *Tropaeolum majus*, FRAP, Folin-Ciocalteu

Introducción

La capuchina o mastuerzo es una planta ornamental presente en Sudamérica, utilizada por las comunidades en infusiones para tratar dolores e infecciones en la piel (Alonso & Desmarchelier, 2015); esto debido a su contenido de compuestos bioactivos tales como glucosinolatos, carotenoides, compuestos fenólicos: flavonoides, ácidos fenólicos (Demasi et al., 2021; Martínez-Navarrete et al., 2008) y antocianinas (Jakubczyk et al., 2018). Debido a su riqueza nutricional se hace necesario la extracción de dichos compuestos para el uso de estos en productos alimenticios.

Existen diversos métodos de extracción, el más utilizado es la extracción con solventes orgánicos, en el cual el soluto (planta vegetal) entra en contacto directo con el solvente, durante un tiempo determinado, y así el compuesto de interés es extraído por difusión. Para la efectiva extracción es necesario establecer algunas variables como la temperatura del proceso, tiempo de extracción, tipo de solvente o mezcla de solventes y pureza del mismo, relación matriz-solvente, etc. (Renard, 2018; Sharma et al., 2022). Dentro de los solventes comúnmente utilizados se encuentra el agua, metanol/etanol, o mezclas entre ellos en relaciones de 70:30 y 50:50 metanol/etanol-agua (Ares et al., 2013; Demasi et al., 2021; Galanakis, 2020). Otro parámetro analizado es la relación soluto-solvente, las relaciones optimas dependen del soluto de interés, y van desde 1:10 hasta 1:50 soluto-solvente (Campos et al., 2013; Galanakis, 2020). El presente estudio tiene como objetivo determinar el rendimiento de una extracción de compuestos fenólicos con solventes orgánicos como el etanol y agua, estableciendo dos variables de extracción, las cuales son relación soluto-solvente y porcentaje de etanol y agua en la mezcla de solventes.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Alistamiento materia prima

La capuchina fue recolectada de la vereda Cogua Rodamontal y llevada a la Pontificia Universidad Javeriana donde fue separada en hojas, flores y cáliz, liofilizada en un liofilizador FreeZone 4.5 LABCONO a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y presión de 0.120 mbar, y posteriormente molidas en un molino KitchenAid, para ser empacadas y almacenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.1.2 Extracción hidroetanólica

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, en un arreglo factorial de 2×3 , donde el primer factor fue relación soluto-solvente, de dos niveles (1:10 y 1:15), y el segundo factor fue porcentaje de los solventes en la mezcla etanol-agua, de tres niveles (45%, 70%, 96% etanol). Dando así un total de seis tratamientos y tres replicaciones. Ver tabla 2-1.

Tabla 2-1: Variables de cada uno de los experimentos evaluados

| Experimento | Relación soluto-solvente | Contenido etanol en la mezcla etanol-agua (% v/v) |
|-------------|--------------------------|---|
| A | 1:10 | 96 |
| B | 1:10 | 70 |
| C | 1:10 | 45 |
| D | 1:15 | 96 |
| E | 1:15 | 70 |
| F | 1:15 | 45 |

Tomado de: Elaboración propia

A 5 gramos de hojas liofilizadas se agregó la mezcla de solventes y se dejó en agitación constante durante 48 horas continuas a temperatura ambiente, cada 24 horas la mezcla solvente-hojas fue filtrada y adicionado solvente fresco. El extracto separado de la filtración se concentró en un evaporador rotatorio RV 10 digital V marca IKA, a una velocidad de rotación de 55 rpm, temperatura del baño 50 °C y vacío absoluto de 100 mbar.

Respecto al análisis estadístico, se realizó análisis de varianza de dos vías: la primera relación soluto-solvente, y la segunda porcentajes de los solventes en la mezcla etanol - agua. También se analizó la interacción entre ellos. Adicionalmente, se realizó una prueba de comparación múltiple de Tukey para las tres fuentes de variación.

2.1.3 Determinación capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante fue determinada por el método espectrofotométrico FRAP (Demasi et al., 2021), en el cual 100 µL de extracto fue mezclado con 900 µL de reactivo FRAP (previamente incubado a 37 °C por 30 minutos), y llevado a oscuridad por 30 minutos; luego las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20, a 593 nm de absorbancia. Los resultados fueron expresados en unidades de TEAC (µmol Trolox/g extracto).

El reactivo FRAP fue preparado con buffer de ácido acetato de sodio 300 mM (pH 3.6), 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM, el cual fue elaborado a partir de una solución de ácido clorhídrico 40 mM, y cloruro férrico a 20 mM, en relación 10:1:1 (buffer: TPTZ: cloruro férrico). La curva de calibración se realizó con soluciones de Trolox a concentraciones conocidas.

2.1.4 Determinación compuestos fenólicos

Se determinó el contenido de fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu (Navarro-González et al., 2015): a 20 µL de extracto se adicionaron 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu y 1580 µL de agua destilada, se llevó a vortex Thermo Scientific Maxi Mix II, y se incubó por 5 minutos. Luego fue agregado 300 µL de carbonato de sodio anhidro 0.2 g/ml y se mezcló en el vortex, se incubaron las muestras en oscuridad durante 2 horas. Las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20, a 765 nm de absorbancia. Los resultados fueron expresados en mg Ácido gálico equivalentes /g extracto. La curva de calibración se realizó con soluciones de ácido gálico de concentraciones conocidas.

2.2 Resultados y análisis

En la siguiente tabla se consignan los resultados obtenidos de capacidad antioxidante y contenido de fenólicos totales para las seis extracciones evaluadas:

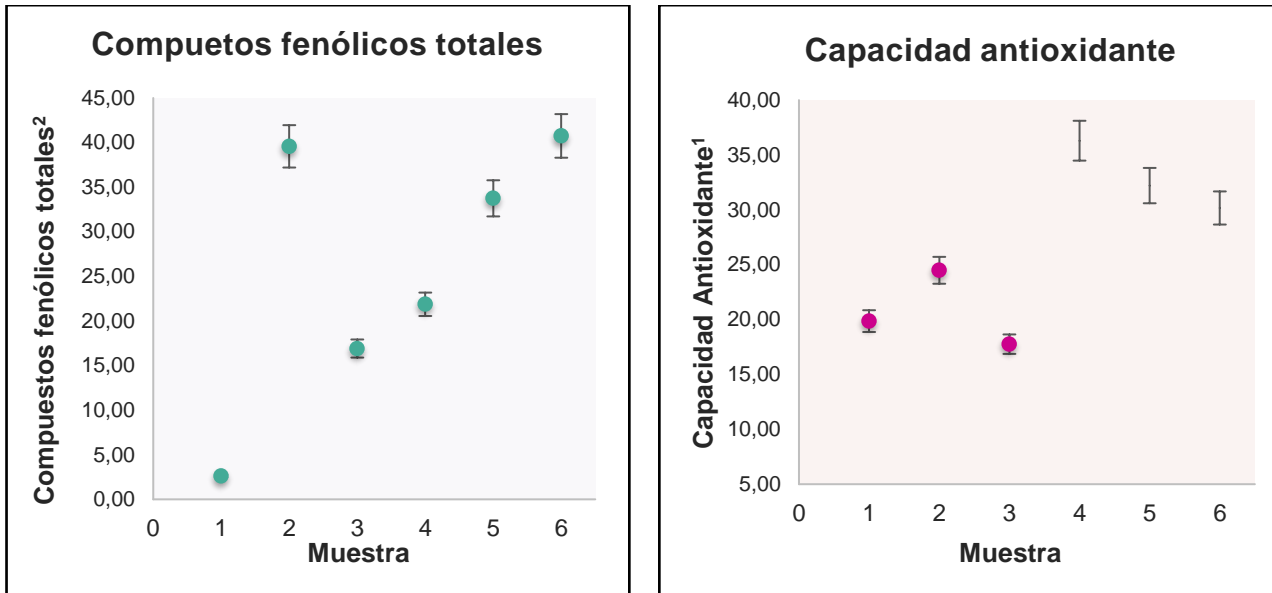
Tabla 2-2: Capacidad antioxidante y compuestos fenólicos para los extractos estudiados

| Experimento | Relación soluto-solvente | Contenido etanol en la mezcla (% v/v) | Capacidad antioxidante (TEAC) ¹ | Compuestos fenólicos totales (mg GAE/ g muestra) ² |
|-------------|--------------------------|---------------------------------------|--|---|
| 1 | 1:10 | 96 | 19,86 ^a | 2.60 ^a |
| 2 | 1:10 | 70 | 24,49 ^b | 39.58 ^b |
| 3 | 1:10 | 45 | 17,76 ^c | 16,91 ^c |
| 4 | 1:15 | 96 | 36,30 ^d | 21,87 ^d |
| 5 | 1:15 | 70 | 32,21 ^e | 33,75 ^e |
| 6 | 1:15 | 45 | 30,17 ^f | 40,75 ^b |

Tomado de: Elaboración propia. Superíndices de diferente valor indica diferencias significativas entre ellos.

¹Trolox Equivalent Antioxidant Capacity = µmol Trolox/g extracto. ²mg de ácido gálico equivalente/g extracto (GEA por sus siglas en inglés)

El contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las muestras analizadas son mayores a las reportadas por (Navarro-González et al., 2015) los cuales obtuvieron valores de 12,95 mg GAE/g y 9,51 TEAC, respectivamente; así como las reportadas por (Demasi et al., 2021), el cual determinó la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS, obteniendo valores de 14,8 y 12,8 TEAC respectivamente.

Gráfico 2-1: Capacidad antioxidante y Fenólicos totales de los seis experimentos

¹Trolox Equivalent Antioxidant Capacity = μmol Trolox/g extracto. ²mg de ácido gálico equivalente/g extracto (GEA por sus siglas en inglés)

Como se observa en el gráfico 2-1, al comparar las relaciones soluto-solvente, los extractos realizados con relaciones 1:15 (4, 5) tuvieron mayor capacidad antioxidante respecto a aquellas con menor relación (1:10), teniendo diferencias significativas entre ellas con el 95% de confianza. Estos resultados son acorde a los obtenidos por (Yang & Li, 2022) donde la relación de 1:20 es óptima para la extracción de compuestos con alta capacidad antioxidante. Es interesante ver la relación entre la capacidad antioxidante y los fenólicos totales, donde las muestras con mayor contenido de compuestos fenólicos (6, 2) no son aquellos con la mayor capacidad antioxidante (4, 5); con lo cual se puede inferir que se extrajeron otros compuestos que tienen capacidad antioxidante (Hernández-Rodríguez et al., 2020), tales como glucosinolatos y carotenoides (Demasi et al., 2021).

Al analizar el contenido de fenólicos totales, las muestras con 96% y 45% etanol, y relación 1:10 (1,3) obtuvieron el menor contenido de estos compuestos; en tanto que las muestras con 70% y relación 1:10 (2), y 45% etanol y relación 1:15 (6) tuvieron mayores contenidos de compuestos fenólicos y valores similares entre ellos (ver tabla 2-2), es decir que no hay diferencias significativas entre estas dos muestras (valor $p > 0.05$). Lo anterior es similar a

lo estudiado por (Celant et al., 2016) donde el extracto etanólico (80%) presentó mayores contenidos de fenólicos totales respecto al extracto acuoso.

Es importante la evaluación de la relación soluto-solvente adecuada para la extracción ya que, si bien una relación mayor facilita la transferencia del compuesto de interés hacia el solvente, representará un mayor costo económico en la extracción, así como mayor gasto energético y costos en procesos de purificación del solvente utilizado. Caso contrario al anterior, si se busca disminuir costos con bajas relaciones soluto-solvente, puede no ser suficiente para extraer la máxima cantidad del bioactivo (Liu & Li, 2021), comportamiento visto con la muestra 1 y 3.

2.3 Conclusiones

Extracciones con mezclas de solventes (por ejemplo, etanol-agua) son preferibles respecto al uso de solo un solvente, siendo óptimas aquellas con mayor contenido de etanol. Respecto a la relación soluto-solvente, mayores relaciones dieron mayor actividad antioxidante; sin embargo, debido a que no es claro el comportamiento entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en las muestras evaluadas, es necesario determinar qué otros compuestos fueron extraídos que presentan actividad antioxidante, y poder así establecer la correlación entre estos dos análisis. Debido a que se buscaba seleccionar un extracto con alto contenido de compuestos fenólicos totales y su correspondiente actividad antioxidante, aquellas muestras que cumplen con lo anterior son las muestras 70% etanol y relación 1:10, y la muestra con 45% etanol y relación 1:15. Además de lo anterior, para futuros estudios se recomienda evaluar otras relaciones de soluto-solvente para así optimizar la extracción del bioactivo de interés con la menor relación posible, y disminuir costos en compra, operaciones unitarias post-extracción y generación de efluentes.

3. Evaluación de la aceptación sensorial de una bebida de frutas y verduras en la incorporación del extracto de capuchina (*Tropaeolum majus*), y sus cambios en el tiempo

Resumen

La evaluación sensorial es un método útil para la clasificación, selección y estandarización de productos alimenticios en cuanto a sus atributos sensoriales. Se realizó una prueba hedónica de 5 puntos y una prueba de ordenamiento, con 60 panelistas no entrenados, para determinar la muestra de mayor aceptación de tres muestras de néctar de frutas y verduras, las cuales se diferenciaban por su contenido de extracto de capuchina (1000, 2500 y 5000 mg/kg). También se analizó el cambio de sus características fisicoquímicas (pH, Brix, acidez, densidad, capacidad antioxidante y fenólicos totales), microbiológicas (mesófilos, hongos y levaduras) y sensoriales durante 30 días de almacenamiento a 10, 20 y 30 °C. De las tres muestras evaluadas, la de menor contenido de extracto fue la mejor calificada en cuanto a sabor y consistencia y la de mayor aceptación (acorde a la prueba de ordenamiento), esto debido al sabor picante del extracto. Respecto al cambio en el tiempo, la bebida a los 15 días de almacenada presenta cambios en el pH, densidad, así como crecimiento microbiano de hongos y levaduras a partir de los 8 días; también se evidenció disminución de compuestos fenólicos debido a degradación por la temperatura de almacenamiento por largos periodos; lo anterior fue consecuente con las pruebas sensoriales, donde el 20% de los evaluadores rechazaron la muestra a los 7 días de almacenada, debido al sabor a fermento percibido por los evaluadores.

Palabras clave: prueba de ordenamiento, mesófilos, compuestos fenólicos totales, néctar de frutas.

Summary

Sensory evaluation is an effective method for the classification, selection, and standardization of food products in terms of their sensory attributes. A 5-point hedonic test and a scaling test were conducted, with 60 untrained panelists, to determine the sample with the highest acceptance of three samples of fruit and vegetable nectar, which differed by their content of nasturtium extract (1000, 2500 and 5000mg/kg). Changes in their physicochemical characteristics (pH, Brix, acidity, density, antioxidant capacity and total phenolics compounds), microbiological (mesophiles, fungi, and yeasts) and sensory characteristics were also analyzed during 30 days of storage at 10, 20 and 30 °C. The one with the lowest extract content was the best qualified in terms of flavour and consistency and the one with the highest acceptance (according to the ranking test), due to the spicy flavour of the extract. Looking at the change over time, after 15 days of storage the beverage shows changes in pH, and density, as well as microbial growth of fungi and yeast after 8 days; There was also evidence of a decrease in phenolic compounds due to degradation to storage temperature for long periods; This was consistent with the sensory tests, where 20% of the panelist rejected the sample after 7 days of storage, due to the fermented flavour perceived by the evaluators.

Keywords: scaling test, total phenolic compounds, fruits nectar.

Introducción

En el mercado existen diferentes tipos de bebidas no alcohólicas establecidas y caracterizadas en las Normas Técnicas Colombianas: Bebidas gaseosas o carbonatadas - NTC 2740 (elaborada por disolución de gas carbónico en agua potable), Aguas saborizadas - NTC 5514 (Bebida cuyo contenido de agua es igual o superior al 99,0% p/p y el restante corresponde a saborizantes o aromatizantes y aditivos), y bebidas de frutas - NTC 5468. Dentro de las bebidas de frutas se encuentran los jugos, zumos, néctares y sus concentrados. Respecto a estos últimos, la Resolución 3929 de 2013 del Ministerio de salud y protección social explica los criterios generales para los néctares de frutas.

Según dicha Resolución, un néctar de frutas es un producto no fermentado elaborado a partir de zumos o pulpas de frutas, y adición o no de agua, azúcares/edulcorantes y aditivos

permitidos. Estos deben tener el aroma, sabor y color característico de la fruta que proceden, y cuando se realizan a partir de mezclas de frutas, los sólidos solubles de fruta será el promedio de cada una de las frutas agregadas. También se aclara el porcentaje mínimo de fruta que debe contener el néctar (según la fruta), y los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir, los cuales se describen a continuación:

Tabla 3-1: Características fisicoquímicas del néctar de frutas

| Característica | Valores | |
|------------------------------------|---------|--------|
| | Mínimo | Máximo |
| Sólidos solubles a 20 °C (%) | 10* | - |
| pH a 20 °C | 2.5 | 4.6 |
| Acidez titulable (% ácido cítrico) | 0.2 | - |

Tomado de: (Ministerio de salud y protección social, 2013). *No se aplica cuando se realiza sustitución parcial o total de azúcar utilizada para endulzar

Tabla 3-2: Características microbiológicas de los néctares de frutas

| Requisitos | parámetros | | | |
|--|------------|-----|-----|---|
| | n | m | M | c |
| Recuento de mesófilos (UFC/g) | 5 | 100 | 300 | 1 |
| Recuento de <i>Clostridium</i> sulfito reductoras (UFC/g) | 5 | <10 | - | 0 |
| Recuento de <i>E. coli</i> (UFC/g) | 5 | <10 | - | 0 |
| Recuento de mohos y levaduras (UFC/g) | 5 | 10 | 100 | 1 |
| n= muestras por examinar. m= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad. M= índice máximo permisible para identificar el nivel de aceptable calidad. c= número máximo de muestras permisibles con los resultados entre m y M. | | | | |

Tomado de: (Ministerio de salud y protección social, 2013).

Cuando se desarrolla un producto alimenticio, es importante realizarlo de la mano con evaluaciones sensoriales que establezcan el producto óptimo en cuanto a su calidad

sensorial. Es por esto que existen diferentes tipos de evaluaciones sensoriales (afectivas, discriminativas y descriptivas), uno de ellos son las pruebas afectivas en las cuales el evaluador expresa de manera subjetiva su agrado o desagrado de un producto (Anzaldúa-Morales, 1994). Para estas pruebas se puede hacer uso de diferentes tipos de evaluadores, los más utilizados son los evaluadores o consumidores no entrenados (personas sin ninguna experticia en evaluaciones sensoriales, los cuales son abordados en la calle al azar), debido a que son personas sin entrenamiento se necesita de un gran número de evaluadores para disminuir la variación debida por la subjetividad, los autores recomiendan un número de 70 catadores (Espinosa Manfungás, 2007). El objetivo de este capítulo es establecer la formulación de mayor aceptación sensorial de una bebida a base de frutas y verduras e inclusión de un extracto de capuchina *Tropaeolum majus*.

3.1 Materiales y métodos

Se buscó desarrollar una bebida tipo néctar que tuviera tanto frutas como algunas verduras, sin adición de edulcorantes calóricos (como el azúcar) y que fueran efectivas para enmascarar el sabor, olor y color del extracto de la capuchina (el cual debido a su contenido de glucosinolatos tiene un sabor picante y olor fuerte) (Lykkesfeldt & Møller, 1993). Las materias primas vegetales fueron compradas en un mercado local, así como el edulcorante acalórico “Endulzante Natural”, marca Best4u, el cual contiene una mezcla de eritritol y estevia.

3.1.1 Elaboración néctar

Se realizó una bebida tipo néctar a partir de una mezcla de frutas y verduras: naranja, yacón, manzana verde, guatila, yerbabuena y pepino cohombro. Luego de la recepción de la materia prima, se realizó la limpieza y desinfección de cada una de ellas, y una posterior selección, descartando aquellos con daños físicos o microbiológicos. De la naranja se obtuvo el zumo de naranja a través de su expresión, y con la hierbabuena se realizó una inmersión durante 10 minutos en agua caliente.

Para las materias primas como yacón, manzana verde, pepino cohombro y guatila, se procedieron a pelar y corticar para luego realizar una inmersión en una solución de ácido cítrico y ascórbico (0.05 % p/p de ácido cítrico y 0.05% p/p de ácido ascórbico para el

pepino, guatila y yacón – 0.05 % p/p de ácido cítrico y 0.1% p/p de ácido ascórbico para la manzana y hierbabuena) durante 7 minutos. Luego de ello, cada materia prima fue escaldada a 65 °C durante 4 min (frutos) o 2 min (hojas), y posteriormente se pasaron por una despulpadora y así obtener la pulpa de cada materia prima vegetal. Finalmente se pesaron cada una de las pulpas según la formulación de la tabla 3-3 y se mezclaron con los aditivos (goma xantan y maltodextrina) y el edulcorante acalórico; se realizó una pasteurización a 80°C durante 5 minutos e inmediatamente se empacaron en frascos de vidrio para jugos, los cuales luego de llenados fueron sellados y sometidos a choque térmico para su refrigeración.

3.1.2 Evaluación sensorial

A partir de la formulación base (tabla 3-3) se realizaron tres bebidas con diferente contenido de extracto (1000 mg/kg, 2500 mg/kg, 5000 mg/kg), las cuales fueron evaluadas sensorialmente. Se aplicó una prueba afectiva (hedónica) y una prueba de preferencia con 60 consumidores no entrenados, se evaluaron 3 atributos: aroma, sabor y consistencia, así como el producto en general. Se hizo uso de una escala hedónica de 5 puntos (1: me disgusta mucho, 2: me disgusta poco, 3: ni me gusta ni me disgusta, 4: me gusta poco, 5: me gusta mucho). Para disminuir sesgos en la calificación, las muestras fueron evaluadas de forma aleatoria por cada evaluador. A cada consumidor le fue entregado 20 ml de cada muestra en vasos plásticos desechables codificados con números aleatorios de tres dígitos (las muestras se encontraban a una temperatura de refrigeración-10 °C), junto con el formato para la evaluación sensorial, y agua como pasante.

Se le solicitó a cada evaluador probar y calificar cada muestra por separado para cada uno de los atributos, y luego la muestra como un todo; después se le pidió que ubicara las muestras en orden de mayor a menor preferencia, identificándolas con frases como “*la que más me gusta – la que me sigue en gusto – la que menos me gusta*”. En el anexo A se encuentra el formato utilizado para las pruebas sensoriales. Para el análisis estadístico se realizó análisis de varianza (ANOVA) y, cuando los resultados evaluados no presentaban normalidad, se aplicó análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis con un nivel de confianza

del 95%. Los resultados del análisis sensorial permitieron establecer la muestra con mayor calificación por parte de los consumidores.

3.1.3 Estudio de los cambios de las propiedades fisicoquímica, microbiológica y sensorial durante el tiempo

De la evaluación sensorial se seleccionó la bebida con una concentración de 1000 mg/kg. Se preparó la bebida tal como se indicó en el numeral 3.1.1 (el extracto se adiciona durante el mezclado y antes de la pasteurización). Con esta bebida se procede a estudiar el cambio de sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales durante el almacenamiento a tres temperaturas diferentes (10, 20 y 30 °C), durante 30 días. Para este estudio las bebidas fueron empacadas en envases de 100 ml cada una y separadas en dos análisis diferentes: análisis microbiológico y análisis fisicoquímico; el análisis sensorial se describirá más adelante. A continuación, se explicará cada uno de estos análisis.

3.1.3.1 Evaluación de las propiedades fisicoquímica

Cada ocho días se tomó un envase de cada temperatura y se determinó el pH, densidad, acidez, sólidos solubles, actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos totales. Cada determinación se realizó por triplicado, y como análisis estadístico se realizó análisis de varianza ANOVA.

- pH: se analizó por método potenciométrico de la AOAC 981.12 (AOAC International, 1982) con un pH-metro de sobremesa HI 2211 marca HANNA. Se tomó una alícuota del jugo en un vaso de precipitado, se introdujo el electrodo y la sonda de temperatura en la muestra y se registró el valor de pH y su temperatura.
- Densidad: Se determinó con ayuda del picnómetro, se registró el peso vacío del picnómetro de 10 ml, y cuando se llena con la bebida. El valor de densidad se determina por la diferencia entre los dos pesos y dividido por la capacidad volumétrica del picnómetro.
- Acidez titulable: Se realizó por el método de la AOAC 942.15 (AOAC International, 1942) se tomaron 5 ml de la muestra con ayuda de una pipeta aforada y se

depositaron en un Erlenmeyer de 50 ml, se adicionó agua para diluir la muestra y dos-tres gotas de fenolftaleína. Se tituló la muestra con hidróxido de sodio 0.09524 M hasta que el color viró a rosa claro. El resultado se reportó en % ácido cítrico.

- Sólidos solubles: Los sólidos solubles se determinaron por refractometría AOAC 932.12, el equipo utilizado fue un refractómetro digital PAL-1 marca ATAGO. (AOAC International, 1980)
- Actividad antioxidante: La capacidad antioxidante fue determinada por el método espectrofotométrico FRAP. La muestra fue centrifugada a 500 g durante 5 min, se tomaron 100 µL y se mezcló con 900 µL de reactivo FRAP (previamente incubado a 37 °C por 30 minutos), luego fue llevado a oscuridad por 30 minutos y leídas en un espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20, a 593 nm de absorbancia. Los resultados fueron expresados en unidades de TEAC (µmol Trolox/g extracto).
- Contenido de compuestos fenólicos totales: se realizó por el método de Folin-Ciocalteu. A 20 µL de la muestra previamente centrifugada se adicionaron 100 µL del reactivo Folin-Ciocalteu y 1580 µL de agua destilada, se llevó a vortex Thermo Scientific Maxi Mix II, y se incubó por 5 minutos. Luego le fue agregado 300 µL de carbonato de sodio anhidro 0.2 g/ml y se mezcló en el vortex, se incubaron las muestras en oscuridad durante 2 horas. Las muestras fueron leídas a 765 nm de absorbancia. Los resultados fueron expresados en mg Ácido gálico equivalentes /g extracto.

3.1.3.2 Evaluación microbiológica

Para el análisis microbiológico se tomaron 5 muestras de cada bebida, en el día cero se determinó el recuento de microorganismos mesófilos, hongos y levaduras, coliformes totales, *Salmonella* y *E. coli*. Luego de corroborar que no hubo crecimiento de coliformes totales, *salmonella* y *E. coli* en el día cero, únicamente se hizo recuento de hongos, levaduras y mesófilos durante los 30 días.

- Mohos y levaduras: se determinó siguiendo la norma ISO 21527-1 (International Organization for Standardization, 2008) por recuento de colonias en placa. Se tomó una muestra de la bebida y se realizaron las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , estas se

sembraron en profundidad en cultivo Rosa de Bengala, y se incubaron a 25 °C por 5 días; se determinó el recuento de colonias y se reportó como UFC/g.

- **Coliformes:** se realizó por número más probable. Según la norma ISO 9308-2 se tomó una muestra de la bebida y se realizaron las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , en tubos de caldo verde brillante por triplicado se sembró 1 ml de cada dilución, los tubos se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 horas. Se determinó presencia del microorganismo si se evidencia gas o turbidez en el tubo.
- **Mesófilos:** se determinó por recuento de colonias en placa, se tomó una muestra de la bebida y se diluyó en 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , estas se sembraron por triplicado en profundidad en cultivo Plate Count y se incubaron a 37 °C por 48 horas; se hizo el recuento de colonias por g de bebida (UFC/g).
- **Salmonella:** Se realizó el método descrito en la NTC-4574 (Instituto Colombiano de Normas Técnicas, 2007). Los resultados fueron expresados como ausencia o presencia de *Salmonella* en una porción de 25 g de la bebida.
- **E. coli:** Se realizó el método descrito en la NTC-4458 por recuento de placas (Instituto Colombiano de Normas Técnicas, 2018). los resultados fueron expresados como Unidades Formadoras de Colonias por gramo de bebida (UFC/g).

3.1.3.3 Evaluación sensorial

Para la evaluación sensorial, se elaboraron las bebidas como se describió en el numeral 3.1.3, siguiendo un diseño escalonado (Hough & Fiszman, 2005), es decir cada ocho días se preparaba un nuevo lote de la bebida para así aplicar en un solo día la evaluación sensorial de todas las muestras. Las muestras fueron almacenadas a una temperatura de 20 °C. Al final de los 30 días de estudio se tenían 5 muestras para la evaluación sensorial.

Se aplicó una prueba afectiva (hedónica) con 60 consumidores no entrenados, se evaluó el producto en general con una escala hedónica de 5 puntos, y al final se preguntó si compraría o no la muestra evaluada. Para disminuir sesgos en la calificación, las muestras fueron evaluadas de forma aleatoria por cada evaluador. A cada uno le fue entregado 20 ml de cada muestra en vasos plásticos desechables codificados con números aleatorios

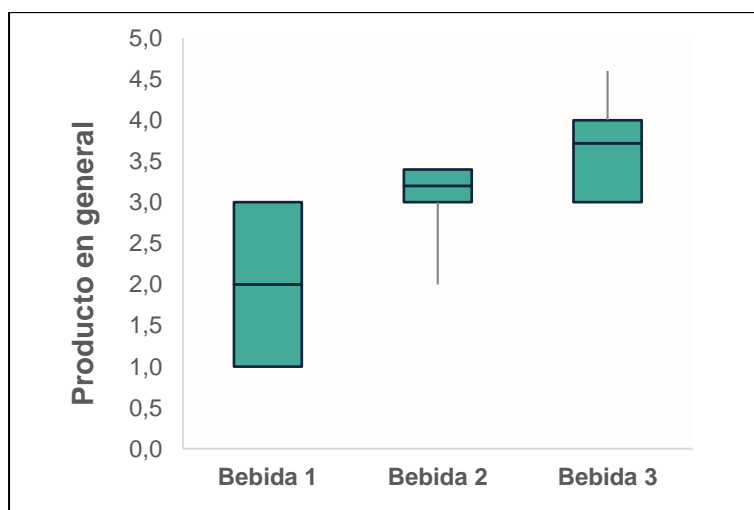
de tres dígitos (las muestras se encontraban a una temperatura de refrigeración - 10 °C), junto con el formato para la evaluación sensorial, y agua como pasante. En el anexo B se encuentra el formato utilizado para las pruebas sensoriales. Para el análisis estadístico, se realizó un análisis de supervivencia siguiendo el modelo de Weibull.

3.2 Resultados y análisis

3.2.1 Desarrollo preliminar de la bebida

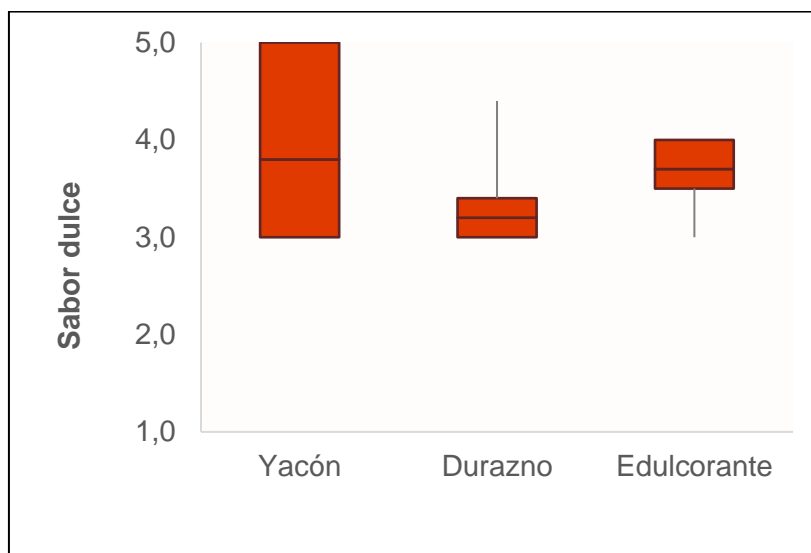
Inicialmente se propuso desarrollar una bebida tipo néctar de verduras (espinaca, pepino y apio) y sin adición de azúcar – bebida 1-; sin embargo, debido al alto contenido de fibra del apio hacía que la textura en boca fuera calificada como desagradable y el sabor picante de la espinaca que potencializaba el sabor del extracto en vez de enmascararlo, hizo necesario replantear la formulación. La segunda formulación propuesta – bebida 2 - mantuvo el pepino cohombro y la espinaca y buscó trabajar con una mezcla de frutas y verduras, tales como guatila, manzana verde, y hierbabuena. Si bien esta segunda formulación mejoró la textura en boca, y la hierbabuena enmascaró el sabor picante, los evaluadores señalaron la presencia de un sabor residual en la bebida causado posiblemente por la espinaca.

Gráfico 3-1: Media de las evaluaciones sensoriales para el atributo “percepción general”



Se propuso una tercera formulación – bebida 3 - sustituyendo la espinaca y agregando naranja valencia para tener un sabor más definido en la bebida, lo cual mejoró su calificación, quedando así una formulación preliminar. Debido a que uno de los retos propuestos era la no adición de azúcar como edulcorante, se buscaron diferentes fuentes que confirieran ese sabor dulce a la bebida, se evaluaron tres opciones diferentes: yacón, durazno y el uso de un edulcorante acalórico a base de Stevia. De las tres opciones, la formulación con durazno perdía la sensación y sabor refrescante que tenía la formulación inicial, y la percepción de sabor dulce era contundente, pero con un residual amargo; la formulación con el edulcorante fue calificada como empalagosa a causa de su poder edulcorante, mientras que la opción con yacón fue más aceptada que las demás, sin embargo, los evaluadores mencionaban que tenía un sabor residual agrio.

Gráfico 3-2: Media de las evaluaciones sensoriales para el atributo “Sabor dulce”



Conforme a lo anterior, se decidió usar tanto yacón como el edulcorante acalórico, para aportar un sabor dulce (por los fructooligosacáridos del yacón (Machucha A, 2014)) pero sin que fuera excesivo o empalagoso (por el uso de únicamente edulcorante). La formulación base de la bebida quedó establecida como se observa en la tabla 3-3.

Tabla 3-3: Formulación del néctar de frutas y verduras

| Ingrediente | Porcentaje (% p/p) |
|----------------------------|--------------------|
| Naranja valencia | 25 |
| Yacón | 23 |
| Manzana verde Granny Smith | 16 |
| Agua con hierbabuena | 12 |
| Pepino cohombro | 11 |
| Guatila o chayote | 10 |
| Goma Xantan | 0,2 |
| Maltodextrina | 1 |
| Edulcorante | 1 |

3.2.2 Evaluación sensorial

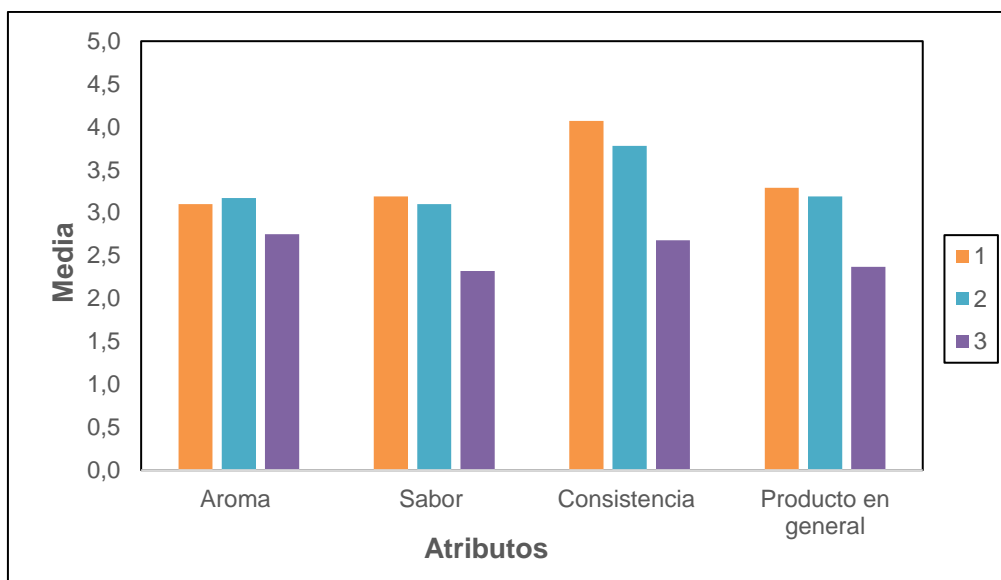
En la tabla 3-4 se encuentran las medias de los atributos evaluados para las tres muestras a través de la escala hedónica, el puntaje máximo fue de 5.

Tabla 3-4: Medias de los atributos para las muestras evaluadas

| Muestra | Concentración extracto (mg/kg) | Atributos evaluados | | | | Prueba de ordenamiento |
|---------|--------------------------------|---------------------|-------------------|-------------------|---------------------|------------------------|
| | | Aroma | Sabor | Consistencia | Producto en general | |
| 1 | 1000 | 3.10 ^{a,b} | 3.19 ^a | 4.07 ^a | 3.29 ^a | 2.47 ^a |
| 2 | 2500 | 3.17 ^a | 3.10 ^a | 3.78 ^a | 3.19 ^a | 2.22 ^b |
| 3 | 5000 | 2.75 ^b | 2.32 ^b | 2.68 ^b | 2.37 ^b | 1.30 ^c |

Superíndices de diferente letra en la misma columna indica que hay diferencias significativas entre ellas.

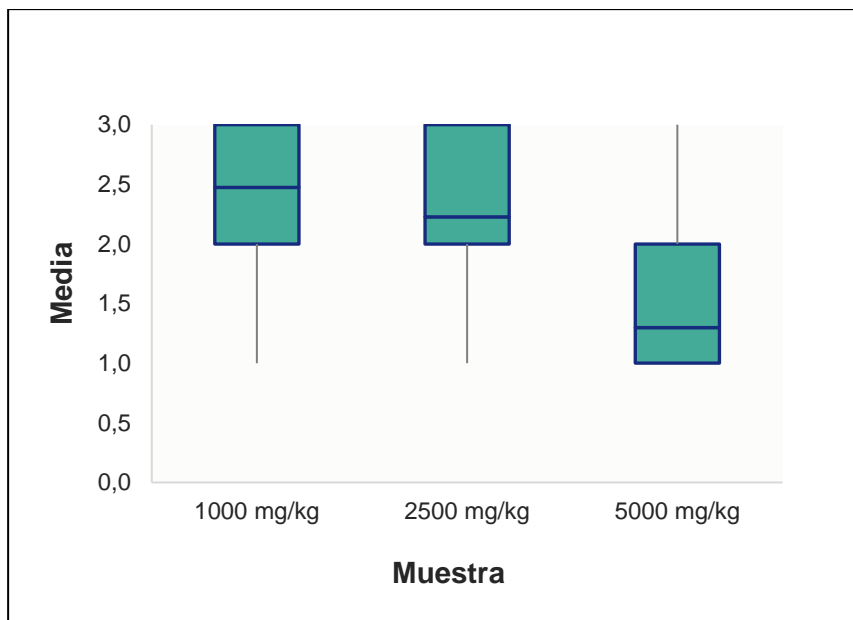
Gráfico 3-3: Medias de los atributos y prueba de ordenamiento para las tres muestras evaluadas



La muestra con mayores puntajes para todos los atributos, excepto aroma, fue la muestra 1, mientras que aquella con los puntajes más bajos fue la muestra 3. El atributo aroma fue el único atributo que no presentó diferencia significativa con un 95 % de confianza entre las tres muestras evaluadas, indicando así que el aroma no fue un factor determinante para los catadores a la hora de evaluar las muestras. Para los demás atributos (ver gráfico 3-1), la muestra 3 es significativamente diferente a las demás, lo que dice que los catadores si bien no están completamente de acuerdo entre cuál de las otras dos muestras prefieren, definitivamente la muestra 3 fue rechazada. Al comparar los valores entre las muestras 1 y 2, la muestra 1 obtuvo puntajes mayores a la 2 en sabor, consistencia y el producto en general; pero en el atributo consistencia (se refiere a la textura en boca de la bebida) hay más diferencia entre las medias que en los demás atributos, siendo este el atributo por el cual se definió la muestra 1 como la mejor calificada.

Por otro lado, la prueba de ordenamiento consistió en darle a la muestra un puntaje de 1, 2 o 3 (ver ilustración 3-1) según la posición en la cual el evaluador había ubicado la muestra; por ejemplo, si ubicaba la muestra en la casilla de la frase “*la que más me gusta*” su puntaje era 3, pero si estaba en la casilla “*la que menos me gusta*” su puntaje era 1; conforme a lo anterior, el valor máximo que se podía atribuir era 3.

Gráfico 3-4: Diagrama de cajas y bigotes de las muestras evaluadas por ordenamiento



En el gráfico de cajas y bigotes (gráfico 3-2) se encuentran los resultados de la prueba de ordenamiento. En el cual se puede observar que la muestra 1 fue la de mayor puntaje (media 2,5), siendo la de mayor aceptación, seguida por la muestra 2 (media 2,2) y finalizando la muestra 3 (media 1,3); siendo todas significativamente diferentes entre ellas con un 95% de confianza. Estos resultados corroboran lo visto con la prueba hedónica, siendo la muestra 1 la mejor calificada y de mayor aceptación; por ende, la muestra 1 es la seleccionada para los demás análisis.

3.2.3 Caracterización fisicoquímica de la bebida

De la evaluación sensorial se seleccionó la bebida con una concentración de 1000 mg/kg (muestra 1), esta fue elaborada tal como se indicó en el numeral 3.1.1, y se caracterizó, obteniendo los siguientes valores:

Tabla 3-5: Caracterización fisicoquímica de la bebida desarrollada

| Características | Unidades | Valor |
|------------------------------|-----------------|--------------|
| Sólidos solubles | % | 8,4 |
| pH | - | 4,1 |
| Acidez (ácido cítrico) | % | 0,31 |
| Densidad | g/ml | 1,0401 |
| Compuestos fenólicos totales | mg GAE/ml | 0,7124 |
| Capacidad antioxidante | μmol Trolox/ml | 0,8721 |

Tabla 3-6: Caracterización microbiológica de la bebida desarrollada

| Requisitos | Unidades | Valor |
|---|-----------------------------|--------------|
| Recuento de microorganismos mesófilos | UFC/g | <10 |
| Recuento de coliformes | UFC/g | <10 |
| Recuento de <i>E. coli</i> | UFC/g | <10 |
| Recuento de mohos y levaduras | UFC/g | <10 |
| Presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> | Ausencia o presencia / 25 g | Ausencia |

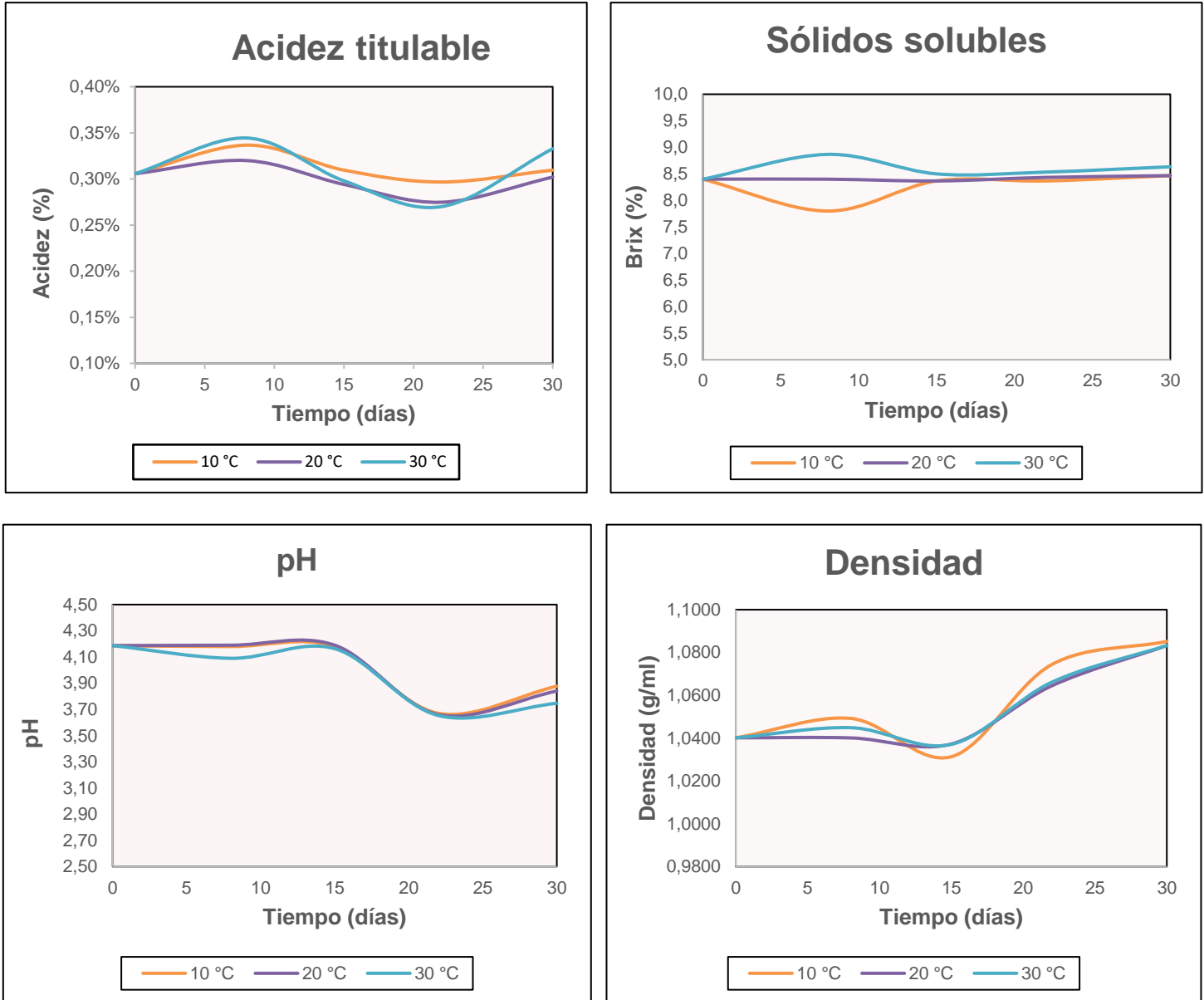
Observando las características (tabla 3-7) y contrastándolas con la Resolución 3929 de 2013 del Ministerio de Salud y Protección Social, en la cual se determinan los tipos de bebidas no alcohólicas, se puede decir que la bebida desarrollada es un néctar de frutas y verduras; aun cuando el contenido de sólidos solubles esté por debajo del mínimo permitido, ya que al no adicionar azúcar este no llegó a los sólidos establecidos en la

norma, sin embargo la norma aclara que para dichos casos no se aplica (Ministerio de salud y protección social, 2013). Así mismo, el análisis microbiológico (ver tabla 3-8) concluye que la bebida se realizó con buenas prácticas de manufactura, así como un efectivo método de conservación (pasteurización a 80 °C por 5 min); mostrando así la inocuidad de la bebida para ser ingerida por los consumidores.

Respecto al contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante (tabla 3-7), se observa que ambos aumentaron al ser comparados con los aportados por el extracto (0,0411 mg GAE/ml y 0,024 μ mol Trolox/ml, respectivamente); esto se debe a que las frutas y verduras utilizadas para la elaboración de la bebida también contienen compuestos fenólicos que aportan capacidad antioxidante a la bebida (Kelebek et al., 2009). A la lista de los compuestos fenólicos contenidos en las hojas de capuchina, extraídos en el extracto agregado a la bebida y mencionada en capítulos anteriores (ácido egálico, cafeico y clorogénico, quercitrina, epicatequina), en la bebida se pueden encontrar también naringina, hesperitina, flavononas y taninos; así como bioactivos no fenólicos tales como carotenoides y vitamina C (Kelebek et al., 2009; Quan et al., 2018; Santini et al., 2014).

3.2.4 Estudio de los cambios de las propiedades fisicoquímica, microbiológica y sensorial durante el tiempo

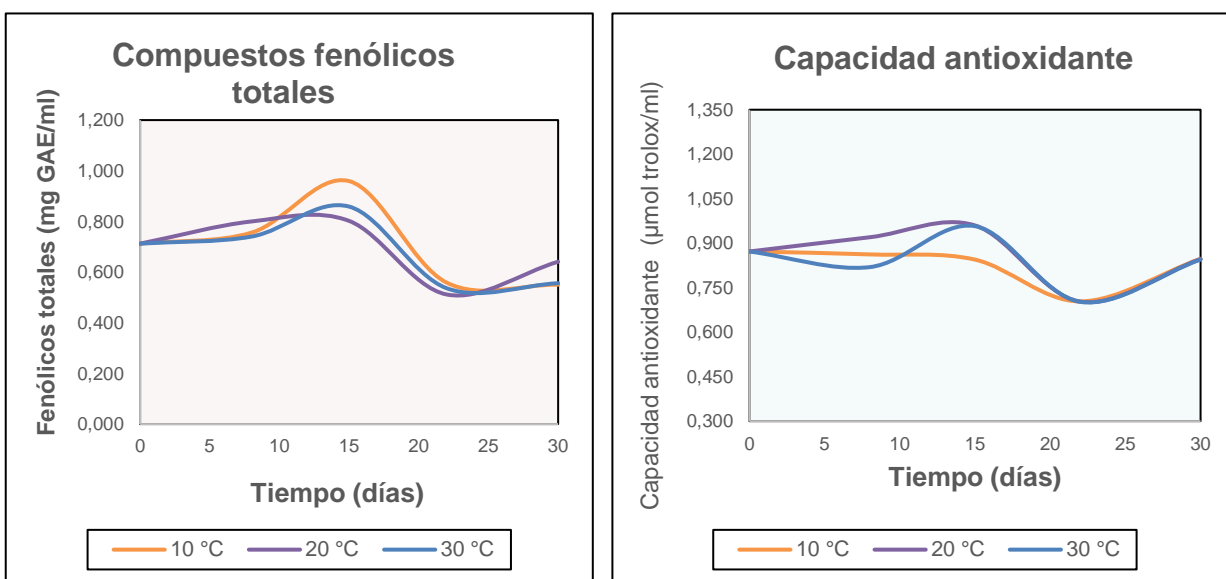
En el siguiente gráfico se pueden observar los cambios en acidez titulable, sólidos solubles, pH y densidad durante los 30 días del estudio, para cada una de las tres temperaturas:

Gráfico 3-5: Cambios fisicoquímicos de la bebida durante el almacenamiento a diferentes temperaturas

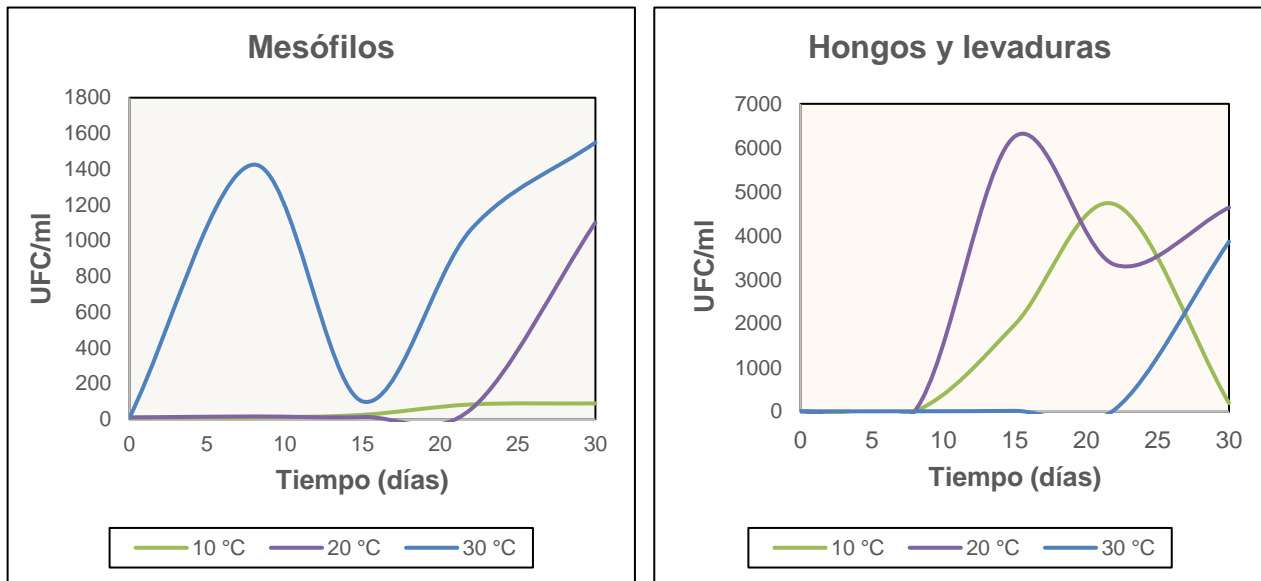
Viendo las gráficas anteriores se puede observar que la acidez y sólidos solubles no tuvieron cambios significativos durante el almacenamiento para las tres temperaturas estudiadas. Pero el pH disminuyó y la densidad aumentó con la misma tendencia para las tres temperaturas, a partir de los 15 días. Con relación al contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante de la bebida se observa que la capacidad

antioxidante se mantuvo constante, pero después del día 15, hubo una disminución en los compuestos fenólicos para todas las temperaturas de almacenamiento. La reducción en compuestos fenólicos se debe a su degradación, factores como la temperatura de almacenamiento, junto con largos periodos de almacenamiento y cambios en el pH afectan la estabilidad de dichos compuestos (Sanchez Chavez & Cortez Arredondo, 2014; Sepúlveda & Zapata, 2019).

Gráfico 3-6: Cambios en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales durante el almacenamiento



Respecto a la calidad microbiológica del néctar, en la gráfica 3- se encuentra el cambio de microorganismos mesófilos, hongos y levaduras durante el almacenamiento a diferentes temperaturas; para coliformes, *salmonella* y *E. coli* no se realizaron en esta fase, ya que en el tiempo cero no se evidenció crecimiento. En todas las temperaturas hubo crecimiento de mesófilos y hongos y levaduras.

Gráfico 3-7: Crecimiento microbiológico en la bebida durante su almacenamiento

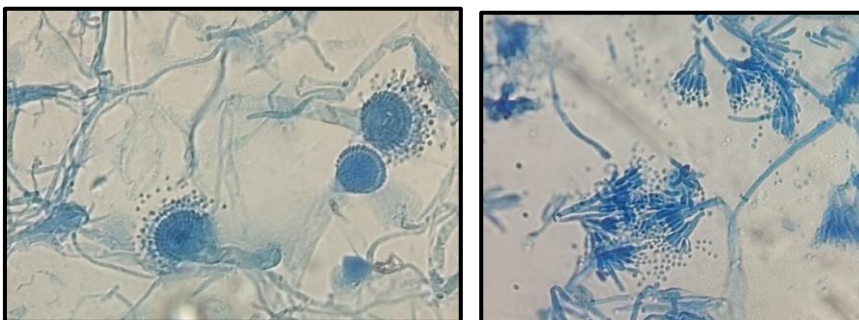
En cuanto a microorganismos mesófilos (quienes su temperatura óptima está entre 20-45 °C) tuvo mayor crecimiento en la temperatura de 30 °C, y si bien hay crecimiento en las otras dos temperaturas, es mucho menor respecto al presentado a los 30 °C; para el caso de la temperatura de refrigeración (10 °C) el crecimiento fue principalmente de levaduras psicrófilas, las cuales pueden crecer en temperaturas de hasta 5 °C. En el caso de mohos y levaduras el crecimiento es mucho mayor al de mesófilos, en este caso la temperatura de 20 °C tuvo el mayor crecimiento, seguido por el de 20 °C.

Todos estos microorganismos son los causantes de deterioro en la bebida, cambiando sus características físicas y organolépticas, aportando sabores y características a fermento en las bebidas (Ruiz Rodríguez et al., 2020), su crecimiento fue facilitado por el pH inicial de las bebidas (que es de 4) (Roman Marcillo & Zambrano Velásquez, 2013). El crecimiento de estos microorganismos se ve reflejado en el cambio del pH, el cual disminuyó drásticamente a partir del día 15; día en el cual también se ve el crecimiento de mesófilos (gráfica 3-4).

Se caracterizaron dos cepas que durante el estudio microbiológico tuvieron presencia constante (ver ilustración 3-1), y se encontró que son hongos: *Penicillium* y *Aspergillus*,

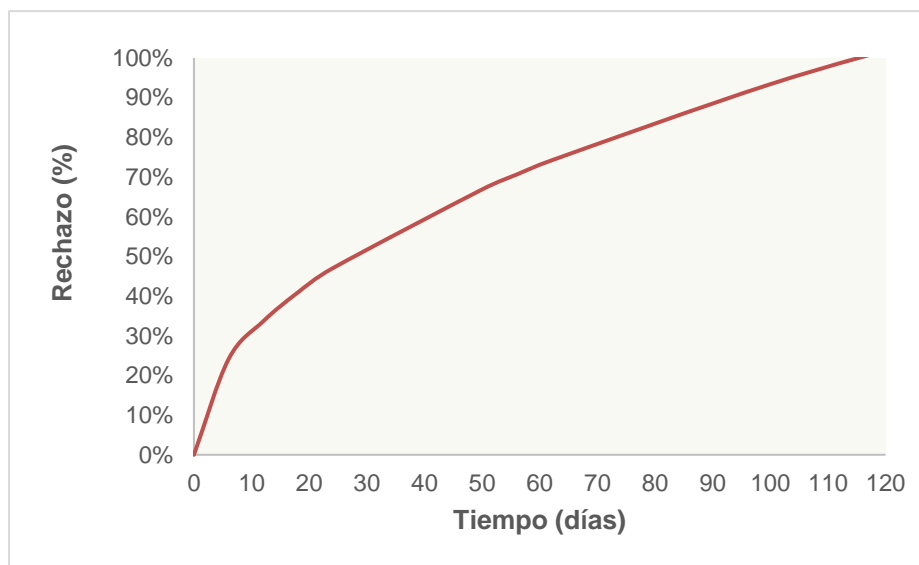
microorganismos presentes en frutas y verduras, así como en el ambiente (debido a la generación de esporas).

Ilustración 3-1: *Aspergillus* (izquierda) y *Penicillium* (derecha), cepas presentes durante el análisis microbiológico



Tomado de: elaboración propia.

Gráfico 3-8: Porcentaje de rechazo por parte de los consumidores a lo largo del tiempo



Finalmente, en el gráfico 3-8 se encuentra la curva normalizada del porcentaje de rechazo de la bebida a lo largo del tiempo en anaquel (temperatura de 20°C). En el anexo C se consignó el desarrollo matemático. El concepto de rechazo hace referencia a la percepción de un cambio sensorial de la bebida por parte del panel evaluador. Se observa que el 50%

de los consumidores rechazaron el producto a los 28 días de almacenamiento, y el 20% de los consumidores lo rechazaron a los 7 días. Valor menor a estudios similares, en los cuales el porcentaje de rechazo para una bebida a base de remolacha es de 6800 días en temperatura de refrigeración, y de 40 días a temperatura de 14 °C (Sanchez Chavez & Cortez Arredondo, 2014); y en zumos de frutas el 30% de los consumidores lo rechazaron a los 166 días (Porcar Muñoz, 2016). El corto tiempo es debido a la falta de adición de conservantes y antimicrobianos en la bebida, además de no estar almacenadas en condiciones óptimas, ya que este tipo de bebidas deben ser almacenadas en refrigeración (temperaturas menores a 13 °C), y la temperatura de estudio fue de 20 °C. Sin embargo, al ver la media de las calificaciones dadas por los evaluadores (ver tabla 3-9), quienes eran panelistas no entrenados, o bien no percibieron cambio alguno entre las muestras o simplemente para ellos no fue causante de castigo el cambio en su percepción.

Tabla 3-7: Media del atributo "el producto en general" evaluado en la prueba de supervivencia

| | Día 0 | Día 8 | Día 15 | Día 22 |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Media | 4,42 ^a | 3,52 ^b | 3,71 ^b | 3,71 ^b |

¹Superíndices de diferente valor indica diferencias significativas entre ellos.

3.3 Conclusiones

De las tres bebidas evaluadas por análisis sensorial los panelistas seleccionaron como aquella de mayor aceptación la bebida número 1, la cual tiene la menor concentración de extracto de capuchina (1000 mg/kg), siendo seleccionada principalmente por su sabor y consistencia (textura en boca). Dicha bebida, por sus características físicas y químicas, se clasifica como néctar de frutas y verduras acorde a la Resolución 3929 de 2013: pH 4,1 – Acidez 0,31% expresado en ácido cítrico, sólidos solubles 8,4 (el cual se encuentra por debajo del límite inferior, sin embargo, es aceptable debido a la no adición de azúcar). Además de presentar actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos mayor a la aportada por el extracto (extra que proviene de las frutas y verduras utilizadas como materia prima). Si bien es una bebida inocua, esta es estable durante su almacenamiento por un tiempo de 15 días, a temperatura de 10 °C, debido principalmente a la calidad microbiológica de la misma.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

La extracción con solventes es un método convencional ampliamente utilizado en la industria debido a su facilidad de implementación y uso, sin embargo, existen numerosas variables para tener en cuenta. Dentro de ellas están la relación soluto – solvente, en la cual, a mayores proporciones, mayor extracción de compuestos fenólicos, y otros, que confieren actividad antioxidante.

La incorporación del extracto de hojas de capuchina en un néctar de frutas y verduras afecta su percepción sensorial, más específicamente en atributos como sabor y consistencia, de las bebidas evaluadas en este estudio, la de mayor aceptación fue aquella que contiene extracto a una concentración de 1000 mg/kg.

La bebida es un néctar de frutas y verduras sin adición de azúcar, estable durante su almacenamiento en características físicas y sensoriales, mientras que su comportamiento microbiológico, más específicamente crecimiento de hongos y mesófilos a temperaturas mayores a la de refrigeración, es estable hasta los 7 días de almacenamiento.

4.2 Recomendaciones

Se recomienda estudiar el efecto de la temperatura en el rendimiento de la extracción, así como la optimización de la relación soluto-solvente minimizando el costo e impacto ambiental.

Respecto a la inclusión del extracto en la bebida, se recomienda estudiar la encapsulación de este para facilitar su aplicación en la industria de alimentos, y así aumentar la concentración del extracto en la bebida desarrollada.

Por último, se recomienda la adición de conservantes que permitan la estabilidad de la bebida a temperaturas mayores de refrigeración.

Bibliografía

- Alonso, J., & Desmarchelier, C. J. (2015). Capuchina. In *Plantas medicinales autóctonas de la Argentina: bases científicas para su aplicación en atención primaria de la salud* (1 Ed, pp. 133–136).
- Anisa Aris, N. I., & Morad, N. A. (2014). Effect of extraction time on degradation of bioactive compounds (*Zingiber officinale roscoe*). *Jurnal Teknologi (Sciences and Engineering)*, 67(4), 63–66. <https://doi.org/10.11113/jt.v67.2800>
- Anzaldúa-Morales, A. (1994). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. Acribia S.A.
- AOAC International. (1942). *AOAC 942.15, Acidity (Titratable) of fruit products*.
- AOAC International. (1980). *AOAC 932.12 Solids (Soluble) in Fruits and Fruit Products. Refractometer*.
- AOAC International. (1982). *AOAC 981.12, pH of Acidified Foods. pH Meter*.
- Ares, A. M., Nozal, M. J., & Bernal, J. (2013). Extraction, chemical characterization and biological activity determination of broccoli health promoting compounds. *Journal of Chromatography A*, 1313, 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.051>
- Brondani, J. C., Cuelho, C. H. F., Marangoni, L. D., de Lima, R., Guex, C. G., Bonilha, I. de F., & Manfron, M. P. (2016). Traditional usages, botany, phytochemistry, biological activity and toxicology of *Tropaeolum majus* L. - A review. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 15(4), 264–273.
- Cabrera, A., & Mach, N. (2012). Flavonoides como agentes quimiopreventivos y terapéuticos contra el cáncer de pulmón. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 16(4), 143–153. [https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70089-3](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70089-3)
- Campos, D., Chirinos, R., Barreto, O., Noratto, G., & Pedreschi, R. (2013). Optimized methodology for the simultaneous extraction of glucosinolates, phenolic compounds and antioxidant capacity from maca (*Lepidium meyenii*). *Industrial Crops and Products*, 49, 747–754. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.021>
- Celant, V. M., Braga, G. C., Vorpapel, J. A., & Busch Salibe, A. (2016). Phenolic composition and antioxidant capacity of aqueous and ethanolic extracts of blackberries. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 38(2), 1–8. <https://doi.org/10.1590/0100-29452016411>
- Clarke, D. B. (2010). Glucosinolates, structures and analysis in food. *Analytical Methods*, 2(4), 310–325. <https://doi.org/10.1039/b9ay00280d>
- Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petrucci, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional Beverages: The Emerging Side of Functional Foods: Commercial Trends, Research, and Health Implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1192–1206. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>

- Daud, N. M., Putra, N. R., Jamaludin, R., Md Norodin, N. S., Sarkawi, N. S., Hamzah, M. H. S., Mohd Nasir, H., Abang Zaidel, D. N., Che Yunus, M. A., & Md Salleh, L. (2022). Valorisation of plant seed as natural bioactive compounds by various extraction methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119(November 2021), 201–214. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.010>
- Demasi, S., Caser, M., Donno, D., Enri, S. R., Lonati, M., & Scariot, V. (2021). Exploring wild edible flowers as a source of bioactive compounds: New perspectives in horticulture. *Folia Horticulturae*, 33(1), 27–48. <https://doi.org/10.2478/fhort-2021-0004>
- Deng, Q., Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Lebovka, N., & Barba, F. J. (2014). The Effects of Conventional and Non-conventional Processing on Glucosinolates and Its Derived Forms , Isothiocyanates : Extraction , Degradation , and Applications. *Food Eng Rev.* <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9104-9>
- Dhawale, P. V., Vineeth, S. K., Gadhawe, R. V., Fatima M. J., J., Supekar, M. V., Thakur, V. K., & Raghavan, P. (2022). Tannin as a renewable raw material for adhesive applications: a review. *Materials Advances, Cmc.* <https://doi.org/10.1039/d1ma00841b>
- Drago, M., Lopéz, M., & Sainz, T. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4), 58–68.
- Espinosa Manfungás, J. (2007). Evaluación sensorial de alimentos. In R. Torricella Morales (Ed.), *Manual de prácticas de Ingeniería de Alimentos*.
- Galanakis, C. M. (2020). Recovery techniques, stability, and applications of glucosinolates. In *Glucosinolates: Properties, Recovery, and Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816493-8.00008-1>
- Gangopadhyay, A., Chakraborty, S., Jash, S. K., & Gorai, D. (2022). Cytotoxicity of natural flavones and flavonols against different cancer cells. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 19(5), 1547–1573. <https://doi.org/10.1007/s13738-021-02406-6>
- Garz, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 13(3), 27–36.
- Hasler, C. M. (1998). Functional Foods: Their Role in Disease Prevention and Health Promotion. *Food Technology*, 52(2), 57–62. <http://www.nutriwatch.org/04Foods/ff.html>
- Hegnauer, R. (1973). Tropaeolaceae. *Chemotaxonomie Der Pflanzen*, 82(1931), 538–539.
- Hernández-Rodríguez, S., Quiroz-Reyes, C. N., Ramírez-Ortiz, M. E., Ronquillo-de Jesús, E., & Aguilar-Méndez, M. Á. (2020). Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de *Justicia spicigera* Schltdl. mediante la metodología de superficie de respuesta. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–7.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246>

- Hough, G., & Fiszman, S. (2005). *Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos* (Programa CYTED (ed.); primera).
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2007). *NTC 4574 - Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para la detección de Salmonella spp.*
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2018). *NTC-4458. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de coliformes o Escherichia coli o ambos. Técnica de recuento de colonias utilizando medios fluorogénicos o cromogénicos.*
- International Organization for Standardization. (2008). *ISO 21527-1:2008: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95.*
- Jakubczyk, K., Janda, K., Watychowicz, K., Łukasiak, J., & Wolska, J. (2018). Garden nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) - a source of mineral elements and bioactive compounds. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 69(2), 119–126.
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119(November 2021), 579–591. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91(2), 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.10.008>
- Kozłowska, M., Gruczynska, E., Scibisz, I., & Rudzińska, M. (2016). Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. *Food Chemistry*, 213, 450–456.
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Táborský, J., Kotíková, Z., Pivec, V., Stralková, R., Vollmannová, A., Bojnanská, T., & Dedina, M. (2015). Evaluation of oil content and fatty acid composition in the seed of grapevine varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 620–625.
- Lara-Cortés, E., Osorio-Díaz, P., Jiménez-Aparicio, A., & Bautista-Baños, S. (2013). Contenido nutricional, propiedades funcionales y conservación de flores comestibles: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(3), 197–208. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000300002&lang=es
- Liu, Y., & Li, S. M. (2021). Extraction optimization and antioxidant activity of phyllanthus urinaria polysaccharides. *Food Science and Technology*, 41(1), 91–97. <https://doi.org/10.1590/fst.11320>

- Lykkesfeldt, J., & Møller, B. L. (1993). Synthesis of benzylglucosinolate in *Tropaeolum majus* L.: Isothiocyanates as potent enzyme inhibitors. *Plant Physiology*, 102(2), 609–613. <https://doi.org/10.1104/pp.102.2.609>
- Machucha A, L. M. (2014). *DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE JARABE DE YACÓN (Smallanthus sonchifolius) APLICADO COMO EDULCORANTE EN EL YOGURT DE ZANAHORIA (Daucus carota) PARA SU ACEPTABILIDAD ORGANOLÉPTICA.*
- Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho Vidal, M., & José Martínez Lahuerta, J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad Dietética*, 12(2), 64–68. [https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)
- Ministerio de salud y protección social. (2013). *Resolucion 3929 de 2013.*
- Navarro-González, I., González-Barrio, R., García-Valverde, V., Bautista-Ortín, A. B., & Periago, M. J. (2015). Nutritional composition and antioxidant capacity in edible flowers: Characterisation of phenolic compounds by HPLC-DAD-ESI/MSn. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 805–822. <https://doi.org/10.3390/ijms16010805>
- Pappou, S., Myrto Dardavila, M., Savvidou, M. G., Vasiliki, L., Magoulas, K., & Voutsas, E. (2022). Extraction of Bioactive Compounds from *Ulva lactuca*. *Applied Sciences*, 12. <https://doi.org/10.3390/app12042117>
- Pathak, M. (2014). Diabetes Mellitus Type 2 and Functional Foods of Plant Origin. *Recent Patents on Biotechnology*, 8(2), 160–164. <https://doi.org/10.2174/1872208309666140904120633>
- Pereira, M. G., Maciel, G. M., Haminiuk, C. W. I., Bach, F., Hamerski, F., de Paula Scheer, A., & Corazza, M. L. (2019). Effect of extraction process on composition, antioxidant and antibacterial activity of oil from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Var. *Flavicarpa*) seeds. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2611–2625.
- Porcar Muñoz, M. (2016). *Estudios de vida útil de zumos de fruta envasados.* Universitat Politècnica de Valencia.
- Quan, W., Tao, Y., Lu, M., Yuan, B., Chen, J., Zeng, M., Qin, F., Guo, F., & He, Z. (2018). Stability of the phenolic compounds and antioxidant capacity of five fruit (apple, orange, grape, pomelo and kiwi) juices during in vitro-simulated gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 1131–1139. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13682>
- Renard, C. M. G. C. (2018). Extraction of bioactives from fruit and vegetables: State of the art and perspectives. *LWT-Food Science and Technology*, 93, 390–395. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.063>
- Roman Marcillo, D. J., & Zambrano Velásquez, R. B. (2013). *ESTIMACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LA HUMITA PRECOCIDA POR MÉTODOS FÍSICO Y QUÍMICO MEDIANTE EL FACTOR DE ACELERACIÓN Q10.* Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

- Ruiz Rodríguez, L. G., Mendoza, L. M., Van Nieuwenhove, C. P., Pescuma, M., & Mozzi, F. B. (2020). Fermentación de jugos y bebidas a base de frutas. *Alimentos Fermentados: Microbiología, Nutrición, Salud y Cultura*, 1, 273–306. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/120385>
- Sanchez Chavez, W., & Cortez Arredondo, J. F. (2014). *Determinación De La Vida Útil De La Bebida a Base De Jugo De Remolacha Y Miel De Abeja Elaborada Por La Empresa Vida Saludable Del Perú E.I.R.L.* Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Santini, A., Romano, R., Meca, G., Raiola, A., & Ritieni, A. (2014). Antioxidant Activity and Quality of Apple Juices and Puree After in vitro Digestion. *Journal of Food Research*, 3(4), 41. <https://doi.org/10.5539/jfr.v3n4p41>
- Sepúlveda, C. T., & Zapata, J. E. (2019). Efecto de la Temperatura, el pH y el Contenido en Sólidos sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante del Extracto de Bixa orellana L. *Información Tecnológica*, 30(5), 57–66. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642019000500057>
- Sharma, K., Kumar, M., Waghmare, R., Suhag, R., Prakash, O., Lorenzo, M., Prakash, S., Rais, N., Sampathrajan, V., Thappa, C., Anitha, T., Sayed, A. A. S., Abdelwahab, B. A., Senapathy, M., Pandiselvam, R., Dey, A., Dhumal, S., Amarowicz, R., & Kennedy, J. F. (2022). Moringa (*Moringa oleifera* Lam .) polysaccharides : Extraction , characterization , bioactivities , and industrial application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 763–778.
- Strack, D., & Wray, V. (1994). The Anthocyanins. In *The flavonoides. Advances in research since 1986*. CRC Press.
- Urango Marchena, L., Montoya Parra, G., Cuadros Quiroz, M., Henao, D., Zapata, P., López Mira, L., Castaño, E., Serna López, Á., Vanegas, C., Loaiza, M., & Gómez, B. (2009). Bioactive compounds on food and health-promoting properties. *Perspectivas En Nutrición Humana*, 11(1), 27–38.
- Yang, H., & Li, Q. (2022). Optimization of extraction process and the antioxidant activity spectrum–effect relationship of *Angelica dahurica*. *Biomedical Chromatography*, 36(4), e5322. <https://doi.org/10.1002/bmc.5322>
- Zeng, Y., Du, J., Pu, X., Yang, J., Yang, T., & Yang, S. (2015). Coevolution between human's anticancer activities and functional foods from crop origin center in the world. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6).
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. *Natural Product Communications*, 17(1). <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>

A. Anexo: Formato utilizado para la evaluación sensorial capítulo 2

EVALUACIÓN DE UN NÉCTAR DE FRUTAS Maestría en Ciencia y Tecnología De Alimentos - Facultad de Ciencias Agrarias

INFORMACIÓN DEL ESTUDIO: Se pretende determinar cuál bebida tipo néctar tiene una mayor preferencia por parte de consumidores en diferentes atributos como apariencia, olor, sabor y consistencia.

PROCEDIMIENTO: El estudio consta de dos partes: 1. Evaluación individual de cada una de las muestras, 2. Clasificación de las muestras según su preferencia. Explicaremos cada una de ellas.

1. Evaluación individual: A continuación, encontrará un formulario donde evaluará cada una de las muestras. Se le entregarán tres muestras de 20 ml cada una, y agua como pasante; siéntase en libertad de evaluarlas en el orden que prefiera, no pase a la siguiente sin calificarla completamente. Antes de continuar con la siguiente muestra tome un poco de agua limpiando la cavidad bucal.
2. Clasificación según su preferencia: Escriba el código de las muestras de forma descendente según su preferencia (mayor a menor preferencia) en las casillas asignadas, puede probar nuevamente las muestras para establecer su preferencia.

¡Muchas gracias!

FORMATO PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE NÉCTAR DE FRUTAS

Fecha: _____

Nombre: _____

PARTE 1. PRUEBAS HEDÓNICAS PARA ANÁLISIS DE BEBIDAS TIPO NÉCTAR**PRUEBA HEDÓNICA PARA ANÁLISIS DE BEBIDAS TIPO NÉCTAR**

CÓDIGO MUESTRA: _____

Marque con una X la frase que esté más acorde a su criterio, para cada atributo

| ESCALA | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | OBSERVACIONES |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---|--------------------------|---------------------------|---------------|
| | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Aroma | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Sabor | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Consistencia | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| El producto en general | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |

PRUEBA HEDÓNICA PARA ANÁLISIS DE BEBIDAS TIPO NÉCTAR

CÓDIGO MUESTRA: _____

Marque con una X la frase que esté más acorde a su criterio, para cada atributo

| ESCALA | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | OBSERVACIONES |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---|--------------------------|---------------------------|---------------|
| | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Aroma | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Sabor | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Consistencia | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| El producto en general | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |

PRUEBA HEDÓNICA PARA ANÁLISIS DE BEBIDAS TIPO NÉCTAR

CÓDIGO MUESTRA: _____

Marque con una X la frase que esté más acorde a su criterio, para cada atributo

| ESCALA | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | OBSERVACIONES |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---|--------------------------|---------------------------|---------------|
| | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Aroma | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Sabor | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| Consistencia | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |
| El producto en general | <i>Me disgusta mucho</i> | <i>Me disgusta poco</i> | <i>Ni me gusta ni me disgusta</i> | <i>Me gusta poco</i> | <i>Me gusta mucho</i> | |

PARTE 2. PRUEBA DE PREFERENCIA

2. PRUEBA DE ORDENAMIENTO

Según su preferencia, ubique en orden descendente el código de las muestras

Escriba el código

(La que más me gusta): _____

(La que le sigue en gusto): _____

(La que menos me gusta): _____

B. Anexo: Formato para evaluación sensorial de cambios en el tiempo

FORMATO PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL DE NÉCTAR DE FRUTAS

Maestría en Ciencia y Tecnología De Alimentos - Facultad de Ciencias Agrarias

Nombre: _____

Se le entregarán 5 muestras de bebidas tipo néctar; pruebe cada muestra por separado. Luego de probarla por favor marque con una X el recuadro del frente que contiene la frase que considere la más adecuada según su apreciación. Puede tomar agua entre muestras para limpiar su paladar.

¡Muchas gracias!

Código de la muestra: _____

Marque la casilla con una X

| | |
|----------------------------|---|
| Me gusta mucho | 5 |
| Me gusta poco | 4 |
| Ni me gusta ni me disgusta | 3 |
| Me disgusta poco | 2 |
| Me disgusta mucho | 1 |

¿Cuál fue el motivo por el cual rechaza la muestra?
(responda solamente si calificó por debajo de Ni me gusta ni me disgusta)

¿Lo compraría? Si: _____ No: _____

Código de la muestra: _____

Marque la casilla con una X

| | |
|----------------------------|---|
| Me gusta mucho | 5 |
| Me gusta poco | 4 |
| Ni me gusta ni me disgusta | 3 |
| Me disgusta poco | 2 |
| Me disgusta mucho | 1 |

¿Cuál fue el motivo por el cual rechaza la muestra?
(responda solamente si calificó por debajo de Ni me gusta ni me disgusta)

¿Lo compraría? Si: _____ No: _____

Código de la muestra: _____

Marque la casilla con una X

| | |
|----------------------------|---|
| Me gusta mucho | 5 |
| Me gusta poco | 4 |
| Ni me gusta ni me disgusta | 3 |
| Me disgusta poco | 2 |
| Me disgusta mucho | 1 |

¿Cuál fue el motivo por el cual rechaza la muestra?
(responda solamente si calificó por debajo de Ni me gusta ni me disgusta)

¿Lo compraría? Si: _____ No: _____

Código de la muestra: _____

Marque la casilla con una X

| | |
|----------------------------|---|
| Me gusta mucho | 5 |
| Me gusta poco | 4 |
| Ni me gusta ni me disgusta | 3 |
| Me disgusta poco | 2 |
| Me disgusta mucho | 1 |

¿Cuál fue el motivo por el cual rechaza la muestra?
(responda solamente si calificó por debajo de Ni me gusta ni me disgusta)

¿Lo compraría? Si: _____ No: _____

Código de la muestra: _____

Marque la casilla con una X

| | |
|----------------------------|---|
| Me gusta mucho | 5 |
| Me gusta poco | 4 |
| Ni me gusta ni me disgusta | 3 |
| Me disgusta poco | 2 |
| Me disgusta mucho | 1 |

¿Cuál fue el motivo por el cual rechaza la muestra?
(responda solamente si calificó por debajo de Ni me gusta ni me disgusta)

¿Lo compraría? Si: _____ No: _____

C. Anexo: Cálculos del porcentaje de rechazo por consumidores de la bebida almacenada a 20 °C

En la siguiente tabla se observan los datos obtenidos de la prueba de supervivencia para los 22 días evaluados, donde 0 indica rechazo y 1 aceptación. Previamente fueron descartados aquellos evaluadores que rechazaron la bebida en el día cero, ya que su calificación señala su disgusto por el producto en sí y no propiamente por el estudio.

| Evaluador No. | Día | | | |
|---------------|-----|---|----|----|
| | 0 | 8 | 15 | 22 |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 3 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 5 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 7 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 8 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 9 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 10 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 11 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 12 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 16 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 17 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 18 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 19 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 20 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 21 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 22 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 23 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 24 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 25 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 26 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 28 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 29 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 30 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 31 | 1 | 0 | 1 | 1 |

Con la tabla anterior se determina el porcentaje de rechazo con la siguiente ecuación:

$$\%rechazo = \frac{n - \sum \text{aceptaciones}}{n} \quad \text{donde } n = \text{no. consumidores} \quad (1)$$

Los porcentajes de rechazo para cada día se encuentra a continuación:

| Tiempo (días) | 0 | 8 | 15 | 22 |
|------------------|----|-----|-----|-----|
| No. aceptaciones | 31 | 19 | 23 | 16 |
| % rechazo | 0% | 39% | 26% | 48% |

Con los datos se grafica en escalas logarítmicas y se realiza una regresión lineal, obteniendo así la ecuación normalizada

