



BEBIDA ANTIOXIDANTE A BASE DE ARÁNDANO AZUL, UVA ROJA Y FLOR DE JAMAICA

PhD. Sandra Ronquillo Castro
Mgts. Stuard Montoya Vizúete
MSc. Glenda Sarmiento Tomalá
Mgts. Zoraida Burbano Gómez
Q.F. Sandra Vizúete Proaño
Md. Leonardo Vargas Prías



**BEBIDA ANTIOXIDANTE A BASE DE ARÁNDANO AZUL, UVA
ROJA Y FLOR DE JAMAICA**

PhD. Sandra Ronquillo Castro

Mgts. Stuard Montoya Vizúete

MSc. Glenda Sarmiento Tomalá

Mgts. Zoraida Burbano Gómez

Q.F. Sandra Vizúete Proaño

Md. Leonardo Vargas Prias

Título: BEBIDA ANTIOXIDANTE A BASE DE ARÁNDANO AZUL, UVA ROJA Y FLOR DE JAMAICA

AUTORES:

PhD. Sandra Ronquillo Castro
Mgts. Stuard Montoya Vizuite
MSc. Glenda Sarmiento Tomalá
Mgts. Zoraida Burbano Gómez
Q.F. Sandra Vizuite Proaño
Md. Leonardo Vargas Prias

REVISIÓN TÉCNICA.

Q.F. Pamela Katuska Márquez Daza
MSc. Sandra Lissette Recalde Luna

DISEÑO Y MAQUETACIÓN:

Ronald Fuertes

© de los textos: los autores

© de la presente edición: CEO Editorial

PRIMERA EDICIÓN: 15 DE FEBRERO DE 2024

ISBN: 978-9942-7196-1-4

Publicado por acuerdo con los autores

Capacitación y Estrategia Online

CEO Editorial

Guayaquil – Ecuador

Fecha: 18-01-2024 Cámara Ecuatoriana de Libro

NOTA EDITORIAL: Las opiniones y contenidos publicados
esta obra es de responsabilidad exclusiva de sus autores.

ÍNDICE DE CONTENIDO

BEBIDA ANTIOXIDANTE A BASE DE ARÁNDANO AZUL, UVA ROJA Y FLOR DE JAMAICA	1
Introducción.....	8
1.1 Planteamiento del problema	9
1.1.1 <i>Formulación del problema</i>	10
1.1.2 <i>Hipótesis general</i>	10
1.2 Justificación del proyecto	10
1.3 Objetivos	12
Marco teórico.....	13
2.1 Importancia funcional de compuestos bioactivos de alimentos con beneficios potenciales para la salud.....	13
2.1.1 <i>Compuestos Fenólicos</i>	13
2.1.2 <i>Ácidos Fenólicos</i>	14
2.1.3 <i>Flavonoides</i>	14
2.1.4 <i>Taninos</i>	16
2.1.5 <i>Carotenoides</i>	16
2.1.6 <i>Actividades Antioxidantes</i>	16
2.2 Arándanos Azules.....	18
2.2.1 <i>Actividad biológica</i>	19
2.2.2 <i>Actividad antioxidante</i>	20
2.3 Uva de mesa Roja – Red Globe.....	21
2.3.1 <i>Actividad Antioxidante</i>	22
2.4 Flor de Jamaica.....	23
2.4.1 <i>Actividad antioxidante de la Flor de Jamaica</i>	24
2.5 Efecto del proceso de pasteurización en la calidad de jugos a bases de frutas y flores	24

2.6 Criterios de seguridad alimentaria en la elaboración de bebidas a base de flores y frutas.....	25
Metodología.....	29
3.1 Enfoque de la Investigación.....	29
3.2 Modalidad y tipo de investigación.....	30
3.3 Operacionalización de las variables.....	31
3.3.1 <i>Variable Independiente:</i>	32
3.3.2 <i>Variable Dependiente:</i>	32
3.4 Población y Muestra	32
3.5 Plan de recolección de información	32
3.5.1 <i>Secuencia de análisis para la caracterización farmacognóstica, fitoquímica y fisicoquímica de Vaccinium shei Reade, Vitis vinífera e Hibiscus sabdariffa.</i>	32
3.5.2 <i>Secuencia de análisis para evaluación de la calidad de la bebida antioxidante.</i>	35
3.5.3 <i>Materiales y métodos para los análisis que expresa la Tabla 9</i>	36
3.5.3.1 <i>Materias primas</i>	37
3.5.3.2 <i>Preparación de infusión de Flor de Jamaica deshidratada</i>	37
3.5.3.3 <i>Preparación de la bebida</i>	37
3.5.3.4 <i>Preparación de Flor de Jamaica deshidratada</i>	38
3.5.3.5 <i>Preparación de las frutas</i>	38
3.5.3.6 <i>Preparación de la bebida</i>	38
3.5.3.7 <i>Extracción y análisis de actividad antioxidante a materias primas y producto terminado</i>	38
<i>Método de inhibición de radicales libres por DPPH</i>	39
<i>Evaluación sensorial</i>	39
<i>Análisis en producto terminado</i>	41
<i>Análisis de Proteína</i>	41
<i>Temperatura</i>	42

<i>Análisis de Grasas Totales</i>	42
<i>Análisis de colesterol</i>	43
<i>Análisis de Carbohidratos Totales</i>	44
<i>Análisis de Azúcares</i>	45
<i>Análisis del Cloruro de Sodio</i>	45
<i>Análisis de Compuestos Fenólicos</i>	46
<i>Análisis de Flavonoides Totales</i>	46
<i>Análisis de Saponinas</i>	47
<i>Análisis de Metales Pesados</i>	47
<i>Análisis de Aerobios Totales</i>	48
<i>Análisis de Hongos y Levaduras</i>	49
<i>Análisis de Coliformes Totales y Fecales</i>	49
<i>3.5.4 Plan de Procesamiento de Información</i>	50
<i>3.5.5 Análisis Estadístico</i>	51
<i>4 Análisis e interpretación de los resultados</i>	52
<i>4.1 Diseño de la bebida</i>	52
<i>4.1.1 Preparación de deshidratado de Flor de Jamaica</i>	52
<i>4.1.2 Preparación de la Bebida</i>	53
<i>4.1.3 Pasteurizado y Envasado</i>	54
<i>4.2 Caracterización fitoquímica</i>	55
<i>4.3 Descripción sensorial</i>	60
<i>4.3.1 Análisis Sensorial</i>	60
<i>4.4 Análisis del producto terminado</i>	65
<i>4.4.1 Análisis Físicoquímicos y Bromatológicos</i>	65
<i>4.4.2 Microbiológico</i>	65
<i>4.4.3 Contaminantes</i>	65
<i>4.4.4 Análisis de la actividad antioxidante de las formulaciones de infusión</i>	66

4.5 Costos de producción.....	69
4.5.1 Empaquetado y etiquetado.....	69
4.5.2 Análisis de costos de materia prima	70
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	71
Conclusiones.....	71
Recomendaciones	72
BIBLIOGRAFÍA	72

PRÓLOGO

Las especies de *Vaccinium shei Reade*, *Vitis vinífera* e *Hibiscus sabdariffa* demostraron ser fuentes de compuestos bioactivos en la elaboración de la bebida, la cual fue diseñada en formulación de 7.5 g/100 ml de Arándano Azul, 5.0 g/100ml de Uva Roja y usando como base acuosa una infusión de Flor de Jamaica de 2.0 g/100 ml, todas de origen ecuatoriano, siendo estas proporciones correspondientes a la formulación F3, la cual presento las mejores características tanto sensoriales y junto con la F1 sin diferencia significativa entre estas dos formulaciones evaluadas ($p>0.05$) para el parámetro actividad antioxidante, escogiendo a F3 debido a su también aceptación sensorial. Se logró determinar la presencia de varios componentes bioactivos presentes en la bebida como Compuestos Fenólicos (555.78 mg/L), Taninos (2475.15 mg/L), Flavonoides (64.26 mg/L) y Saponinas (0.4 %), además mediante screening Cromatográfico (GC-MS) se pudo encontrar la presencia de otros componentes de interés como Ácido Ascórbico (Vitamina C), Digitoxina y Tumerona. Se comprobó que la bebida cumple con los requisitos que se encuentran en la normativa NTE INEN 2337:2008, a su vez todas las formulaciones presentaron actividad antioxidante in vitro mediante inhibición de 2,2difetil-1-picrilhidrazilo (DPPH) siendo el valor de la formulación escogida F3, IC50. 1997.86 mg/ml con respecto a Acido Gálico.

Introducción

Existe un creciente interés por la elaboración de alimentos con nuevos valores añadidos y bebidas con propiedades promotoras de la salud como jugos y bebidas no alcohólicas fortificadas con frutas, como fuente de nutrientes y bioactivos compuestos, de esta manera las bebidas son una importante apuesta del mercado funcional (Gironés-Vilaplana, 2014).

La elaboración de bebidas de frutas que contengan compuestos bioactivos y biodisponibles, puede ser la base de nuevos alimentos funcionales capaces de prevenir diferentes tipos de enfermedades relacionadas a un estado fisiológico de estrés oxidativo (Gironés-Vilaplana, 2014).

Hoy en día el consumidor tiene mayor preocupación por su salud, y establece directamente su manera de alimentarse con su estado de salud. Entre los principales problemas destaca el alto consumo de bebidas con alto contenido de azúcar, como varios tipos de gaseosas y refrescos lo cual está relacionado un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes e hipertensión (Salar, Fernández, & GarcíaViguera, 2020).

El nuevo estilo de vida en el mundo ha reemplazado la ingesta de frutas y verduras por un alto consumo de comidas rápidas, gaseosas, golosinas, otras lo que se traduce en una alimentación cada vez más carente de vitaminas, macro y micronutrientes de mucho interés biológico. Existe evidencia de que varios tipos de frutas y verduras contienen propiedades nutricionales que previenen e incluso combaten varios tipos enfermedades, y que actualmente son muy poco utilizados en la industria alimentaria (Curo & Montenegro, 2018).

Existen en Ecuador diferentes tipos de nuevos cultivos de especies vegetales que podrían ser aprovechadas debido a su contenido de compuestos bioactivos para la elaboración de alimentos funcionales con propiedades fisicoquímicas y terapéuticas. Existen estudios que aseguran las propiedades antioxidantes del *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinifera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), sin embargo, aún no han sido utilizados como potenciales materias primas en la elaboración de alimentos funcionales como una bebida con poder antioxidante.

Este trabajo de investigación ha caracterizado las propiedades físicas, fisicoquímicas y antioxidantes de un alimento funcional a base de Arándano azul, Uva roja y Flor de Jamaica mediante la formulación de una bebida con propiedades antioxidantes y aceptación de los consumidores mediante ensayos sensoriales y cumpliendo la normativa nacional correspondiente.

1.1 Planteamiento del problema

Nuevas tendencias en alimentación indican un interés de los consumidores por alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a su salud, esto ha producido un interés especial en las ciencias de los alimentos correspondiente al estudio de “alimentos funcionales”. Este concepto no es del todo nuevo, ya que Hipócrates propuso hace casi 2500 años la frase "deja que la alimentación sea tu medicina y que la medicina sea tu alimentación" (Astiasarán & Martínez, 2000).

Entre las principales 10 causas de muerte en el mundo según reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2019 se encuentran la cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, cánceres de tráquea y bronquios, enfermedad de Alzheimer y Diabetes Mellitus. Todas relacionadas con el estrés oxidativo y los radicales libres que se producen en el cuerpo humano por diversos factores, entre ellos, una mala alimentación.

Hoy en día es común encontrar enfermedades relacionadas con problemas hepáticos, cardíacos, cáncer, enfermedades degenerativas, otras; teniendo relación directa con los radicales libres. Los compuestos antioxidantes son principalmente compuestos encontrados en alimentos de origen vegetal y su principal función es prevenir el daño a las moléculas biológicas en el organismo debido al estrés oxidativo.

En Ecuador la incidencia de desarrollar cáncer antes de los 75 años es de un 20% aproximadamente, según los Registros de Cáncer de Base Poblacional (RCBP). Debido al estilo vida, la alimentación inadecuada, el mayor sometimiento de estrés, entre otros factores, los radicales libres se hacen presente en mayor proporción en las poblaciones. Se evidencia que en Ecuador el 29,2% de la población presenta un consumo excesivo de carbohidratos, mientras que menos del 3% de la población presenta un adecuado consumo de fibra, por otro lado, el consumo promedio de frutas y verduras a nivel nacional es de 183 g/día, que corresponde a menos de la mitad de las recomendaciones de la OMS de 400g (Ministerio de Salud Pública, 2017).

Esta problemática conllevó a la elaboración de una bebida rica en antioxidantes a base del extracto de la Arándanos azules, Uva roja y Flor de Jamaica que contribuya de manera eficaz con el control y disminución de los efectos de estas enfermedades que amenazan con la salud de la población; contribuyendo a promover una cultura de alimentación sana y preventiva para un mejor vivir.

1.1.1 Formulación del problema

¿Se logrará conservar el potencial antioxidante de las materias primas de una bebida a base de *Vaccinium shei Reade*, *Vitis vinífera* e *Hibiscus sabdariffa*, luego del proceso de pasteurización del producto terminado?

1.1.2 Hipótesis general

La bebida elaborada a base de *Vaccinium shei Reade* (Arándano azul), *Vitis vinífera* (Uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano tendrá actividad antioxidante y será aceptada sensorialmente.

1.2 Justificación del proyecto

El consumo de bebidas no alcohólicas se ha ampliado y tiene cada vez más aceptación por parte de los consumidores, esto debido a que buscan más allá de una experiencia de carácter sensorial, algún tipo de beneficio para su salud y que les ayuden a prevenir enfermedades. Hemos visto como el consumo de bebidas como infusiones de café y varias hierbas aromáticas han llegado al mercado y se han posicionado con facilidad. Hoy en día existe alta demanda de productos naturales con aporte nutricional y compuestos bioactivos que permitan lograr un mejor estilo de vida.

Una infusión de café contiene componentes secundarios con efectos sobre la salud que compiten directamente con los de la cafeína, estos son los compuestos fenólicos, del grano crudo y otros generados en sus procesos de producción, destacando el ácido clorogénico y otros que le otorgan una alta capacidad antioxidante y también son responsables directos del sabor de esta infusión (King, 2021). Alimentos como el café, frutas, gramíneas y las verduras son alimentos con capacidad antioxidante, su consumo frecuente minimiza el estrés oxidativo (Loizzo et al., 2019).

Las frutas o jugos frescos y los ingredientes bioactivos extraídos de las cáscaras o semillas de frutas se han utilizado como medicina desde hace mucho tiempo debido al contenido

de antioxidantes (polifenoles, antocianinas, licopeno, resveratrol, betacaroteno, quercetina, naringina, nobiletina, ácido cafeico, ácido gálico, etc.) que confieren beneficios para la salud y el bienestar sobre el consumidor. Las frutas brindan beneficios para la salud debido a su contenido de compuestos bioactivos, vitaminas, minerales y fibra (Jaglan et al., 2022).

Los Arándanos son ampliamente cultivados y consumidos, ya que existe una demanda de mercado para alimentos ricos en metabolitos secundarios que ayudan en la prevención de enfermedades crónicas, sus metabolitos secundarios incluyen flavonoles (quercetina), ácidos fenólicos (cafeico, p-cumárico, ferúlico y clorogénico) y antocianinas, que se consideran nutraceuticos capaces de prevenir enfermedades como la diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas (Bernal-Gallardo et al., 2022).

Los compuestos fenólicos son una familia compleja y muy diversa de elementos bioactivos de las plantas, siendo uno de los más abundantes en las Uvas, estos son importantes para los rasgos de calidad de la fruta y vinificación, ya que contribuyen a una diversidad de características sensoriales, tales como color, sabor, aroma, textura, astringencia. Los compuestos fenólicos están presentes en la piel, semillas y pulpa, son ricas en fibra, contienen vitamina C, capacidad depurativa, antiinflamatoria y desintoxicante (Luzio et al., 2021).

La Flor de Jamaica es una especie vegetal originaria de África tropical, ha sido estudiada por contenido de compuestos antioxidantes, fenólicos, ácidos polifenólicos, flavonoides y antocianinas. Esto le confiere propiedades con efectos anticancerígenos, antiinflamatorios, antimicrobianos y diuréticos, otorgando acción protectora contra el daño celular y el estrés oxidativo (Cornejo & Párraga, 2021).

La elaboración de una bebida a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinifera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano, será una oportunidad para aprovechar la biodiversidad de nuevos cultivos en el Ecuador, y que no solamente sean consumidos como materias primas, sino que al aplicar tecnología alimentaria se puedan aprovechar y con ellas elaborar productos terminados novedosos que en este caso contengan actividad antioxidante y que con su consumo se obtengan beneficios para la salud.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General:

Desarrollar bebida con actividad antioxidante a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (Uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano.

1.3.2 Objetivos Específicos:

- Diseñar bebida con actividad antioxidante a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano.
- Caracterizar fitoquímicamente mediante screening Cromatográfico (GC-MS) la bebida a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica).
- Evaluar la calidad del producto de acuerdo con la Normativa NTE INEN 2337:2008.
- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* mediante inhibición de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de una bebida a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano.

Marco teórico

2.1 Importancia funcional de compuestos bioactivos de alimentos con beneficios potenciales para la salud.

Los alimentos funcionales son aquellos que contienen compuestos bioactivos y fisiológicamente activos, que brindan beneficios para la salud más allá de sus propiedades nutricionales elementales. Los constituyentes de dichos alimentos que son responsables de su funcionalidad se han denominado generalmente "compuestos bioactivos". Los compuestos bioactivos (BAC) se derivan de especies vegetales, animales u otras fuentes, teniendo la capacidad de interactuar con el organismo proporcionando beneficios en la salud humana y siendo de gran interés debido a sus diversas actividades biológicas y funcionales, tales como sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas, anticancerígenas, antivirales y antitumorales, protegiendo así al cuerpo humano de altos niveles de radicales libres (Banwo et al., 2021)

Los datos epidemiológicos muestran una relación positiva entre el bienestar humano y la ingesta de alimentos ricos en compuestos activos antioxidantes, como compuestos fenólicos que incluyen flavonoides, estilbenos, lignanos, taninos, carotenoides, etc., que pueden disminuir el riesgo de diversas enfermedades, entre ellas enfermedad de Alzheimer, cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, Diabetes y trastornos relacionados con la edad (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

2.1.1 *Compuestos Fenólicos*

Los compuestos fenólicos son los compuestos vegetales más extendidos derivados de los alimentos, se pueden clasificar en diferentes subgrupos según sus estructuras químicas, pero los grupos principales son los ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, carotenoides, estilbenos y lignanos con estructuras que van desde una molécula fenólica simple hasta un polímero complejo de alta masa molecular (Dıblan & Özkan, 2021; Mark et al., 2019).

Según su forma de aparición, los compuestos fenólicos se encuentran principalmente en las plantas como formas solubles o unidas; la mayoría de las formas solubles se producen en el retículo endoplásmico intracelular de las plantas y se acumulan en las hojas, frutos, tallos y raíces, mientras que las unidas se forman cuando los compuestos fenólicos solubles se transportan a la pared celular y se conjugan con macromoléculas de la pared

celular como celulosa y proteína a través de enlaces éster y glucosídicos (Shahidi & Ambigaipalan, 2015).

2.1.2 Ácidos Fenólicos

Los ácidos fenólicos existen como formas de ácidos libres solubles, conjugados esterificados solubles y unidos insolubles, con un ácido carboxílico funcional, que está unido covalentemente a los componentes estructurales de la pared celular. Las formas unidas de ácidos fenólicos forman enlaces éster con carbohidratos estructurales y enlaces éter con lignina. Los ácidos fenólicos naturales tienen dos marcos de carbono distintos, que existen únicamente como ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinámico, que se presentan en forma conjugada o libre (Lima et al., 2019).

La forma de ocurrencia más común de compuestos de ácido hidroxicinámico incluye ésteres de hidroxicarboxílico o glucosa, mientras que el ácido hidroxibenzoico se encuentra como glucósidos. Entre los ácidos hidroxibenzoicos se encuentran los ácidos gálicos, vanílico, protocatequico, p-hidroxibenzoico y salicílico, que son los más difundidos, mientras que los ácidos hidroxicinámicos son los ácidos p-cumárico, ferúlico, sinápico y cafeico, que son los más comunes. Los ácidos fenólicos libres y ligados se encuentran en los cereales, donde representan un porcentaje de hasta el 90% del total de compuestos fenólicos (Martín-Gómez et al., 2021).

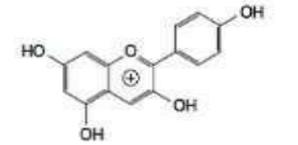
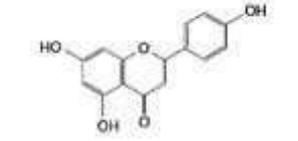
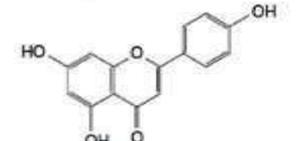
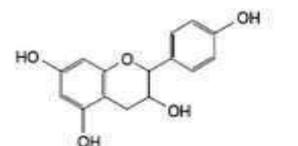
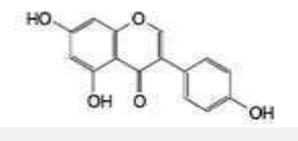
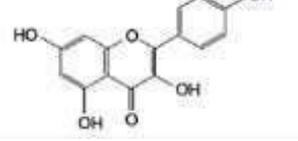
2.1.3 Flavonoides

Los flavonoides son la clase de polifenoles vegetales más popular y grande derivada de la dieta diaria basada en plantas. Los investigadores han prestado mucha atención a las implicaciones para la salud de los flavonoides derivados de los alimentos debido a la creciente evidencia de estudios epidemiológicos sobre sus abundantes beneficios para la salud. Existen seis subclases principales de flavonoides alimentarios, que incluyen:

1. Antocianidinas (cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina, petunidina y pelargonidina).
2. Flavanonas (hesperidina, eriodictiol y naringenina).
3. Flavonas (luteolina y apigenina).
4. Isoflavonas (daidzeína, genisteína y gliciteína).
5. Flavan-3-oles (epigallocatequina, epicatequina, catequina, galocatequina, epicatequina-3-galato, teaflavina 3'-galato, thearubiginas, theaflavina 3-3'-digalato y theaflavina) y Flavonoles (quercetina, kaempferol, miricetina e isorhamnetina).

Las principales fuentes alimenticias de flavonoides de los seres humanos son las frutas, las verduras, el té y el vino. No obstante, las investigaciones están creciendo con un enfoque en el efecto de los flavonoides en la salud humana, ya que un gran número posee la capacidad de eliminación de radicales libres, la capacidad antioxidante, la capacidad de prevenir algunas enfermedades potencialmente mortales como el cáncer y la actividad potencial contra algunas infecciones virales (Nahas, 2012). Las clases, fuentes y estructuras de flavonoides en varios grupos de alimentos se encuentran en la *Tabla 1*.

Tabla 1.
Clases, estructuras básicas y fuentes de flavonoides presentes en varios grupos de alimentos

<i>Flavonoides</i>	<i>Estructuras básicas</i>	<i>Fuentes de alimentos</i>
<i>Antocianidinas</i>		Frejoles (negro y rojo), frutos rojos, uvas, cerezas, pacano, nueces, maíz morado peruano, col morada, vino rojo, cebollas y sorgo.
<i>Flavononas</i>		Frutas cítricas y sus jugos.
<i>Flavonas</i>		Enebro, radicchio, sorgo, pimientos, menta, perejil seco, orégano, cerraja, alcachofa, apio, espinaca china.
<i>Flavon-3-oles</i>		Té, cacao y sus subproductos, uvas, vino rojo, manzanas y frutos rojos.
<i>Isoflavonas</i>		Soya, alimentos a base de soya, y legumbres.
<i>Flavonoles</i>		Frutos rojos, rábanos, brócoli, quimbombó, cebollas, pimientos, eneldo, jengibre, col, perejil, semillas de chía, algunos frijoles y trigo sarraceno.

Fuente: (Nahas, 2012)

2.1.4 Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua con un peso molecular relativamente alto que pueden formar enlaces fuertes con proteínas y carbohidratos.

Contribuyen a la astringencia en los alimentos, que se observa en la cebada, el mijo africano y el sorgo con capa de testa pigmentada. Los dos grandes grupos en los que se pueden clasificar los taninos son los taninos hidrolizables y las proantocianidinas (taninos condensados). Sin embargo, la florotanina es otro grupo, que se encuentra en las algas pardas, que los humanos no consumen. Las proantocianidinas producen Antocianidinas durante la escisión oxidativa. Las nueces contenían los contenidos más abundantes de proantocianidinas. Las proantocianidinas constituyen uno de los grupos ubicuos de todos los fenoles vegetales. Los taninos hidrolizables incluyen elagitaninos y galotaninos, mientras que los monómeros, dímeros, oligómeros y polímeros de flavan-3-oles pertenecen al grupo de los taninos condensados. Los taninos presentes en los chocolates amargos, los arándanos y el vino tinto contribuyen a la leve astringencia de estos alimentos y bebidas (Albuquerque, Silva, Oliveira, & Costa, 2018).

2.1.5 Carotenoides

Los carotenoides son fitoquímicos solubles en lípidos, abundantes en estructuras vegetales, microorganismos y algas. Hay alrededor de 700 carotenoides conocidos hasta la fecha, pero tan solo cinco son la composición de la dieta humana. Los ejemplos de carotenoides son el α -caroteno, la β -criptoxantina y el β -caroteno, que funcionan como una provitamina A y sirven como precursores de la vitamina A en el sistema humano. Los carotenoides no provitamina A, particularmente la zeaxantina y la luteína, son abundantes en el maíz en comparación con los carotenoides provitamina A. Estos compuestos se encuentran en granos de cereales, frutas y verduras. El perfil y la estructura de los carotenoides difieren en función de ciertos factores, como el origen, el genotipo y la etapa de madurez de los granos de cereal (de Abreu et al., 2013)

2.1.6 Actividades Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias con la capacidad de inhibir o retrasar el daño oxidativo de los ácidos nucleicos, lípidos y proteínas. La descomposición de la oxidación de productos, como los radicales libres, se ha relacionado con algunas enfermedades crónicas, como resultado de lo cual se ha despertado un interés sustancial en los

antioxidantes (Özkan, Guldiken, & Capanoglu, 2019). La reactividad de las fracciones fenólicas hace que los fenoles se comporten como antioxidantes.

Muchos investigadores han demostrado que los antioxidantes naturales más esenciales son los compuestos fenólicos, por ejemplo, se descubrió que el ácido fenólico, el ácido 4hidroxi-3-metoxicin-námico, muestra una alta actividad eliminadora de radicales contra los radicales libres como el radical hidroxilo, el peróxido de hidrógeno y el superóxido, eliminando hasta el 92,5 % de los radicales hidroxilos en concentración 250 mg/L(Li et al., 2014).

Diversos componentes fenólicos con actividades antioxidantes también están presentes en los cereales. La lista incluye ácidos fenólicos, saponinas, fitoestrógenos y flavonoides, solo por mencionar algunos. Algunos están presentes en cantidades significativas, mientras que otros son muy pequeños (Brenna, 2014).

Los cítricos son fuentes vitales de BAC, que incluyen antioxidantes como el ácido ascórbico y compuestos fenólicos relevantes para la salud humana. Se observó que especies de cítricos como *Citrus reticulata*, *C. sinensis* y *C. paradisi* poseen fuentes excepcionales de potenciales antioxidantes.

El consumo de estas frutas indica una cantidad notable de antioxidantes fenólicos en la dieta. Se investigó el contenido de fenoles y antioxidantes en la piel, la pulpa, la semilla y la caña de diferentes cultivares de uva como Agh, Ghara, Ghara Shani, Hosseini, Muscat y Shira, del oeste de Azerbaiyán, Irán (Busto, Cavia-Saiz, Ortega, & Muñiz, 2014). La piel de Ghara Shani poseía altos compuestos fenólicos identificados como resveratrol, ácido gálico, catequina y epicatequina, mientras que la caña de Ghara Shani tenía quercetina. La piel y la caña de Ghara). La piel de Ghara Shani poseían rutina y ácido cafeico respectivamente. En todos los cultivares, los extractos de piel poseían los compuestos fenólicos y actividades antioxidantes más altos (Alenazi et al., 2019).

Este estudio indicó que los cultivares de uva son antioxidantes naturales y fuentes importantes de compuestos fenólicos. La frambuesa negra (*Rubus occidentalis*) y la morera (*Morus spp.*) son frutas con una excelente fuente de antocianinas, flavonoides y compuestos fenólicos. La frambuesa negra, cuando se recolectó en estado prematuro después de 28 días después del cuajado, poseía compuestos fenólicos ricos, vitamina C y flavonoides, por lo que tenía un notable potencial antioxidante (Yuan & Baduge, 2018). Estos pueden usarse como colorantes naturales y productos alimenticios funcionales. Se

sabe que las frutas de morera (*Morus spp.*) son frutas de importancia funcional donde las hojas, la corteza de la raíz y las frutas se han utilizado para medicinas populares (García & Blesso, 2021).

Los extractos de frutos de morera se han establecido como una buena fuente de BAC, como antioxidantes, compuestos fenólicos, especialmente antocianinas. Se emplearon dos variedades de morera (*Morus alba* y *M. bombycis*) para enriquecer la miel cremosa (Yan, Zhong, Duan, Chen, & Li, 2020). Las hojas de morera potenciaron la miel 50 veces introduciendo en ella varios ácidos fenólicos y glucósidos flavonoides. Se reveló que los isómeros de rutina y ácido clorogénico son los principales compuestos antioxidantes. Esto es indicativo de que la adición de extractos de hojas de morera puede mejorar los compuestos polifenólicos y el potencial antioxidante de la miel y mejorar aún más sus propiedades para la salud.

2.2 Arándanos Azules

El arándano pertenece al género *Vaccinium* y al subgénero *Cyanococcus*. En general, los arándanos de arbusto alto (HB, *V. corymbosum* L.) y los arándanos de ojo de conejo (RB, *V. ashei* Reade) se consideran tipos de arándanos comercialmente importantes. Los arándanos de arbusto alto incluyen tres tipos: arándanos de arbusto alto del norte (NHB), arándanos de arbusto alto medio (HHB) y arándanos de arbusto alto del sur (SHB). Los arándanos son ricos en compuestos bioactivos, principalmente flavonas y otros compuestos polifenólicos, que confieren fuertes propiedades antioxidantes que brindan beneficios para la salud y le otorgan al arándano el título de alimento funcional (Yang et al., 2022).

Las antocianinas, la mayor parte de los compuestos fenólicos totales y la subclase más importante de flavonoides, se encuentran en todas partes en las frutas y verduras del mundo. Además, en comparación con otros nutrientes de la fruta, el contenido de antocianinas de los arándanos es alto, lo que indica que la calidad nutricional de la fruta como alimento funcional también es alta.

Las antocianinas se derivan de los flavonoides y son una gran clase de pigmentos vegetales solubles en agua que muestran una amplia gama de diversidad de colores. Los colores pueden cambiar según el valor de pH del suelo, y aunque suelen acumularse en flores y frutos, se pueden encontrar en todo tipo de plantas y tejidos vasculares.

En las últimas décadas, un número creciente de estudios han investigado los efectos de protección y promoción de las antocianinas en varias frutas y verduras en la salud humana.

Al centrarse en los arándanos que son particularmente ricos en antocianina, se investigó la actividad antioxidante y se determinó que era fuerte (Bernal-Gallardo et al., 2022).

Además, los arándanos en la dieta supuestamente mejoran la visión y la función cerebral, al desempeñar un papel antiinflamatorio para atenuar las enfermedades crónicas proyectadas (como la obesidad y la diabetes), simplemente a través de un papel prebiótico que regula favorablemente la población microbiana intestinal.

La industria alimentaria también investigó el potencial de las antocianinas como colorantes naturales, ya que ha aumentado la preocupación por los posibles efectos adversos de los colorantes sintéticos. La estabilidad de las antocianinas en alimentos y bebidas se puede mejorar mediante el uso de un protocolo de derivatización que polimeriza las antocianinas y crea subproductos coloreados estables. Alternativamente, la aplicación de antocianinas de arándanos como colorantes naturales en otros tipos de alimentos (pasteles, yogures, etc.) es limitada porque su resistencia a las condiciones de procesamiento, formulación y almacenamiento es relativamente pobre (Martín-Gómez et al., 2021).

2.2.1 Actividad biológica

Numerosos estudios han demostrado que las antocianinas de los arándanos pueden mantener la salud humana y frenar los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. Las antocianinas de arándano no solo son bien conocidas como potentes antioxidantes naturales, sino que también reducen la inflamación, particularmente en el intestino, y protegen contra el desarrollo de enfermedades cardiovasculares al atenuar la microinflamación sistémica. Además, estos compuestos reducen el riesgo de desarrollar diabetes y obesidad. Además, estos compuestos confieren neuroprotección indirectamente y pueden ser buenos adyuvantes en el contexto de la inhibición de algunos tipos de cáncer (Yang et al., 2022).

2.2.2 Actividad antioxidante

Las antocianinas de arándanos son potentes antioxidantes y pueden extinguir eficazmente las especies reactivas de oxígeno en el cuerpo. La capacidad se ha estudiado ampliamente tanto in vitro como in vivo. Los estudios in vitro revelaron que los extractos de frutos de diferentes cultivares de arándanos demuestran una actividad antioxidante diferente. Entre las 10 variedades de arándanos estudiadas, los extractos de antocianina de Polaris tenían la mayor capacidad antioxidante (Eichholz, Huyskens-Keil, & Rohn, 2015; Jaglan et al., 2022; Martín-Gómez et al., 2021; Yang et al., 2022).

Además, la capacidad antioxidante de los extractos ricos en glucósidos de cianidina preparados a partir de chokeberry y saúco es superior a la de los extractos de arándano o mirtilo con perfiles complejos de antocianina. In vivo, 250 mg/kg de peso corporal de extracto rico en antocianinas de arándanos administrado a ratones durante 14 días, mejoró el nivel de glutatión (GSH) y las actividades de sus enzimas relacionadas después de la inducción de acrilamida (AA- inducido) al estrés oxidativo. Además, un extracto de antocianina de arándano alivió la toxicidad general inducida por AA, la genotoxicidad y la toxicidad reproductiva. La enfermedad cardiovascular (ECV) es una clase de enfermedad que involucra el corazón o los vasos sanguíneos. Los mecanismos subyacentes varían dependiendo de la enfermedad. Muchos estudios indican que el consumo de arándanos puede ser cardioprotector. La asociación entre los compuestos fenólicos del arándano y la enfermedad cardiovascular se ha atribuido en parte a la presencia de antocianinas en el arándano (Jaglan et al., 2022).

Las antocianinas son más conocidas por sus propiedades colorantes, pero existe un interés creciente en las antocianinas porque pueden ser buenas para la salud como antioxidantes dietéticos y para ayudar a prevenir el cáncer, la diabetes, la inflamación y las enfermedades neurológicas o cardiovasculares. La capacidad antioxidante de las antocianinas las convierte en candidatas adecuadas para su uso en la resistencia a la aterosclerosis (Martín-Gómez et al., 2021).

Por lo tanto, los alimentos ricos en antocianinas pueden ayudar a mejorar la salud general y, si se derivan de un alimento natural, se proporcionan en un paquete que incluye una gama de otros nutrientes. De acuerdo con la observación y el experimento humanos, la antocianina de arándano tiene efectos antioxidantes y antiinflamatorios significativos. Por lo tanto, la antocianina de arándano puede considerarse un alimento funcional y puede

dar resultados más positivos en el contexto de futuras investigaciones (Eichholz et al., 2015).

Desde la perspectiva de la seguridad, tomando 50 mg de antocianina de arándano todos los días pueden reducir el riesgo de las principales enfermedades y condiciones socioeconómicas en el mundo occidental. Las bayas y las antocianinas de las bayas pueden desempeñar un papel en la regulación de la glucosa en sangre postprandial en el intestino. Si las bayas se comen habitualmente con las comidas, como lo sugieren estudios en animales y humanos, se espera que normalice la suma de la curva de glucosa postprandial en el cuerpo, es decir, mejore el índice glucémico de las comidas. La incorporación de extractos de bayas simples o mixtos en nuevos productos alimenticios o bebidas, como bebidas de frutas sin azúcar agregada, barras de cereales, galletas de trigo integral, pan y pasta, brinda un enfoque potencial para el desarrollo de alimentos funcionales (Bernal-Gallardo et al., 2022).

2.3 Uva de mesa Roja – Red Globe

La uva de mesa (*Vitis vinifera* L.) es una de las más cultivadas y frutas consumidas (frescas y pasas) a nivel mundial. De acuerdo con las estadísticas anuales publicadas por la Organización Internacional de Vid y vino (OIV), la producción destinada al consumo fresco directo de uvas de mesa ha aumentado durante los últimos cinco años. Las variedades de uva son conocidas y han sido clasificadas usando genética y métodos ampelográficos (Luzio, Bernardo, Correia, Moutinho-Pereira, & Dinis, 2021), sin embargo, no todas las variedades poseen la misma importancia comercial.

Las variedades 'Red Globe' y 'Crimson Seedless' se encuentra entre los más cultivados, importantes y más estudiados, como lo demuestran los numerosos estudios científicos que se han realizado sobre estas variedades (De Freitas Laiber Pascoal et al., 2022).

Estudios recientes sobre estas variedades han considerado varios aspectos que influyen en la calidad de la baya, como las prácticas culturales, características de color, parámetros químicos, composición fenólica y actividades antioxidantes, contenido proteico y enzimático actividades, condiciones de almacenamiento postcosecha, y atmósfera y materiales del empaque. Sin embargo, la información sobre la textura instrumental, las propiedades de las bayas 'Red Globe' y 'Crimson Seedless' permanecen desconocido para el consumo en fresco. Las propiedades mecánicas de las bayas se consideran los factores más importantes que afectan la alimentación-calidad.(Rockenbach et al., 2011).

Tal como lo define la norma ISO 5492:2009, que establece que “toda mecánica, atributos geométricos, superficiales y corporales de un producto perceptibles por medio de receptores de cinestesis y somestesis, y (donde apropiado) receptores visuales y auditivos desde el primer bocado hasta deglución final”, las propiedades texturales de las uvas de mesa son importantes atributos para la aceptación del consumidor.

Históricamente, los investigadores han usado muchos términos, como carnoso, firme, crujiente, duro, tierno, fundente y suave, para describir la consistencia de la baya/pulpa; estas descripciones fueron resumidas por Sato et al. (1997). La segunda edición de la lista de descriptores de la OIV para variedades de uva y especies de *Vitis* con el Código OIV no. 235 – ‘Baya:

Firmeza de la carne’ clasifica cultivares de uva de mesa en los siguientes tres grupos en comparación con cultivares de referencia: blanda, poco firme y muy firme.

Descriptores sensoriales adicionales, como friabilidad de la piel, grosor de la piel y la firmeza de la pulpa, se han propuesto para caracterizar cultivares de uva de mesa. Alternativamente, instrumentalmente, las variables de textura, como la firmeza de la baya, se consideran una medida de frescura.

Más recientemente, el análisis de perfil (TPA) ha proporcionado parámetros instrumentales que han sido propuestos como marcadores físicos para caracterizar y comparar variedades de uva de mesa y como variables útiles para monitorear su vida útil postcosecha durante el almacenamiento.

Aunque a menudo se prefieren las mediciones instrumentales a las evaluaciones sensoriales en la industria alimentaria porque las mediciones son más objetivas y se pueden usar más fácilmente para comparar datos de diferentes fuentes, contribuciones científicas sobre relaciones directas entre las propiedades sensoriales y mecánicas para las uvas de mesa y de vinificación siguen siendo escasas.

2.3.1 Actividad Antioxidante

Estudios han demostrado que 'Crimson' y 'Red Globe' tienen el contenido fenólico total más alto en la cosecha (47.76 y 48.06 mg GAE /100g, respectivamente), mientras que los niveles de estos componentes en la variedad 'Black Pearl' son similares a las de las variedades blancas 'Superior seedless®' y 'Vittoria'. El menor contenido de fenoles totales se encuentra en la variedad 'Italia'. En general, el contenido fenólico total de las uvas rojas

es significativamente mayor que el de las uvas blancas debido a la falta de antocianinas en la piel de las uvas blancas(Jayaprakasha, Singh, & Sakariah, 2001).

Sin embargo, otros estudios muestran que el contenido fenólico de las diferentes uvas depende principalmente de las diferencias varietales, no sobre el color de la piel de la uva(Jayaprakasha et al., 2001). Así mismo, se correlaciona inversamente proporcional el tiempo de almacenamiento vs el contenido fenólico, quiere decir que, si tiempo de almacenamiento aumenta, el contenido fenólico disminuye. Así, a los 7 días de almacenamiento se observan diferencias significativas en el contenido fenólico en las variedades ‘Vittoria’, ‘Crimson’, ‘Red Globe’ y ‘Black Pearl’(de Nisco et al., 2013).

Sin embargo, al final del almacenamiento, los niveles de actividad antioxidante en todos los genotipos (entre 1724 y 2862 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$) no presentan una reducción excesiva de la capacidad antioxidante de las uvas (Tkacz, Wojdyło, Nowicka, Turkiewicz, & Golis, 2019). La relación entre la actividad antioxidante y el contenido fenólico o de vitamina C depende de varios factores, como la estructura química de los componentes individuales y la sinergia entre los componentes.

Debido a que las variedades blancas son más ricas en inflavan-3-ols que las variedades rojas, los altos valores de actividad antioxidante encontrados en estos genotipos pueden estar relacionados con el contenido de flavan-3-ol (de Freitas Laiber Pascoal et al., 2022).

2.4 Flor de Jamaica

Las flores de Hibiscus sabdariffa (familia: Malvaceae) más conocida como Flor de Jamaica, ha sido una de las especies más estudiadas por su alto contenido de moléculas antioxidantes como vitamina E y C, compuestos fenólicos, ácidos polifenólicos, flavonoides y antocianinas. Estas propiedades le confieren a esta flor efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antiinflamatorios, antimicrobianos ejerciendo una acción protectora del daño celular y peroxidación de lípidos (Mariod, Saeed Mirghani, & Hussein, 2017).

Los productos a base de Hibiscus Sabdariffa se utilizan en la medicina popular para obtener un efecto antihipertensivo, así como para prevenir enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Los pétalos de H. sabdariffa son potencialmente una buena fuente de agentes antioxidantes como antocianinas y ácido ascórbico. Los estudios muestran cómo las bebidas a base de H. sabdariffa puede ser eficaz contra la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la hiperlipidemia (Prenesti, Berto, Daniele, & Toso, 2007a).

2.4.1 Actividad antioxidante de la Flor de Jamaica

Se ha evidenciado la presencia de considerable actividad antioxidante en extractos obtenidos de la Flor de Jamaica, también se ha determinado valioso contenido nutricional en los subproductos, como por ejemplo elevado nivel de fibra dietética, bajo contenido de lípidos, importante contenido de compuestos fenólicos que le proporcionan efecto antioxidante. Una gran cantidad de alimentos líquidos tales como bebidas a base de frutas y vegetales son considerados productos innovadores que marcan una nueva tendencia en el mercado (Prenesti et al., 2007a).

El contenido de polifenoles en la *Hibiscus sabdariffa*, podría explicar la capacidad antioxidante de bebidas a base de esta flor, Estas bebidas podrían describirse como opciones protectoras, proponiendo su consumo regular como una alternativa al vino tinto, especialmente para aquellas personas que no toleran el etanol o para los niños. En particular, durante el verano, se desaconseja fuertemente el consumo de bebidas alcohólicas, haciendo que las alternativas protectoras sean especialmente apropiadas para proporcionar al organismo una defensa contra los radicales libres inducidos por la exposición solar.

La infusión fría es, además, capaz de conservar la vitamina C de *Hibiscus sabdariffa*, que es un compañero útil de los polifenoles en su actividad angioprotectora (Cornejo & Párraga, 2021).

2.5 Efecto del proceso de pasteurización en la calidad de jugos a bases de frutas y flores

El proceso térmico conocido como pasteurización tiene como fin la destrucción de la flora microbiana patógena y la eliminación parcial de la flora microbiana no patógena; así como la inactivación enzimática. Consiste en someter al alimento a un tratamiento térmico a temperaturas generalmente menores a 100°C o incluso ligeramente mayores por tiempos cortos, ocasionando un choque térmico por los cambios bruscos de temperaturas; con la finalidad de prolongar la vida útil (días, meses o años; dependiendo del tipo de tratamiento) de los alimentos manteniendo la inocuidad alimentaria.

Los tipos de calentamiento utilizados pueden ser con vapor, con agua caliente, con calor seco, o con corrientes eléctricas, y se enfrían inmediatamente después de haber sido sometidos al tratamiento térmico. Además, tiene la ventaja de preservar los componentes

bioactivos propios de frutas y por ende las pulpas de frutas, tales como vitaminas, compuestos antioxidantes, fenoles, Polifenoles, ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, flavonoides, entre otros (Zelada & Sánchez, 2013, p. 6).

La pasteurización es también usada para evitar las reacciones enzimáticas (oxidación de compuestos fenólicos) y reacciones no enzimáticas (Reacción de Maillard, degradación térmica y alcalina y condensación de azúcar) propias del proceso de extracción de los jugos, debido a la exposición al oxígeno provocando pardeamiento enzimático, es decir, el oscurecimiento de los jugos debido a la formación de pigmentos marrones causado por la actividad de la peroxidasa (POD) y polifenol oxidasa (PPO). Ambos procesos pueden desnaturalizarse por la exposición del alimento al calor, mejorando así la vida útil y apariencia de la bebida (Hooi, 2019).

Para reducir el crecimiento microbiano y extender su vida útil, los jugos de frutas generalmente se procesan por pasteurización. Además de que este procedimiento térmico influye en la calidad de los productos, también tiene la desventaja de desnaturalizar los compuestos bioactivos debido a la ionización, hidrólisis y reacciones de oxidación. Teniendo en cuenta la necesidad de los consumidores de jugos de frutas de alta calidad, sabor y sabor, los productores buscan continuamente alternativas a los métodos térmicos convencionales (Villareal, Mejía, Osorio, & Cerón, 2012).

Existen estudios que buscan evaluar la preservación de los atributos sensoriales de las bebidas una vez sometidas a este tipo de proceso térmico, por lo que ha sido previamente demostrada su eficacia. Así mismo, se ha evaluado el efecto sobre la actividad antioxidante de las bebidas y pulpas de frutas debido a que las altas temperaturas destruyen compuestos bioactivos termo sensibles como el ácido L-ascórbico, por lo que esta investigación comprobará la presencia de componentes antioxidantes una vez realizado el proceso térmico, garantizando la inocuidad del alimento y conservando sus características sensoriales propias de los componentes de la bebida (Kunitake, Ditchfield, Silva, & Petrus, 2014).

2.6 Criterios de seguridad alimentaria en la elaboración de bebidas a base de flores y frutas.

La seguridad alimentaria se ha convertido en un tema crucial en la actualidad, impulsado por la creciente conciencia sobre la importancia de garantizar que los alimentos que consumimos sean seguros y saludables. En este contexto, la elaboración de bebidas a base

de flores y frutas ha ganado popularidad debido a su atractivo visual, sabores únicos y supuestos beneficios para la salud. Sin embargo, para asegurar la inocuidad de estas bebidas, es esencial establecer y seguir rigurosos criterios de seguridad alimentaria durante su elaboración.

La combinación de flores y frutas en bebidas no solo ofrece una experiencia sensorial única, sino que también presenta desafíos específicos en términos de manipulación y preparación. Este artículo explorará los criterios fundamentales de seguridad alimentaria que deben tenerse en cuenta al elaborar estas bebidas, desde la selección de ingredientes hasta las prácticas de manipulación y almacenamiento. La comprensión y aplicación de estos criterios son esenciales para garantizar que las bebidas a base de flores y frutas no solo sean deliciosas y estéticamente agradables, sino también seguras para el consumo humano (Chau & Wu, 2006).

La bebida obtenida de este trabajo de investigación debe cumplir con los requisitos establecidos en las Normativas Ecuatorianas vigentes. En el Ecuador el organismo que regula los requisitos de los productos alimenticios es el Instituto Nacional de Normalización Ecuatoriano, junto con sus Normas Técnicas Ecuatorianas, correspondiendo en este caso a la Norma (NTE INEN 2337:2008), asegurando que el producto final, cumpla con los parámetros mínimos de inocuidad alimentaria para que pueda ser apto para el consumo humano.

Cabe mencionar que lo anteriormente estipulado se acoge a lo establecido por la Constitución política de la República del Ecuador en su capítulo III, artículo 281 sobre la Soberanía Alimentaria que indica lo siguiente:

Soberanía Alimentaria

Art. 281.- La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Para ello, será responsabilidad del Estado:

1. *“Impulsar la producción, transformación agroalimentaria y pesquera de las pequeñas y medianas unidades de producción, comunitarias y de la economía social y solidaria.*

2. *Adoptar políticas fiscales, tributarias y arancelarias que protejan al sector agroalimentario y pesquero nacional, para evitar la dependencia de importaciones de alimentos.*
3. *Fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria.*
4. *Promover políticas redistributivas que permitan el acceso del campesinado a la tierra, al agua y otros recursos productivos.*
5. *Establecer mecanismos preferenciales de financiamiento para los pequeños y medianos productores, facilitándoles la adquisición de medios de producción.*
6. *Promover la preservación y recuperación de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella; así como el uso, la conservación e intercambio libre de semillas.*
7. *Precautelar que los animales destinados a la alimentación humana estén sanos y sean criados en un entorno saludable.*
8. *Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiada para garantizar la soberanía alimentaria.*
9. *Regular bajo normas de bioseguridad el uso y desarrollo de biotecnología, así como su experimentación, uso y comercialización.*
10. *Fortalecer el desarrollo de organizaciones y redes de productores y de consumidores, así como la de comercialización y distribución de alimentos que promueva la equidad entre espacios rurales y urbanos.*
11. *Generar sistemas justos y solidarios de distribución y comercialización de alimentos. Impedir prácticas monopólicas y cualquier tipo de especulación con productos alimenticios.*
12. *Dotar de alimentos a las poblaciones víctimas de desastres naturales o antrópicos que pongan en riesgo el acceso a la alimentación. Los alimentos recibidos de ayuda internacional no deberán afectar la salud ni el futuro de la producción de alimentos producidos localmente.*
13. *Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos.*
14. *Adquirir alimentos y materias primas para programas sociales y alimenticios, prioritariamente a redes asociativas de pequeños productores.”*

En la **Tabla 2**; se indica los requisitos fisicoquímicos que debe cumplir el producto final elaborado, acorde a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2337 Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. Requisitos.

Tabla 2:

Requisitos fisicoquímicos para Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales

Requisito	Requisito	Método de ensayo
Acidez	>1	-
pH	<4.5	NTE INEN 389
°Brix	>5	NTE INEN 380

Fuente: (INEN, 2008)

En la **Tabla 3**; se indica los requisitos microbiológicos que debe cumplir el producto final elaborado, acorde a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2337 Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. Requisitos.

Tabla 3:

Requisitos microbiológicos para Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales

Requisito	Requisito	Método de ensayo
Aerobios totales UFC/g	<10	NTE INEN 1 529-5
Coliformes Totales y Fecales UFC/g	<3	NTE INEN 1 529-7
Mohos y Levaduras UFC/g	<10	NTE INEN 1 529-10

Fuente: (INEN, 2008)

En la **Tabla 4**; se indica el contenido máximo de contaminantes que se puede admitir en el producto final elaborado, acorde a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2337 Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales. Requisitos.

Tabla 4:

Contenido máximo de contaminantes

Metales	mg/Kg
Arsénico, As	0.2
Cobre, Cu	5.0
Zinc, Zn	5.0
Hierro, Fe	15.0
Plomo, Pb	0.05

Fuente: (INEN, 2008)

Metodología

El presente trabajo de investigación tuvo lugar en las instalaciones del laboratorio SSV Consulting que presta servicios de asesoría técnica de ensayos químicos a estudiantes de Tesis de varias carreras, especialmente de la Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Químicas y otras universidades.

Los análisis de actividad antioxidante, fisicoquímicos y de control de calidad del producto final fueron realizados en laboratorios SSV Consulting y Cromanova, con parámetros de calidad acreditados garantizando la exactitud y precisión de los resultados reportados en este trabajo.

3.1 Enfoque de la Investigación

La investigación adopta un enfoque experimental que combina investigación bibliográfica con práctica, validando hipótesis a través de la observación y experimentación. Los estudios farmacognósticos, fitoquímicos, fisicoquímicos y de control de calidad se llevaron a cabo en las instalaciones de SSV Consulting y Cromanova. Los ensayos se realizaron en triplicado (n=3) para las materias primas, las cuales se muestrearon de manera aleatoria en los puntos de venta.

Las seis combinaciones fueron sometidas a una evaluación sensorial, seleccionándose la combinación con el mayor grado de aceptabilidad y actividad antioxidante. Posteriormente, se realizó un análisis bajo parámetros de control de calidad microbiológicos y fisicoquímicos, cumpliendo con los requisitos descritos en la norma

NTE INEN 2337:2008. Todos los parámetros se repitieron al menos tres veces (n=3) para facilitar el análisis estadístico correspondiente de los resultados.

3.2 Modalidad y tipo de investigación

En este trabajo de investigación, se han integrado diversos procesos y técnicas de investigación científica, desarrollados tanto en el ámbito bibliográfico como experimental. Inicialmente, se exploró los enfoques y datos recopilados por otros autores sobre las materias primas, lo que se brindó una visión completa del estado actual del conocimiento en el área. Posteriormente, se iniciaron los procesos tecnológicos empleados para la obtención del producto final, permitiendo realizar experimentos detallados y controlar meticulosamente las variables del proceso de pasteurización. El objetivo fue evaluar si el proceso en mención impacta significativamente en la capacidad antioxidante del producto final y determinar la aceptabilidad por parte de los consumidores.

Este trabajo final constituye una investigación aplicada, en la cual se utilizaron los conocimientos y habilidades adquiridos durante el posgrado, junto con la experiencia previa, para obtener resultados tangibles. La combinación de investigación cualitativa y cuantitativa permitió el análisis estadístico de los resultados, evaluando sus interrelaciones y el impacto del producto final.

Además, se caracteriza como una investigación descriptiva, ya que a través del análisis y el criterio técnico-científico, se logró verificar el objetivo general: **“Desarrollar bebida con actividad antioxidante a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (Uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), todos de origen ecuatoriano”**. Este proceso permitió confirmar o refutar la hipótesis planteada.

Objeto de estudio

Desarrollo de bebida con actividad antioxidante.

Campo de estudio de la investigación

Frutas: *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (uva roja) y flor de *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica)

Novedad Científica

Potenciar el estudio y desarrollo de alimentos funcionales a base *Vaccinium shei Reade*, *Vitis vinífera* e *Hibiscus sabdariffa*, todos de origen ecuatoriano con propiedades antioxidantes.

3.3 Operacionalización de las variables

En la **Tabla 5** se señalan la descripción de cada una de las variables, así como el indicador con el cual fueron medidas.

Tabla 5:

Operacionalización de las variables

Tipo	Variable	Conceptualización	Indicador
Dependiente	Bebida	Bebida obtenida del proceso de mezcla entre la infusión de flores de Jamaica, y los arándanos azules con las uvas rojas	Actividad antioxidante por porcentaje de inhibición de DPPH Análisis sensorial: Sabor general, color, olor, dulzor, acidez.
Interviniente	Dulzor	Sabor dulce que tendrá la bebida en dependencia de la azúcar añadida.	Cantidad de azúcar añadida por preferencia de cada juez.
Independiente	Proporción de Arándanos Azules y Uvas en la infusión de Flor de Jamaica	Combinación de frutas con la infusión de Flor de Jamaica con proporción definida.	° Brix (Min 5.5) pH (≤ 4.5) Acidez (≥ 1.0 mg/100cm ³) % Proteínas % Grasas % Carbohidratos Totales (Azucares)

Fuente: La investigación

3.3.1 Variable Independiente:

Proporción de Arándanos Azules y Uvas en la infusión de Flor de Jamaica

3.3.2 Variable Dependiente:

Actividad antioxidante de la bebida

3.4 Población y Muestra

La evaluación sensorial se llevó a cabo con el fin de determinar el nivel de aceptabilidad del producto. Se seleccionó como población de referencia a los consumidores de un supermercado de alimentos ubicado en las calles Rosendo Avilés y Bogotá del Barrio Centenario en la ciudad de Guayaquil, considerándolos como posibles usuarios del producto. Se procedió a elegir a un total de 50 personas que salían del establecimiento, quienes constituyeron la población sometida al estudio.

Para diseñar la bebida, se tuvieron en cuenta investigaciones científicas previas a fin de establecer las concentraciones adecuadas de las materias primas. En el caso de la Flor de Jamaica, se consultó el trabajo de (Cornejo & Párraga, 2021), donde se preparó una infusión hirviendo 2.000 g de pétalos a 100 °C durante 3 minutos con 100 ml de agua. Esta metodología logró la máxima extracción de compuestos fenólicos y una elevada actividad antioxidante. Se consideraron dos concentraciones de Flor de Jamaica, como se detalla en la Tabla 6.

3.5 Plan de recolección de información

3.5.1 Secuencia de análisis para la caracterización farmacognóstica, fitoquímica y fisicoquímica de *Vaccinium shei* Reade, *Vitis vinifera* e *Hibiscus sabdariffa*.

- **Bebida antioxidante**

Para el desarrollo de la bebida antioxidante de frutos y flores, se recurrió a la “Consulta a Expertos”, a fin de tener una base, considerando los trabajos de científicos. Para el caso de la infusión de la Flor de Jamaica, se consultó bibliográficamente a (Cornejo & Párraga, 2021) para establecer las concentraciones de las materias primas

(Cornejo & Párraga, 2021) en su investigación, se preparó una infusión de 2.000 g de pétalos de Flor de Jamaica, en 100 ml de agua y se sometió a temperatura de 100°C, por 3 minutos, obteniendo de esta manera, la mayor extracción de los compuestos fenólicos y una elevada actividad antioxidante, en consecuencia, se llegó a considerar dos concentraciones de Flor de Jamaica, como se refleja en la **Tabla 6**.

De esta manera se estableció 2 niveles de concentración con cada uno de los frutos: Arándanos azules y Uvas rojas, como factor que influencia la formulación de la bebida.

Tabla 6:

Concentraciones de Flor de Jamaica por cada 100 ml de Infusión

FACTOR A: Concentración (g) de Flor de Jamaica	
A1	2.00 g
A2	1.50 g

Fuente: La investigación

Según la normativa técnica ecuatoriana NTE INEN 2337:2008, en las bebidas a base de fruta su aporte no podrá ser menor al 10%.

La Tabla 7, muestra los porcentajes de uva y arándanos en tres posibilidades de mezclas. Se señalan los porcentajes a utilizar de arándanos azules y uvas rojas para incluirlo en la fórmula a fin de apoyar a la obtención del producto terminado.

Tabla 7:

Porcentajes de uva y arándanos en tres posibilidades de mezclas

FACTOR B: Porcentaje de frutas (arándano y uva)		
Mezcla	U (Fruta Uva)	M (Fruta arándano)
B1	7.5	7.5
B2	5.0	7.5
B3	7.5	5.0

Fuente: La investigación

Usando estos 2 factores, se tuvo 6 combinaciones posibles que fueron las analizadas en el presente trabajo, las mismas que se muestran a continuación en la **Tabla 8:**

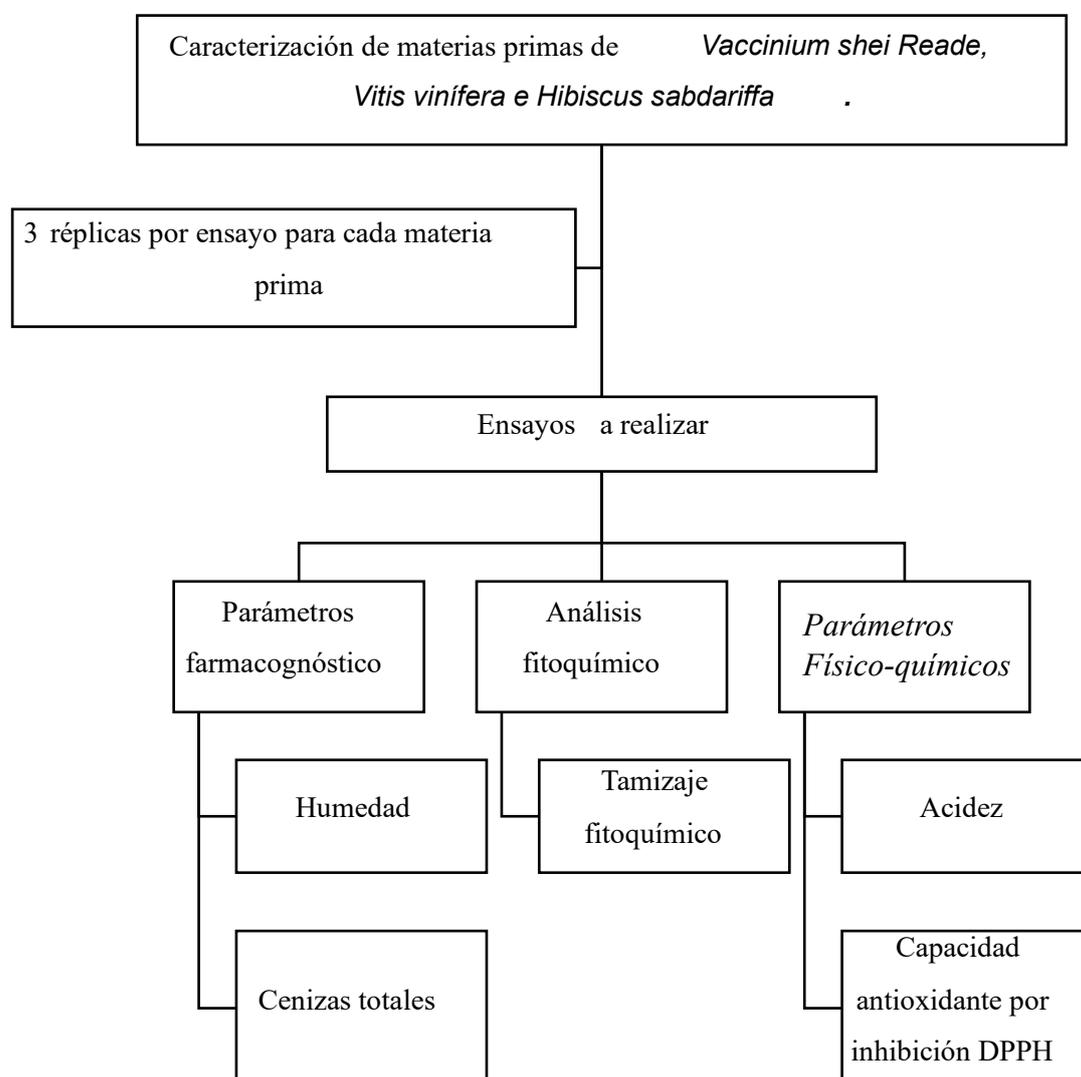
Tabla 8:
Formulaciones de Bebidas Antioxidantes

Tratamientos		Descripción		
Nº	Combinaciones	Mezcla fruta %		Flor de Jamaica g/100 ml
F1	A1B1	7.5 A	7.5 U	2.0
F2	A1B2	5.0 A	7.5 U	2.0
F3	A1B3	7.5 A	5.0 U	2.0
F4	A2B1	7.5 A	7.5 U	1.5
F5	A2B2	5.0 A	7.5 U	1.5
F6	A2B3	7.5 A	5.0 U	1.5

Fuente: La investigación

Para facilitar la explicación del desarrollo de los ensayos, se recopiló en forma de diagrama de flujo los distintos análisis a realizar, mismos que se muestran en la Figura 1.

Figura 1
Representación gráfica de métodos a utilizar en caracterización de la materia prima



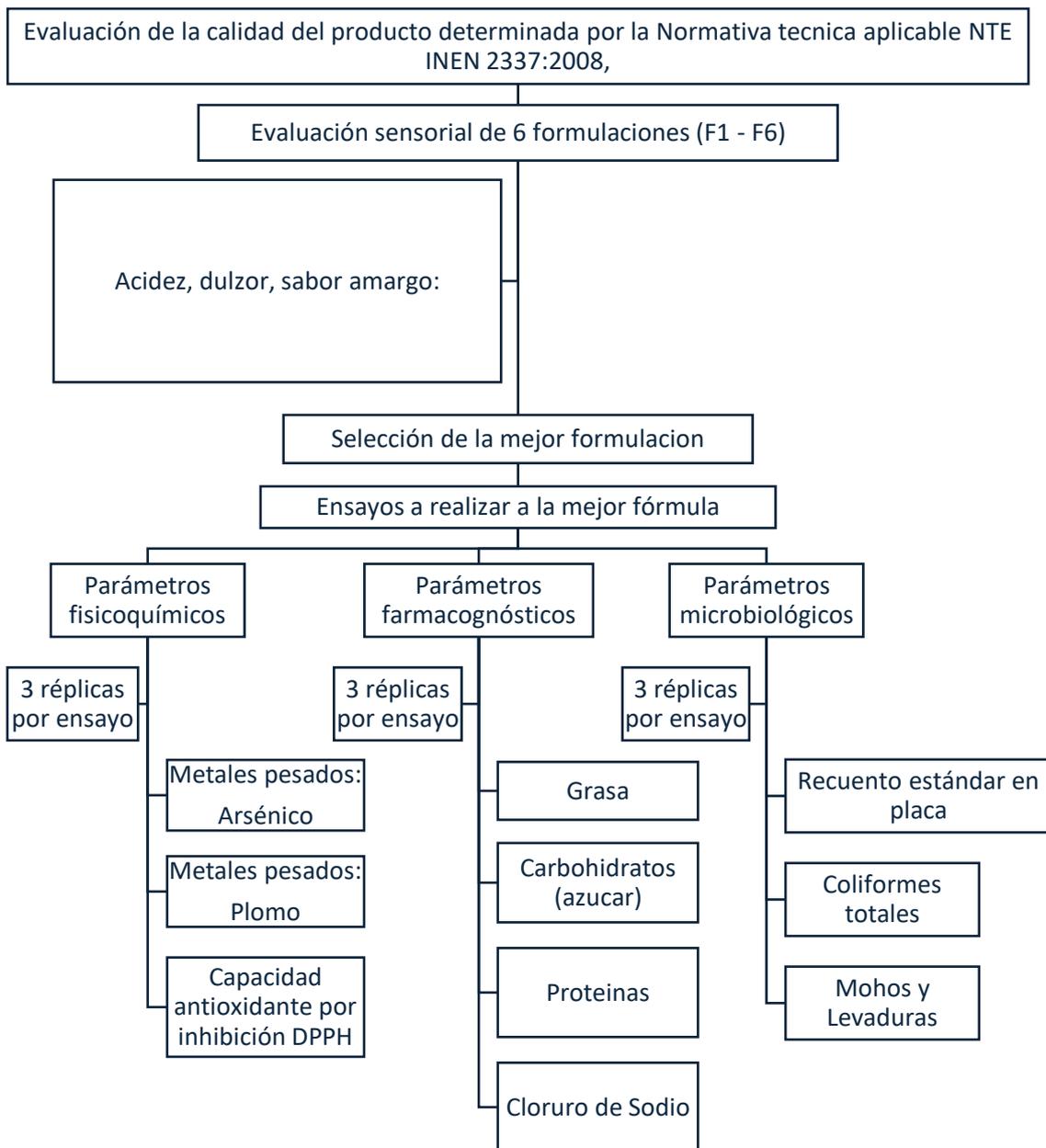
Fuente: La investigación

3.5.2 Secuencia de análisis para evaluación de la calidad de la bebida antioxidante.

Para proporcionar el detalle del desarrollo de los ensayos, se recopiló en forma de diagrama de flujo los distintos análisis a realizar a las 6 formulaciones resultantes del diseño experimental, los mismos que se muestran en la Figura 2.

Figura 2

Representación gráfica de métodos a utilizar en la evaluación de la calidad de la bebida



Fuente: La investigación

3.5.3 Materiales y métodos para los análisis que expresa la Tabla 9

Los reactivos utilizados para la medición de cada uno de los parámetros establecidos se describen en la **Tabla 9**.

Tabla 9:
Reactivos a utilizar

Proteínas			Grasas			Colesterol		
• Ácido sulfúrico conc.	• Alcohol potable	• Alcohol potable	• Sulfato de Sodio	• N Hexano	• N Hexano	• Sulfato de Cobre	• Hidróxido de Sodio	• Acetonitrilo
• Hidróxido de Sodio						• Rojo de Metilo		
Carbohidratos			Recuento en Placa			Coliformes Totales		
• Antrona	• Agar Recuento en placa	• Placas Petrifilm recuento de Coliformes	• Glucosa	• Agua de Peptona				
Mohos y Levaduras			Metales pesados			Capacidad antioxidante por inhibición de DPPH		
• Agar Sabouraud dextrosa	• Ácido nítrico conc.	• 2,2-difenil-1-picrilhidracilo		• Ácido clorhídrico conc.	• Metanol grado HPLC			
Tamizaje fitoquímico								
• Metanol	• Cloroformo	• Reactivo de Dragendorff	• N Hexano	• Reactivo de Mayer	• Reactivo de Wagner	• Etanol	• Quercetina	• Reactivo de Folin
• Carbonato de Sodio	• Acetato de Sodio							

Fuente: La investigación

Los equipos y aparatos utilizados se describen en la **Tabla 10** de acuerdo con los ensayos a realizados para la medición de cada uno de los parámetros establecidos.

Tabla 10:

Equipos y aparatos utilizados

Equipos:	
• Cromatógrafo Gases Masas (GC-MS) Trace 1310	
• Cromatógrafo Líquido Alta Resolución Thermo Fisher Scientific Finnigan Thermo Surveior plus	
• Espectrofotómetro de absorción atómica. Perkin Elmer 300	
• Espectrofotómetro Shen Jia Modelo 721	
• Balanza Analítica Ohaus Adventurer Pro	
• Deshidratador de Alimentos Ronco EZ-Store 5, Austin, TX	
Aparatos:	
• Sorbona	• Hornilla eléctrica

-
- | | |
|------------------|--------------|
| • Cabina laminar | • Vortex |
| • Estufa | • Licuadora |
| • Deshidratador | • Centrífuga |
-

Fuente: La investigación

3.5.3.1 Materias primas

Las **flores de Jamaica** fueron recolectadas en la Finca Cumandá de San Francisco de Milagro. Ecuador, pasando por un proceso de desecado en deshidratador de alimentos Ronco EZ-Store 5 a 60°C, durante 24 horas, a fin de eliminar la actividad de agua (*Aw*), preservando sus compuestos antioxidantes.

Las **Uvas rojas**, cosechadas en Santa Elena. Ecuador, fueron lavadas con agua a la temperatura ambiente, secadas con un paño y almacenadas en envases plásticos a temperatura de 2 a 8°C, por espacio de 2 días.

Los **Arándanos azules**, cultivados en los Andes ecuatorianos. Guayllabamba. Ecuador, fueron lavados con agua a la temperatura ambiente, secados con un paño y almacenados en refrigeración de 2 a 8°C, por espacio de 2 días.

3.5.3.2 Preparación de infusión de Flor de Jamaica deshidratada

Se recolectaron las flores de Jamaica, se despetalaron y se sometieron a secado por convección a fin de preservar las características físicas, sensoriales y funcionales (como la actividad antioxidante) del producto en mención. Se utilizó un deshidratador de ventilador turbo, para deshidratar uniformemente los pétalos de las flores de Jamaica y conservarlos durante períodos de tiempo prolongados sin necesidad de preservantes ni aditivos. La temperatura requerida es de $60 \pm 1^\circ$, por 24 horas, con rotación de 5 bandejas apilables cada 4 horas.

Para la preparación de las frutas, una vez cosechadas las uvas rojas y los arándanos azules, fueron lavados con agua fría, secados con un paño y se almacenaron en envases plásticos con la menor cantidad de aire posible y en condiciones de refrigeración (2 a 8°C) por un periodo 48 horas.

3.5.3.3 Preparación de la bebida

Se colocó en un procesador de alimentos, la infusión de Jamaica como base acuosa, se agregaron las concentraciones de frutas de Arándano azul y Uva roja, se puso en marcha el procesador de alimentos, hasta completa homogeneidad de las partes, se apagó el

procesador, se pasó el producto a través de un tamiz y se tomó muestras para el Control de la Calidad. Una vez aprobado el producto, se sometió al envasado y sellado en envases de vidrio de 300 ml con tapa de aluminio, para luego realizar el proceso de pasteurización, etiquetado y embalado.

3.5.3.4 Preparación de Flor de Jamaica deshidratada

Se utilizó el secado por convección procurando la conservación de las propiedades físicas, sensoriales y funcionales (actividad antioxidante) del producto final.

Es importante señalar que en este estudio se utilizó un deshidratador de ventilador turbo que permite circular aire caliente produciendo alimentos deshidratados uniformemente, conservación del alimento por mucho más tiempo sin preservantes, ni aditivos, control de temperatura ajustable que va desde 35° a 71°C y 5 bandejas que se apilan hacia arriba y de esta manera se aprovecha espacio, tiempo y consumo de energía.

Las Flores de Jamaica cosechadas se secaron en el deshidratador de alimentos a 60±1°C durante 24 horas rotando las bandejas en intervalos de 4 horas.

3.5.3.5 Preparación de las frutas

Una vez cosechadas las uvas rojas y los arándanos azules, ambos fueron lavados con agua fría, secados con un paño y se almacenaron en envases plásticos con la menor cantidad de aire posible y en condiciones de refrigeración (2 a 8°C) por un periodo no más allá de dos días.

3.5.3.6 Preparación de la bebida

Se tomó como referencia las bebidas frutales que existen en el mercado ecuatoriano para la elección de la presentación final. Se escogió envases de vidrio de 300 ml con tapa de aluminio debido a que las mismas pueden resistir el proceso de pasteurización y además son uno de los envases con mejores características técnicas para este tipo de productos. Usando como base acuosa la infusión de Jamaica y las referencias procesador de alimentos junto con todos sus otros ingredientes y aditivos. Se envasó, pasteurizó y finalmente almacenó en refrigeración hasta su consumo final.

3.5.3.7 Extracción y análisis de actividad antioxidante a materias primas y producto terminado:

Se pesaron 10 gramos de muestra fresca de cada especie vegetal correspondiente a las materias primas, se trituraron en mortero y se les añadió 100 mL de agua destilada hirviendo. Se dejó reposar la maceración por 2 horas y se filtró con papel filtro Whatman No.1 (Silva et al., 2019). En el caso de las formulaciones de la bebida, se pesó 10 gramos, tomando la muestra mientras esta se encuentra en agitación, para de esta manera garantizar su homogeneidad. Luego de la obtención de todos los extractos, se procedió al análisis espectrofotométrico de Actividad Antioxidante por el método de Inhibición del radical DPPH.

Método de inhibición de radicales libres por DPPH

Para el proceso se añadió a 1 mL de cada extracto con 1mL de DPPH 0.25mg/mL de etanol. La lectura se realizó a 517nm en diferentes intervalos y proceder a la lectura luego de 30 minutos de reacción total, ya que se ha comprobado que a los 15 minutos el estándar alcanza el estado estable (T_{EC50}) de disminución de concentración inicial de DPPH en un 50% (EC_{50}). Una vez alcanzado ese tiempo, la reacción se ha completado evidenciándose como una decoloración de la muestra inicial, siendo medida su absorbancia en un espectrofotómetro Shen Jia Modelo 721

La capacidad de inhibición de los radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) fue medida de acuerdo con el método descrito por (Concepción, José, & Fulgencio, 1998). Los resultados fueron expresados como porcentaje de inhibición de DPPH basados en la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de inhibición de DPPH} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

Donde:

A control = Absorbancia de la solución de DPPH sin muestra.

A muestra = Absorbancia de la muestra con solución de DPPH.

Evaluación sensorial

Se realizó una evaluación sensorial afectiva con 50 personas. Las edades aceptadas para este estudio eran de 18 a 65 años, sin importar el sexo. Se tomó como referencia a los consumidores del Supermercado, considerados como posibles consumidores del producto.

Se realizó una pequeña inducción a cada evaluador antes de la degustación de las 6 formulaciones, se le entregó 6 muestras a cada evaluador. Todo el proceso de degustación, tuvo una duración de 5 horas aproximadamente.

Para determinar la población a ser sometidos al análisis sensorial, se procuró un nivel de confianza del 95% y una precisión absoluta del 90%. En la Figura 3 se puede observar la fórmula usada para cálculos de población finita (cuando se conoce el total de unidades de observación que la integran).

$$NZ^2 pq$$

$$n = \frac{NZ^2 pq}{d^2(N - 1) + Z^2 pq}$$

Cálculos de población infinita Fuente:(Aguilar-Barojas, 2005)

Donde:

n = tamaño de la muestra

N = tamaño de la población

Z = **valor** de Z crítico (nivel de confianza)

p = proporción aproximada del fenómeno en estudio en la población de referencia

q = proporción de la población de referencia que no presenta el fenómeno en estudio (1 -p)

d = precisión absoluta.

Se entregó una ficha de evaluación estructurada con una escala hedónica de 9 puntos a los estudiantes (**Tabla 11**) y 6 muestras previamente codificadas con 3 letras aleatorias para evitar sesgar a los encuestados. Los dígitos utilizados con las formulaciones a las que corresponden se observan en la **Tabla 12**.

Tabla 11:

Escala Hedónica de 9 puntos usada en la evaluación sensorial Puntaje Nivel de agrado

9	Me gusta muchísimo
8	Me gusta mucho
7	Me gusta moderadamente
6	Me gusta un poco
5	No me gusta ni me disgusta
4	Me disgusta un poco
3	Me disgusta moderadamente
2	Me disgusta mucho
1	Me disgusta muchísimo

Fuente: La investigación

Tabla 12:

Codificación de las formulaciones en la evaluación sensorial

Tratamientos		Descripción		
N.º	Codificación	Mezcla fruta %	Flor de Jamaica g/100ml	
1	ABC	7.5 A+7.5 U	2.0	
2	CBA	5.0 A+7.5 U	2.0	
3	ABA	7.5 A+5.0 U	2.0	
4	ACA	7.5 A+7.5 U	1.5	
5	CAC	5.0 A+7.5 U	1.5	
6	BAC	7.5 A+5.0 U	1.5	

Fuente: La investigación

Análisis en producto terminado

Los parámetros analizados a la mejor formulación fueron realizados en base a la Norma Técnica Ecuatoriana Jugos, Pulpas, Concentrados, Néctares, Bebidas de Frutas y Vegetales NTE INEN 2337:2008., Requisitos. Estos parámetros se realizaron en las instalaciones de SSV Consulting y Cromanova S.A., siguiendo métodos validados, la mayoría descritos en Official Methods of Analysis of AOAC International, que se describen brevemente en los apartados anteriores.

Análisis de Proteína

Se adaptó la metodología descrita en AOAC 984.13 Ed.21, 2019 para su uso en la determinación de la bebida, cada muestra y sus réplicas fueron destiladas por una sola ocasión. Se incluyó también en cada corrida de análisis el uso de un blanco de reactivos el mismo que siguió todo el proceso de la muestra, desde la digestión hasta la destilación, así como un material de referencia. Las muestras y sus réplicas, el blanco y el material de referencia siguieron el procedimiento descrito a continuación:

En tubos de digestión rotulados de 75ml se pesó de 1.8 a 1.9g de Sulfato de sodio y 0.5 a 0.6g de Sulfato cúprico penta-hidratado y luego por triplicado 5.00 ± 0.01 g de muestra previamente homogenizada (en agitación constante).

Se agregó por las paredes del tubo 5ml del Ácido sulfúrico concentrado, luego en el bloque digestor con el programa de temperatura detallado en la **Tabla 13**.

Tabla 13: Rampa de temperatura del bloque digestor en Determinación Proteínas

<u>Min</u>	
30	110
30	250
15	310
90	450

Fuente: La investigación

Temperatura

Transcurridas las 2 horas y 45 minutos apagar el digestor, se sacó los tubos y dejó enfriar, se agregó 25ml de agua destilada, agitó en vortex hasta que se haya disuelto todo el sólido precipitado de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ presente y llevó a volumen de 75 ml con agua destilada y se agitó por inversión para su completa homogenización.

Luego se pipeteo volumétricamente 25 ml del digestado y se colocó en tubos de destilación limpios y previamente rotulados.

Se colocó en el extremo de la manguera de salida del destilador, una fiola de 250mL conteniendo 25mL volumétrico de Ácido Bórico al 3% pre-valorado y 10 gotas del indicador de Tashiro.

Una vez obtenido el destilado este fue transferirlo cuantitativamente a una fiola de 500 ml, se tituló con HCl 0.01N hasta el primer cambio de color de verde a violeta.

Análisis de Grasas Totales

Se adaptó la metodología descrita por Folch 1957, para la determinación de esta bebida, se pesó en tubos de 50 mL 5.0 ± 0.1 g de muestra por triplicado, se taro balones de fondo

plano, previamente lavados, secados, libres de grasa y rotulados para recibir el extracto lipídico obtenido de las muestras

Luego se adicionaron 10 mL de n-Hexano, tapo, agito manualmente por 2 minutos y se dejó en baño de agua a 45 °C por 10 minutos.

Se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos, se retiró la tapa del tubo y se traspasó al balón previamente tarado, el extracto de n-Hexano con ayuda de micropipeta de 100 a 1000µL.

Se repitió este proceso dos veces más al residuo de bebida que queda en el tubo, obteniendo aproximadamente 30 ml al acumular los lavados de n-Hexano.

Finalmente, se rotaevaporó el solvente a una temperatura de 40 °C y 110 rpm, se pesó y se tomó el primer peso estable en aproximadamente 5 segundos.

$$\text{Grasas (\%)} = (M2-M1) \times 100 / m$$

Dónde:

M2 = masa en gramos del balón más el extracto seco.

M1 = masa en gramos del balón vacío.

m = masa en gramos de la muestra

Análisis de colesterol

Se adaptó la metodología descrita por López-Cervantes et al. 2005 para la determinación de esta muestra, se utilizó como estándar Colesterol Sigma Aldrich y una curva funcional preparada en fase móvil a concentraciones que pueden ir desde 1 ppm hasta 400 ppm según tipo de matriz analizada.

Se utilizó los lípidos extraídos anteriormente, los mismos se pasaron a tubo de vidrio tapa rosca de 30 mL de capacidad con ayuda del solvente extractor y se adiciono 25 mg de BHT (para protección de la grasa durante el proceso)

Se evaporada la totalidad del solvente y luego adiciono 5 mL de solución de hidróxido de sodio 0.5N en metanol, se agito los tubos y sumergieron en baño de agua precalentado a 80 °C. Agitándolos cada 5 min por 15 min.

Se retiró luego los tubos de baño caliente y puso en baño de hielo inmediatamente, luego se adicionaron 5 mL de agua y 5 mL de n-hexano y trasvaso cuantitativamente a tubo Eppendorff de 50 mL.

Luego se centrifugo durante 2 minutos a 5000 rpm, se recuperó la fase orgánica (superior) y repitió el lavado con 30 mL de agua. Se pasó a tubos de ensayo de 15 mL y evaporó el n-Hexano y se reconstituyó el residuo en vial con 1 mL de fase móvil y finalmente fue determinado por Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

El contenido del Colesterol se determinó por comparación de las cuentas de área de la regresión lineal pertenecientes a la curva de calibración del estándar de Colesterol, contra la de las muestras luego del proceso de extracción detallado anteriormente.

Análisis de Carbohidratos Totales

Se adaptó la metodología descrita por Clegg-Antrone 1956 para la determinación de esta bebida, este método determina la cantidad de carbohidratos totales, basándose en su contenido de almidones hidrolizables y azúcares solubles.

Se pesó en tubos Eppendorff de 50 mL, 2.5 g de muestra de 0,001 g, se adicionó 10 ml de agua y agito por vortex para correcta homogenización, se añadió 13 ml de ácido perclórico al 52%.

Luego se sonicó durante 20 minutos, agitando cada 5 minutos, se mezcló y filtro a un matraz volumétrico de 250 ml. Se lavó el tubo con 50 mL de agua 2 veces, tapando el tubo y agitando cada vez, aforando el matraz con agua destilada.

Se diluyó 1ml del extracto a 10mL con agua destilada (1:10).

En tubos de ensayo (vidrio) de 15 mL se colocó 5 mL del reactivo anthrone y 1 mL del filtrado diluido (1:10).

Se tapó los tubos y mezclo vigorosamente colocándolos luego en baño de agua hirviendo durante 12 minutos y luego enfrió rápidamente en baño de hielo.

Finalmente se leyó absorbancias a 630 nm después de la curva de calibración.

El contenido del Carbohidratos totales se determinó por comparación de las absorbancias a 630 nm de la regresión lineal pertenecientes a la curva de calibración del estándar Glucosa, contra la de las muestras luego del proceso de extracción detallado anteriormente.

$$\text{Carbohidratos Totales disponibles (\% de Glucosa)} = (25 \times B) / (a \times W)$$

Donde

W = Peso en g de la muestra.

a = Absorbancia del standard diluido.

B = Absorbancia de la muestra diluida

Análisis de Azúcares totales

Se adaptó la metodología Fenol – Sulfúrico Dubois, 1956 para la determinación de esta bebida. El primer paso fue la desproteinización de muestra para lo cual se pesó 2 g de muestra homogenizada y añadió 20 ml de agua destilada, se filtró y tomo 10 mL de filtrado, a este se adiciono 1 mL de una solución de Sulfato de Zinc al 10% y 1 mL de NaOH 0.5N, manteniéndose en reposo durante 15 minutos.

Luego se centrifugo a 200 rpm durante 15 minutos, se utilizó el sobrenadante para la cuantificación de azúcares totales.

En tubos de ensayo (vidrio) se colocaron 0.5 mL de la solución o suspensión acuosa de la muestra, se adiciono 0.5 mL de solución acuosa de Fenol al 5%, y luego cuidadosamente 2.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, finalmente se homogenizo y dejo enfriar por 30 minutos.

El contenido del Azúcares totales se determinó por comparación de las absorbancias a 490 nm de la regresión lineal pertenecientes a la curva de calibración del estándar Glucosa, contra la de las muestras luego del proceso de extracción detallado anteriormente.

$$\text{Azúcares Totales (\% de Glucosa)} = (25 \times b) / (a \times W)$$

Donde

W = Peso en g de la muestra.

a = Absorbancia del standard diluido.

Análisis del Cloruro de Sodio

Se adaptó la metodología NTE INEN 51:2013 (INEN, 2013b) para la determinación de esta bebida. Se pesó con aproximación a mg, aproximadamente 1g de bebida, disolvió en agua destilada y aforo a 100 ml.

Se transfirió una alícuota de 25 ml a un matraz Erlenmeyer de 250 ml, añadió 1 ml de solución al 5 % de cromato de potasio como indicador, y tituló con la solución 0,1 N de nitrato de plata hasta que aparición de un ligero color café-rojizo que persistió luego de una brusca agitación. Se calculó usando la siguiente ecuación:

$C = 5.845 * VN/m$, donde

C= contenido de cloruro de sodio, calculado con referencia al producto seco (y deducido de la sustancia deshidratante, en porcentaje de masa.

V = volumen de la solución de nitrato de plata empleado en la titulación, en ml.

N = normalidad de la solución de nitrato de plata.

m = masa de la muestra contenida en la alícuota ensayada, deducida del contenido de humedad, en g.

Análisis de Compuestos Fenólicos Totales

Se adaptó la metodología Folin-Ciocalteu 1927, para su determinación en esta bebida. La concentración de fenoles totales en la bebida fue medida por espectrofotometría, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción. El agente oxidante utilizado fue el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Para la curva de calibración se utilizó una solución estándar de ácido gálico, de la cual se prepararon cuatro concentraciones de 2.5 a 25.0 ppm con agua destilada.

A la solución estándar y a las muestras previamente preparadas se les adicionaron 250 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N. Posteriormente se adicionaron 1250 μL de Na_2CO_3 al 20% y se dejó reposar durante horas. La absorbancia fue medida a 760 nm

El contenido de Compuestos Fenólicos Totales se determinó por comparación de las absorbancias a 760 nm de la regresión lineal pertenecientes a la curva de calibración del estándar Acido Gálico, contra las absorbancias de las muestras luego del proceso de coloración detallado anteriormente.

Análisis de Flavonoides Totales

Se adaptó la metodología descrita por Olga Lock et al, 2006, para la determinación de esta bebida. Se pesó 20 g de muestra en tubo Eppendorf, adicionar 20 mL de una solución al 80% de etanol.

Luego se sónico por 30 minutos a 60 °C, se dejó enfriar, filtro sobre matraz de 50 mL, y llevo a volumen con la solución de etanol al 80%. Se tomó 5 mL volumétricos y llevo a matraz de 10 mL, adiciono 200 μL de solución de acetato de sodio 1M y dejo reposar 40 minutos.

La solución se llevó a volumen con solución de etanol y fue leída en el espectrofotómetro a 415 nm. Para la curva de calibración se pesó y disolvió el estándar de Quercetina en la

solución de etanol. Se preparó diluciones entre 30 y 2 ppm desarrollando color adicionando 200 μL de solución de acetato de sodio 1M y se siguió el mismo procedimiento que la muestra.

El contenido de Flavonoides Totales se determinó por comparación de las absorbancias a 415 nm de la regresión lineal pertenecientes a la curva de calibración del estándar de Quercetina, contra las absorbancias de las muestras luego del proceso de coloración detallado anteriormente.

Análisis de Saponinas

Se adaptó la metodología descrita en NTE INEN 1672:2013 (INEN, 2013a), para la determinación en esta bebida. Este método físico se basa en las propiedades tensoactivas de las saponinas. Cuando se disuelven en agua y se agitan, las saponinas dan una espuma estable, cuya altura puede correlacionarse con el contenido de saponinas en los granos.

Se colocó $5.0 \pm 0,02$ g de bebida en un tubo de ensayo, añadió 5,0 ml de agua destilada y tapo el tubo. Se puso en marcha el cronómetro y sacudió fuertemente el tubo durante 30 segundos, se dejó el tubo en reposo durante 30 minutos, luego sacudió otra vez durante 30 segundos.

Se dejó el tubo en reposo durante 30 minutos o más, luego sacudió otra vez durante 30 segundos. Dar al tubo una última sacudida fuerte. Finalmente se dejó el tubo en reposo durante 5 minutos y luego midió la altura de espuma con aproximación al 0,1 cm.

Análisis de Metales Pesados

Se adaptó la metodología descrita en AOAC Ed. 21, 999.11, para la determinación de esta bebida. Se pesó en vasos de precipitación de 100 ml, (25.0 ± 0.01) g de muestra para el análisis de metales pesados.

Se agregó lentamente y por las paredes del tubo, 6 ml de ácido nítrico concentrado y calentó a 350°C por unos 10 minutos y se adiciono 2 ml de ácido clorhídrico. Se dejó en ebullición hasta la eliminación de los vapores amarillos del ácido nítrico y que la solución sea traslúcida. No hervir a sequedad en ningún momento.

Se dejó enfriar la solución digestada y luego fue trasvasada en matraces de 10 ml para llevándolos a volumen con ácido nítrico 3%.

Se encendió el equipo Espectrofotómetro de Absorción Atómica Perkin Elmer Analyst 200, previo a la utilización del equipo, se mantuvo encendido, junto con la lámpara de Cobre durante un mínimo de 4 minutos para estabilizar el sistema.

Se verificó la estabilidad de la línea base, mediante la lectura continua de las fluctuaciones en unidades de absorbancia. Estas lecturas no excedieron valores de: ± 0.001 durante 3 minutos de recorrido en estado de lectura continua.

La calibración del sistema analítico se basa en la preparación de una curva de calibración funcional y la presencia de material referencia. La curva de calibración funcional incluyo un mínimo de 4 puntos de concentraciones variables.

En el modo de lectura continua, se identificó la presencia del metal, basándose en la deflexión de respuesta por parte del detector y la lectura de absorbancia arrojada por el sistema.

Se comenzó con las lecturas de la curva para la calibración del equipo, analizando de menor a mayor concentración y luego con las lecturas de los extractos de la bebida.

Se realizó un cálculo de regresión lineal a partir de la concentración teórica de los estándares expresada en partes por millón versus el resultado de absorbancia para cada nivel de concentración.

Usando la ecuación lineal obtenida a partir de la curva de calibración elaborada con las diluciones de estándar y los datos de cuenta de absorbancia arrojados por las muestras, se determinó el contenido de cada metal en la bebida mediante la siguiente ecuación:

Los metales analizados fueron: Arsénico, Cobre, Zinc, Hierro, Plomo.

Concentración Metal= $[C]*F/g$

Donde:

[C]= Concentración del metal en el tubo, obtenido a partir de la ecuación lineal.

F= Factor de dilución

g= Peso (g) de la muestra.

Análisis de Aerobios Totales

Se utilizó la metodología descrita en BAM FDA, para su determinación en esta bebida, Se pesó 1 g de muestra y se colocó en frascos estériles con 9 ml de agua de peptona, agitando por 1 minuto.

Se preparó diluciones de 10^2 , 10^3 a partir de la dilución madre que equivale a 10^1 , se toma 1 ml. y se transfiere a un tubo que contiene 9 ml de agua de peptona; este tubo corresponde a 10^2 se agita y se transfiere del tubo de 10^2 , 1 ml a un tubo que contenía 9 ml de agua de peptona así obtenemos 10^3

De cada dilución se colocó 1 ml con aproximadamente 20 ml del agar de contaje de placas previamente fundido y enfriado en un baño de agua, a su vez se realizó un control del agar. Se rotaron las placas de derecha a izquierda, arriba y abajo con la finalidad de mezclar la muestra con el agar, luego se dejó enfriar el agar aproximadamente 5 minutos y finalmente se incubaron las placas en forma invertidas por espacio de 48 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Se contó las colonias en las dos diluciones y reporto como UFC/g.

Análisis de Hongos y Levaduras

Se utilizó la metodología descrita en BAM FDA, para su determinación en esta bebida. Se pesó 1 g de muestra y se colocó en frascos estériles con 9 ml de agua de peptona, agitando por 1 minuto.

Se preparó diluciones de 10^2 , 10^3 a partir de la dilución madre que equivale a 10^1 , se toma 1 ml. y se transfiere a un tubo que contiene 9 ml de agua de peptona; este tubo corresponde a 10^2 se agita y se transfiere del tubo de 10^2 , 1 ml a un tubo que contenía 9 ml de agua de peptona así obtenemos 10^3

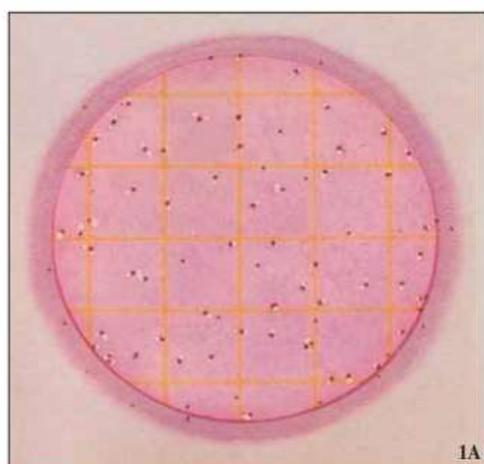
De cada dilución se colocó 1 ml con aproximadamente 20 ml del agar Saboreaud Dextrosa, previamente fundido y enfriado en un baño de agua, a su vez se realizó un control del agar. Se rotaron las placas de derecha a izquierda, arriba y abajo con la finalidad de mezclar la muestra con el agar, luego se dejó entrar el agar aproximadamente 5 minutos y finalmente se incubaron las placas en forma invertida por 5 a 7 días a temperatura ambiente. Se contó las colonias de las 2 diluciones y se reportó como UFC/g.

Análisis de Coliformes Totales y Fecales

Se utilizó la Técnica de Petrifilm™. Placas para Recuento de Coliformes, para la determinación de esta bebida, la misma esta validada en los siguientes métodos oficiales: Método Oficial AOAC 991.14 (todos los alimentos): Incubar $24\text{h} \pm 2\text{h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, se muestra en la Ilustración 1 una guía de reporte para Coliformes Totales.

Ilustración 1:

Guía Interpretación Coliformes Totales.



65 coliformes, AOAC® Official Methods

Lectura según los AOAC®, Official MethodsSM (986.33, 989.10 y 991.14)

Incubación :

- *Enumeración de coliformes en leche, leche cruda y productos lácteos (Métodos Oficiales 986.33 y 989.10) :* incubar 24h +/- 2h a 32°C +/- 1°C.
- *Enumeración de coliformes en todos los productos, excepto los arriba mencionados (Método Oficial 991.14) :* incubar 24h +/- 2h a 35°C +/- 1°C.

Interpretación :

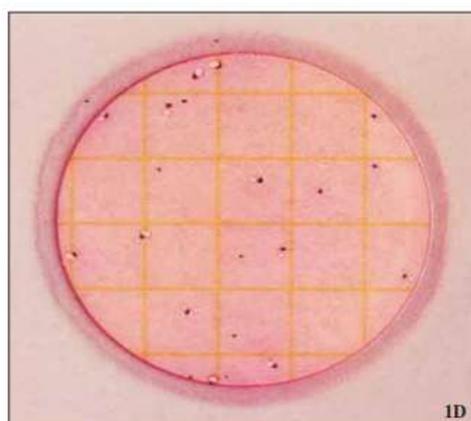
- Coliformes : Contar todas las colonias rojas con gas.

Fuente: (PETRIFILM 3M, 2005)

- Método validado AFNOR 3M 01/2-09/89C: Incubar 24h ± 2h a 44°C ± 1°C. Se muestra en la Ilustración 2 una guía de reporte para Coliformes Fecales (Termo istentes)

Ilustración 2:

Guía Interpretación Coliformes Fecales.



21 coliformes, método aprobado AFNOR comparado con el método NF V08-017.

Lectura según la aprobación AFNOR para coliformes termotolerantes (certificados número 3M 01/2-09/89C)

Incubación :

24h +/- 2 a 44°C +/- 1°C

Interpretación :

- *Comparación con el método NF V08-017 :* Contar todas las colonias rojas con o sin gas.

Fuente: (PETRIFILM 3M, 2005)

3.5.4 Plan de Procesamiento de Información

Para la elaboración de la bebida se buscó una normativa técnica ecuatoriana aplicable para poder cumplir con los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y contaminantes establecidos en un; así mismo se siguieron los lineamientos de las normas internacionales,

del Codex Alimentario, además se realizaron estudios farmacognósticos que permitieron completar los objetivos planteados en este trabajo.

3.5.5 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en este estudio fueron analizados por un análisis de regresión lineal, parámetros de precisión, dispersión de datos, error y robustez mediante un análisis de Anova correlacionando las variables involucradas.

Se realizó un análisis de una dirección de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias significativas entre las medias de las muestras, con un nivel de significancia a ser considerado de $P < 0.05$.

Los resultados fueron procesados en el programa de computador Excel Versión Office Profesional 2013

4 Análisis e interpretación de los resultados

4.1 Diseño de la bebida

4.1.1 Preparación de deshidratado de Flor de Jamaica

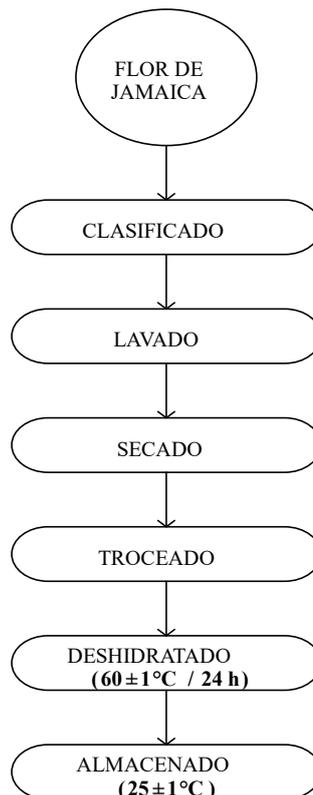
El proceso de deshidratación de la Flor de Jamaica se encuentra a forma de diagrama de flujo en la **Figura 3**.

Se buscó la mejor forma de deshidratación: temperaturas, tiempos de secado, forma de almacenado y preservación del color característico de la especie. Se utilizó un procedimiento de secado de 24h a 60°C, asegurando tiempos prolongados a temperaturas bajas, que nos ayudaron a mantener las propiedades químicas y organolépticas del producto final.

Para la preparación de la infusión de Flor de Jamaica se consideró a (Prenești, Berto, Daniele, & Toso, 2007b) quien hirvió 2.000 g de flores desecadas a 100 °C durante 3 min con 100 ml de agua, obteniendo la mayor extracción de los compuestos fenólicos y una elevada actividad antioxidante.

Figura 3:

Proceso deshidratación de la Flor de Jamaica



Fuente: La investigación

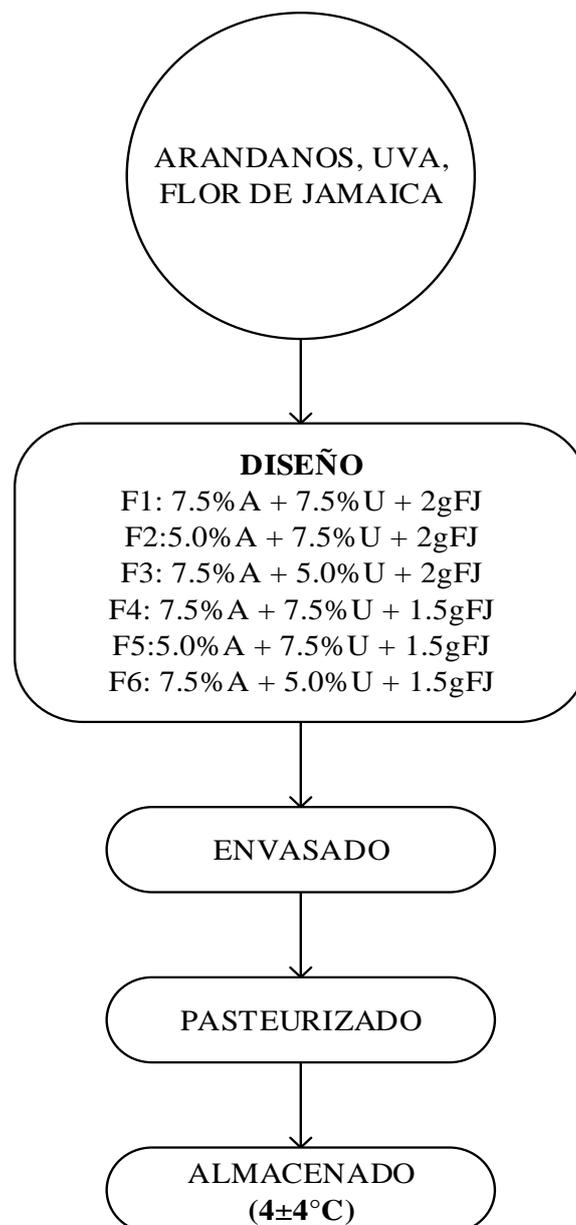
4.1.2 Preparación de la Bebida

Usando como base acuosa la Infusión de Flores de Jamaica, se usó como referencia las concentraciones de frutas Arándanos y Uva que se encuentran en la Tabla 8.

Utilizando un procesador de alimentos se realizó la bebida, se adicionó el azúcar y los conservantes, ácido cítrico y benzoato de sodio, como se observa en la Figura 4.

Figura 4:

Proceso Elaboración de la Bebida Antioxidante

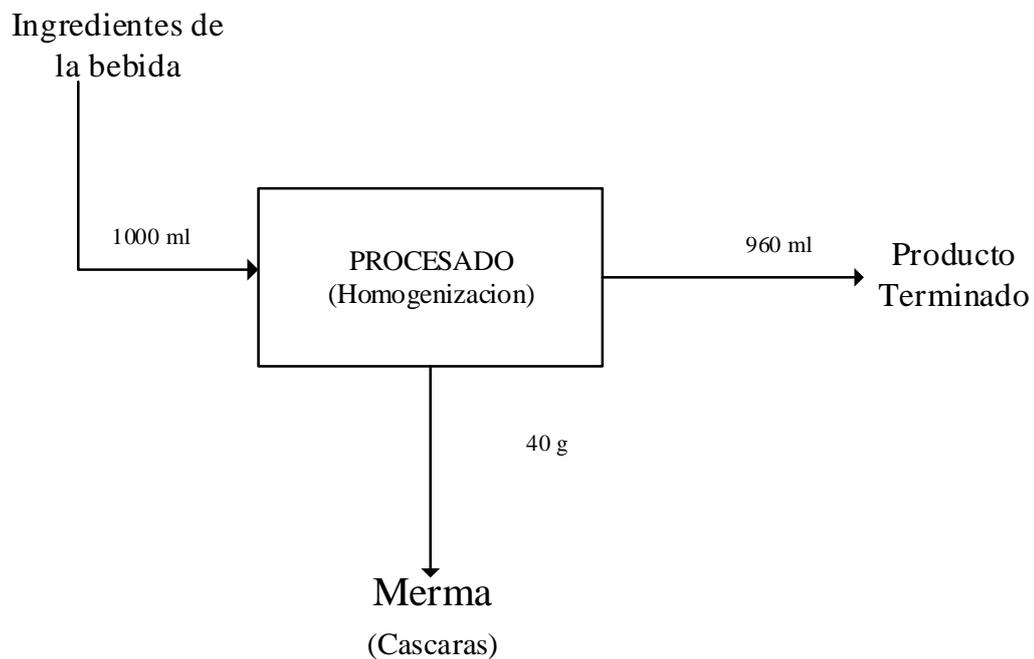


Fuente: La investigación

Se realizó un balance de materia para determinar el porcentaje de merma, una vez realizado el proceso. (Figura 5)

Figura 5:

Balance de Masas elaboración de la bebida.



Fuente: La investigación

4.1.3 Pasteurizado y Envasado

Una vez realizada la bebida, fue envasada en botellas de vidrio transparentes de capacidad de 300 ml, con tapa de aluminio, fueron sometidas a proceso de pasteurizado para garantizar la inocuidad y alargar el tiempo de vida útil del producto: procedimiento considerado: “punto crítico de control”. La pasteurización fue realizada con el producto terminado ya envasado en las botellas de vidrio, las mismas fueron sumergidas en baño maría a una temperatura de 90°C por 5 min.

Tomando en consideración las características de los componentes de la bebida y los productos que se encuentran en el mercado de características similares, se propone un tiempo de vida útil para este producto de 3 meses, en condiciones de 2-8 °C de

temperatura (Se realizará estudio de estabilidad bajo este contexto de tiempo y temperatura).

4.2 Caracterización fitoquímica

Se realizó caracterización fitoquímica de la bebida F3 en base a su posible contenido de compuestos activos vegetales descritos en el apartado de marco teórico, tales como, compuestos fenólicos totales, Flavonoides totales, Taninos totales, prueba cualitativa de alcaloides (Dragendorff, Wagner y Mayer) y Saponinas (Método espuma) que se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Resultados de compuestos Activos.

Parámetro	Resultado obtenido	Unidades	Técnica
	F3		
Compuestos Fenólicos Totales	555.78	mg/L	Espectrofotométrica
Flavonoides Totales	64.26	mg/L	Espectrofotométrica
Taninos totales	2475.15	mg/L	Espectrofotométrica
Alcaloides (Dragendorff)	-	+ o -	Colorimétrica
Alcaloides (Wagner)	-	+ o -	Precipitación
Alcaloides (Mayer)	-	+ o -	precipitación
Saponinas	0.4	%	Método Espuma

Fuente: La investigación

Se utilizó a su vez la técnica de Cromatografía de Gases con acoplamiento a detector de masas para la extracción de los compuestos en la bebida y de esta manera realizar un screening fitoquímico, al identificar por medio de esta metodología, las masas de los componentes encontrados y de esta manera poder describirlos.

Se utilizó una extracción según los detalla (Delange, Rico, Pérez, Canavaciolo, & Leyes, 2012)., se homogenizó la bebida mediante constante agitación, y se tomó un volumen de aproximadamente 5 ml de esta. Se utilizó n-hexano como extractor, el mismo que fue luego separado, llevado a sequedad y luego reconstituido con cloroformo para finalmente llevar a vial previo inyección; se utilizó las condiciones cromatográficas detalladas en la **Tabla 15.**

Se utilizó una columna TG-SQC 30 m, 0,25 mm y 0,25 um en el equipo GC MS Thermo Fisher Scientific Trace 1100.

Tabla 15:

Condiciones cromatográficas de rampa de temperatura

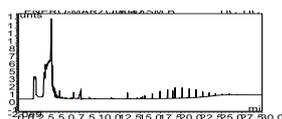
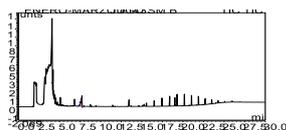
Tiempo de Retención (min)	Tasa de Incremento (°C/min)	Objetivo de Temperatura	Tiempo de mantenimiento
2.000	0.00	60.0	2.00
9.000	20.00	200.0	0.00
24.000	8.00	320.0	0.00
30.000	Detener Corrida		

Fuente: La investigación

Luego de realizar las corridas cromatográficas de los extractos, se obtuvo el cromatograma que se puede observar en la Ilustración 3, en este se pudo encontrar la presencia de varios componentes como Ácido Ascórbico (Ilustración 4), Digitoxina (Ilustración 5) y Tumerona (Ilustración 6).

Ilustración 3:

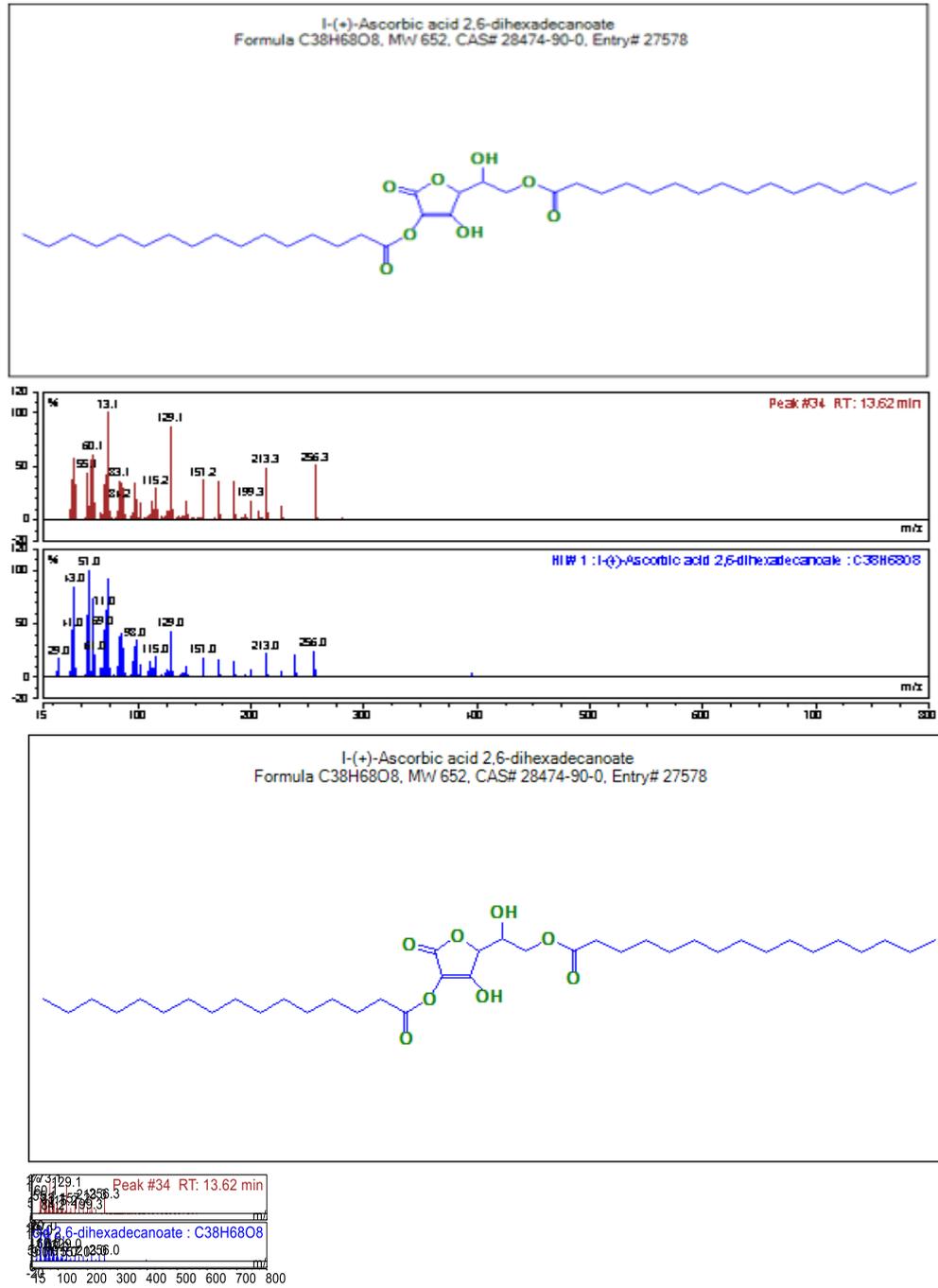
Cromatograma Bebida antioxidante F3



Fuente: La investigación

Ilustración 4:

Espectro de Masas de Ácido Ascórbico

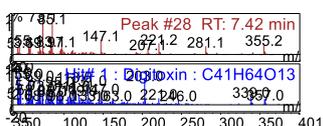
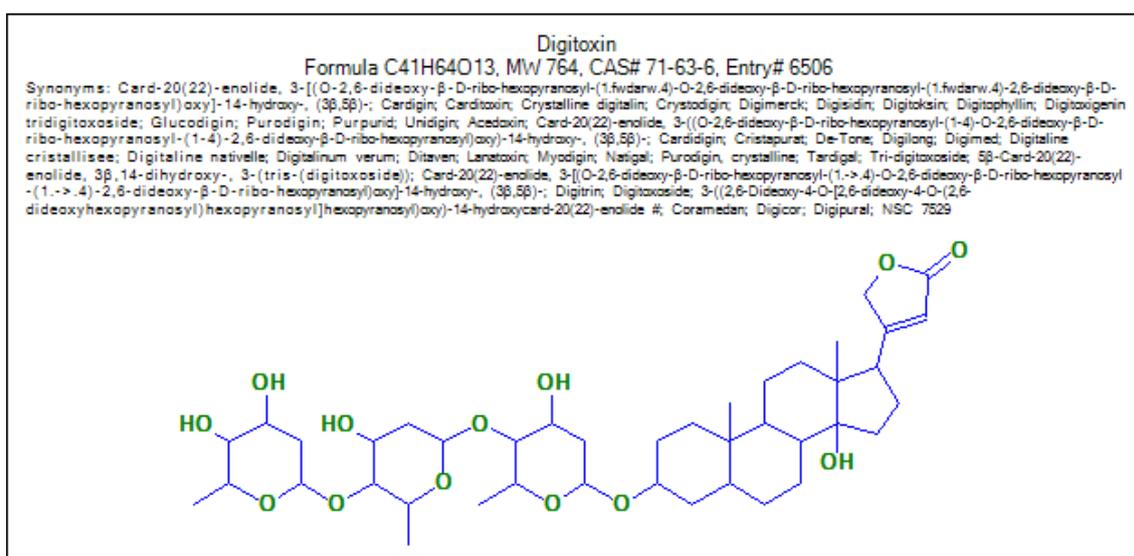


Fuente: La investigación

Los jugos de frutas son fuente de muchos antioxidantes biológicamente activos. El ácido ascórbico conocido por su actividad antioxidante y antiinflamatoria, mientras que los compuestos fenólicos presentan propiedades cardio protectoras, actividad anticancerígena y efecto sobre las enfermedades relacionadas con la edad (Bartoszek & Polak, 2016). Debido a que se ha logrado detectar la presencia de este importante antioxidante en la bebida, podemos decir que esta tiene efecto positivo ante el estrés oxidativo y ayuda al sistema inmunológico.

Ilustración 5:

Espectro de Masas de Digitoxina



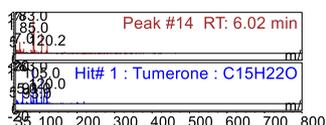
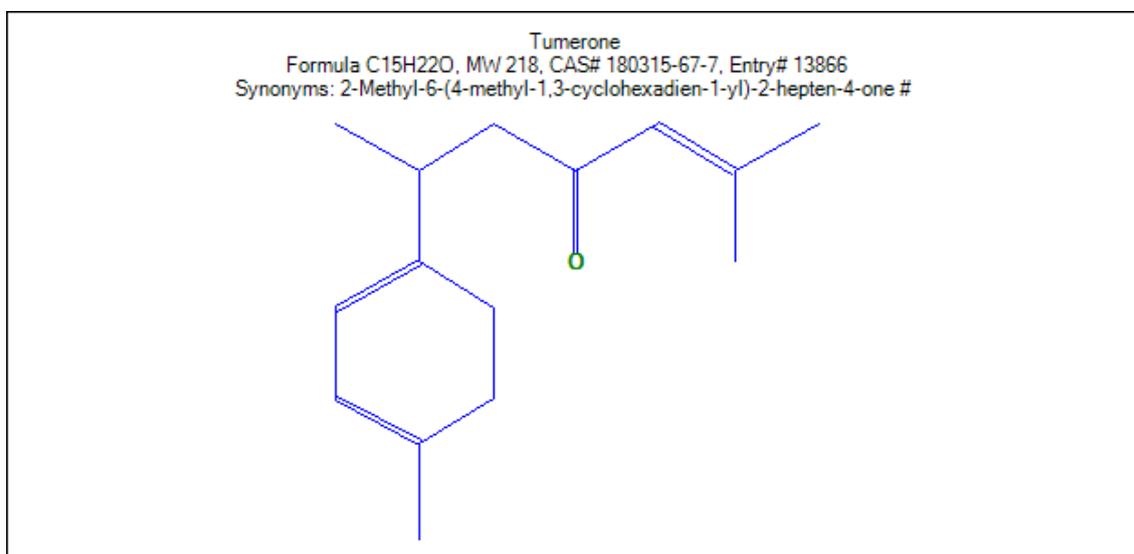
Fuente: La investigación

La digitoxina es un glucósido cardioactivo que se ha usado desde hace mucho en el tratamiento de insuficiencias cardiacas, junto con la digoxina se absorben casi

completamente por vía digestiva a diferencia del lanatósido C, por lo cual se prefieren para administración por vía bucal (Pintos & Señor, 2019).

Ilustración 6:

Espectro de Masas de Tumerona



Fuente: La investigación

La tumerona está presente especies vegetales como el curry, puede acelerar la recuperación cerebral, un estudio alemán hizo análisis en ratones para analizar este efecto, el mismo inyectó la tumerona a los animales y analizaron sus cerebros a través de tomografías. Así observaron que las partes responsables del crecimiento de células cerebrales se veían más activas después de la aplicación del compuesto (Morais & Rebelo, 2014), el consumo de esta bebida entonces podría ayudar a contrarrestar los efectos del Alzheimer y para quienes padecieron derrames cerebrales, para lo que se tendrían que realizar estudios complementarios.

4.3 Descripción sensorial

4.3.1 Análisis Sensorial

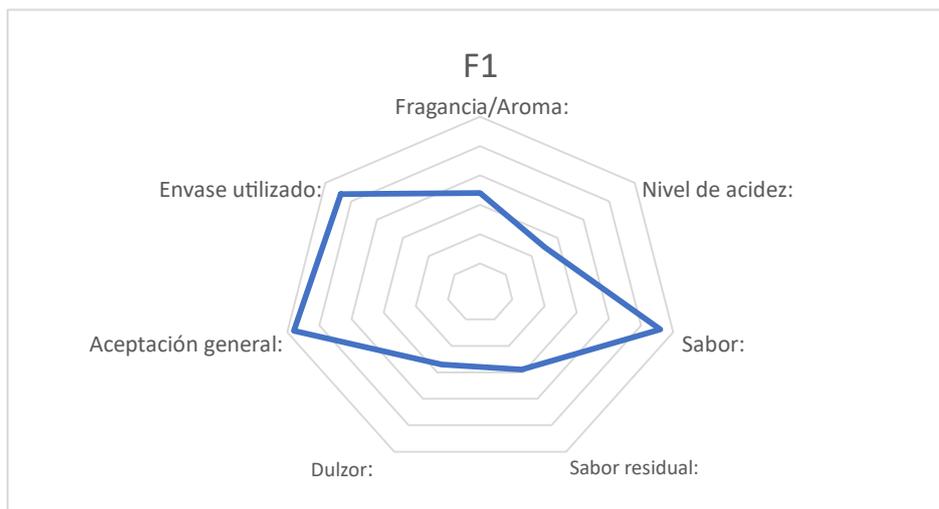
Siguiendo el diseño experimental, se propuso el desarrollo de 6 formulaciones en donde varían los niveles de arándano azul y uva roja, mientras que se usan 2 constantes de flor de Jamaica, una de 1.5g y otra de 2g.

El total de la población evaluada fue de 50 consumidores del supermercado de alimentos, estudiándose los siguientes atributos: fragancia/aroma, nivel de acidez, sabor, sabor residual, dulzor, aceptación general y envase utilizado; los mismos que se muestran en la ficha de evaluación generada para el análisis y que se incluye en el **Anexo 14**. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Para la fórmula 1 se observó que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 6, siendo el atributo “aceptación general” de 7.56. Esta fórmula obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 7,21, es decir, me gusta moderadamente. Como se muestra en la **Gráfica 1**,

Gráfica 1:

Resultados de Atributos Sensoriales – F1

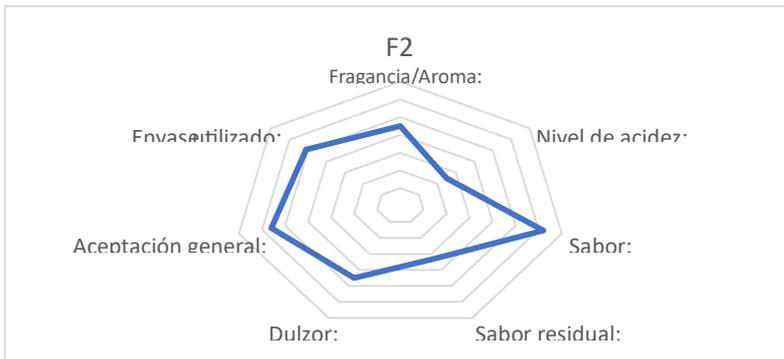


Fuente: La investigación

Para la Formulación 2 se observa que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 6, siendo el atributo “aceptación general” de 7.52, esta formulación obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 7,31, es decir, me gusta moderadamente. Como se muestra en la **Gráfica 2**,

Gráfica 1:

Resultados de Atributos Sensoriales – F2

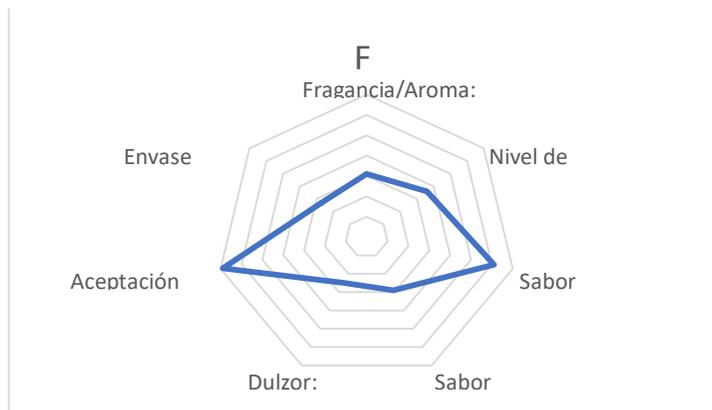


Fuente: La investigación

Para la Formulación 3 se observa que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 7, siendo el atributo “aceptación general” de 8.18, esta formulación obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 7,59, es decir, me gusta mucho. Como se muestra en la **Gráfica 3**,

Gráfica 3:

Resultados de Atributos Sensoriales – F3.

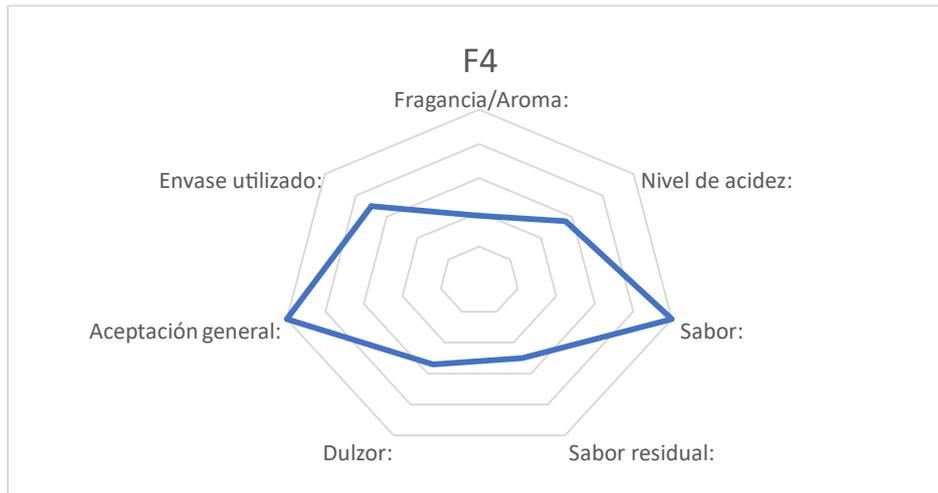


Fuente: La investigación

Para la Formulación 4 se observa que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 6, siendo el atributo “aceptación general” de 7.40. Esta fórmula obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 7,07, es decir, me gusta moderadamente. Como se muestra en la **Gráfica 4**,

Gráfica 4:

Resultados de Atributos Sensoriales – F4

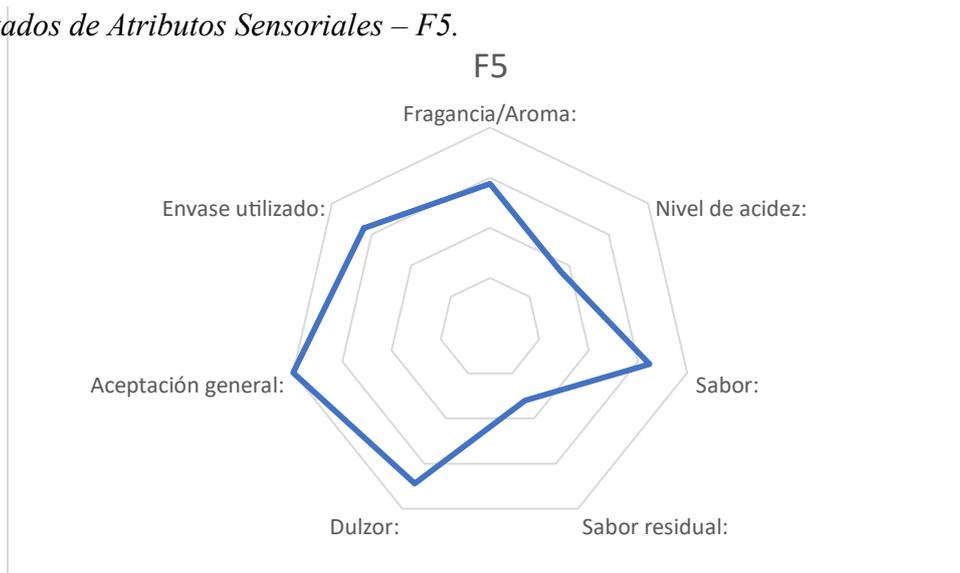


Fuente: La investigación

Para la Formulación 5 se observa que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 6, siendo el atributo “aceptación general” de 7.50. Esta fórmula obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 6.94, es decir, me gusta moderadamente. Como se muestra en la **Gráfica 5**,

Gráfica 5:

Resultados de Atributos Sensoriales – F5.



Fuente: La investigación

Para la Formulación 6 se observa que todos los atributos evaluados dan una calificación cualitativa de mayor o igual a 6, siendo el atributo “aceptación general” de 7.58. Esta

fórmula obtuvo una calificación promedio de todos los atributos evaluados de 7.18, es decir, me gusta moderadamente. Como se muestra en la **Gráfica 6**,

Gráfica 6:

Resultados de Atributos Sensoriales – F6,



Fuente: La investigación

Como se puede observar en la **Tabla 16**, las calificaciones obtenidas en cada una de las formulaciones se encuentran relativamente próximas. La fórmula F3 presenta la mayor aceptación, mientras que la F5 obtuvo la menor aceptación por parte de los panelistas.

Tabla 16:

Resultados de la aceptación general de las bebidas evaluadas

Fórmulas	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Código:	ABC	CBA	ABA	ACA	CAC	BAC
Fragancia/Aroma:	7,08	7,30	7,42	6,78	6,94	7,12
Nivel de acidez:	6,90	6,90	7,52	6,96	6,40	7,00
Sabor:	7,52	7,64	8,02	7,40	7,12	7,42
Sabor residual:	6,98	7,06	7,38	6,90	6,30	6,56
Dulzor:	6,94	7,30	7,30	6,94	7,22	7,14
Aceptación general:	7,56	7,52	8,18	7,40	7,50	7,58
Envase utilizado:	7,48	7,42	7,34	7,10	7,10	7,44
Promedio de atributos	7,21	7,31	7,59	7,07	6,94	7,18

Fuente: La investigación

Ilustración 7:
Análisis Estadístico ANOVA del parámetro Aceptación General.

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
F1	50	378	7,56	0,659592	
F2	50	376	7,52	0,989388	
F3	50	409	8,18	0,39551	
F4	50	370	7,4	0,897959	
F5	50	375	7,5	0,989796	
F6	50	379	7,58	1,513878	

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	19,57666667	5	3,915333333	4,313528	0,000839259	2,244703328	
Dentro de los grupos	266,86	294	0,907687075				
Total	286,4366667	299					

Fuente: La investigación

De acuerdo con los resultados de la *Aceptación General* de las formulaciones, fluctúan en un rango de 7 a 8, es decir” me gusta moderadamente y me gusta mucho”, demostrando que el producto es sensorialmente aceptado por los consumidores, siendo la formulación F3 la de mayor aceptación sensorial con un contenido de 7.5% Arándano Azul, 5.0% de Uva Roja, y 2.0g/100ml Infusión de Flor de Jamaica, como se muestra en la **Grafica 7**.

Gráfica 7:
Aceptación general de las formulaciones evaluadas



Fuente: La investigación

4.4 Análisis del producto terminado

4.4.1 Análisis Físicoquímicos y Bromatológicos

De acuerdo con la **Tabla 17**, se puede evidenciar que la muestra analizada cumple con los parámetros establecidos en la normativa ecuatoriana NTE INEN 2337:2008.

Tabla 1:

Resultados Físicoquímicos y Bromatológicos

Requisito	Resultado obtenido F3	Min	Max	Referencia Bibliográfica
% Proteína	0.10	-	-	
% Carbohidratos	8.02	-	-	
% Azúcares totales	7.41	-	-	
% Grasas	0.4	-	-	NTE INEN
% Colesterol	0.0	-	-	2337:2008
% Cloruro de Sodio	0.0	-	-	
Acidez Cítrica	1.2	>1.0	-	
°Brix	9	5	-	
pH	2.7	-	<4.5	

Fuente: La investigación

4.4.2 Microbiológico

De acuerdo con la **Tabla 18**, el análisis microbiológico de la bebida F3, cumple con lo establecido en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2337:2008, Requisitos.

Tabla 18:

Resultados microbiológicos

Requisito	Resultado obtenido F3	Min	Max	Referencia Bibliográfica
Aerobios totales UFC/g	<10	-	<10	
Coliformes totales UFC/g	Ausencia	-	<3	NTE INEN
Coliformes fecales UFC/g	Ausencia	-	<3	2337:2008
Mohos y Levaduras UFC/g	<10	-	<10	

Fuente: La investigación

4.4.3 Contaminantes

De acuerdo con la **Tabla 19**, el contenido de contaminantes de la bebida F3, cumple con lo establecido en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2337:2008, Requisitos.

Tabla 19:

Resultados Contaminantes

Metales	Resultado obtenido mg/Kg F3	Max mg/Kg	Referencia Bibliográfica
Arsénico	<0.02*	0.2	NTE INEN 2337:2008
Cobre	<0.5*	5.0	
Zinc	<0.5*	5.0	
Hierro	<5.0*	15.0	
Plomo	<0.01*	0.05	

Menor al límite de cuantificación

Fuente: La investigación

4.4.4 Análisis de la actividad antioxidante de las formulaciones de infusión

Los resultados obtenidos para los compuestos antioxidantes de cada formulación propuesta se muestran en la **Tabla 20**, donde se muestran los resultados en IC₅₀ relativo a Acido Gálico.

Tabla 20:

Actividad antioxidante por inhibición de DPPH expresada en IC₅₀ de ácido gálico (mg/ml) de formulaciones de bebida antioxidante.

FORMULACIONES	% ARÁNDANO	% UVA	g/100 ml FLOR DE JAMAICA	*RESULTADO IC ₅₀ (Ac. Gálico mg/mL)
F1	7.5	7.5	2.0	1995.54
F2	5.0	7.5	2.0	2022.55
F3	7.5	5.0	2.0	1997.86
F4	7.5	7.5	1.5	2025.71
F5	5.0	7.5	1.5	2012.19
F6	7.5	5.0	1.5	2012.83

*Promedio del análisis por triplicado de Actividad Antioxidante.

Fuente: La investigación

El DPPH es un radical libre estable y acepta un electrón o un radical de hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética estable. El método es ampliamente aceptado ya que es independiente de la polaridad de los extractos de muestras y es efectivo mientras se examinan grandes volúmenes de muestras, la determinación de la actividad antioxidante de un extracto de muestra en base a los efectos captadores generales del

radical DPPH es uno de los ensayos antioxidantes empleados habitualmente. Este método se considera rápido, sencillo y muy conveniente. (Magalhaes et al., 2008; Alam et al., 2012).

La mayor cantidad de compuestos activos que otorgan actividad antioxidante son los compuestos fenólicos y las antocianinas (Gaviria Montoya, 2009), a su vez según varios reportes, la actividad antioxidante de la uva se debe a la presencia de fito-constituyentes activos como compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, etc. (Devi & Singh, 2017). La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta rica en compuestos bioactivos, tales como polifenoles, flavonoides, vitaminas, fibra y antocianinas; su actividad antioxidante es directamente proporcional a la concentración de los compuestos mencionados (Batalla Mayoral, Vega-Hernández, & Silveti-Loeza, 2019)

En los últimos años, la atención se ha centrado en las propiedades antioxidantes de los componentes dietéticos de los alimentos derivados de plantas. Los antioxidantes actúan en respuestas biológicas a la inflamación y la inmunidad, funcionan como mecanismos de señalización para la regulación redox, incluso los niveles mínimos de estrés oxidativo son altamente detectados y el mecanismo antioxidante protector se pone en acción, que es esencial para el mantenimiento de la integridad estructural de proteínas.

Para el caso de nuestras formulaciones se logró determinar que todas se encontraron en un intervalo entre 1990 a 2100 mg/ml de IC50 relativo a Acido Gálico, tal como se muestra en la Tabla 21 de Resultados generales de Actividad Antioxidante.

Tabla 21:

Resultados de Actividad Antioxidante del análisis por triplicado de las 6 formulaciones.

Formulaciones	F1	F2	F3	F4	F5	F6
n1	1995,23	2025,15	1997,96	2023,14	2015,23	2010,10
n2	1996,14	2022,35	1999,85	2025,15	2009,36	2015,25
n3	1995,25	2020,14	1995,78	2028,84	2011,98	2013,15
Promedio	1995,54	2022,55	1997,86	2025,71	2012,19	2012,83

Fuente: La investigación

El análisis estadístico ANOVA calculado en Microsoft Excel 2013 aplicado a las 6 formulaciones indico que si existen diferencias significativas entre las mismas tal como se muestra en la Ilustración 8.

Ilustración 8:

Análisis Estadístico ANOVA del parámetro Actividad Antioxidante DPPH

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
F1	3	5986,62	1995,54	0,2701 6,3040
F2	3	6067,64	2022,54667	3333 4,1482
F3	3	5993,59	1997,86333	3333
F4	3	6077,13	2025,71	8,3577
F5	3	6036,57	2012,19	8,6473 6,7058
F6	3	6038,5	2012,83333	3333

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2297,97783	5	459,595566	80,084 7262	8,56645E-09	3,105875239
Dentro de los grupos	68,8664	12	5,73886667			
Total	2366,84423	17				

Fuente: La investigación

Las fórmulas F1 y F3 presentaron una mayor actividad antioxidante por el método de captación del radical DPPH, pese a que en las 6 formulaciones existen diferencias significativas. Al hacer un nuevo ANOVA entre las formulaciones con mayor actividad, se encontró como resultado que entre las formulaciones F1 y F3 no existen diferencias significativas, como se puede observar en la Ilustración 9.

Ilustración 9:

Comparación estadística DPPH entre F1 y F3

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
F1	3	5986,62	1995,54	0,27
F3	3	5993,59	1997,863333	4,148

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	8,09681667	1	8,096816667	3,665	0,128088255	7,70864742
Dentro de los grupos	8,83666667	4	2,209166667			
Total	16,9334833	5				

Fuente: La investigación

Siendo la formulación F3 la que tuvo una mayor aceptación sensorial, y al no encontrarse diferencias significativas entre las F1 y F3 que fueron las de mayor actividad antioxidante, se escogió a la bebida F3 como la mejor fórmula.

4.5 Costos de producción

4.5.1 Empaquetado y etiquetado

Para el empaque y rotulado del alimento se tomó de referencia la Norma Técnica Ecuatoriana de Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos (NTE INEN 1334-1). De acuerdo con los requisitos establecidos en la normativa, el rótulo del empaque fue diseñado (Figura 7) con los siguientes componentes:

- **Nombre del alimento:** JAMAICA MIX (Bebida antioxidante de flor de Jamaica, uva roja y arándanos azules)
- **Lista de ingredientes:** Agua purificada, azúcar, Arándanos azules, Uvas rojas, Flor de Jamaica, ácido Cítrico y Benzoato de Sodio. Contenido neto: 300 ml
- **Fabricado por:** Q.F. Stuard Montoya Vizuete
- Producto Ecuatoriano
- **Lote:** De acuerdo con la fecha de elaboración.

Figura 6:

Propuesta de etiqueta Jamaica Mix.



Fuente: La investigación

4.5.2 Análisis de costos de materia prima

Los costos calculados fueron referenciales a los precios de Arándanos Azules, Uvas Rojas y Flor de Jamaica de los supermercados de la Corporación el Rosado, quienes expenden estos productos. El detalle del costo y precio de venta al público referencial

para una producción de 800 unidades de producto correspondientes a 240 litros/día se detallan en la Tabla 22

Tabla 22:

Costos de producción de 240 Litros/día (800 bebidas)

INGREDIENTES	Cantidad (240 L)	Costo 1Kg o L	Costo Total
Agua purificada	189.84 L	0.25	1995.54
Azúcar (Sacarosa)	14.40 Kg	\$1.00	2022.55
Arándanos Azules	18.00 Kg	\$20.00	1997.86
Uvas Rojas	12.00 Kg	\$4.00	2025.71
Flor de Jamaica	4.80 Kg	\$10.00	2012.19
Ácido Cítrico	0.72 Kg	\$5.00	2012.83
Benzoato de Sodio	0.24 Kg	\$2.50	\$0.60
Botellas	0.30 unidad		\$240.00
	COSTO DE MATERIAS PRIMAS		\$762.06
	Costo gerencial 30%		\$228.62
	Utilidad 25%		\$190.52
	Total		1181.20
	P.V.P. Unitario (Total/800und)		\$1.48

Fuente: La investigación

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Se diseñó una bebida con actividad antioxidante a base de 7.5 g/100 ml de Arándano Azul, 5.0 g/100ml de Uva Roja y usando como base acuosa una infusión de Flor de Jamaica de 2.0 g/100 ml, todas de origen ecuatoriano, siendo estas proporciones correspondientes a la formulación F3, la cual presento las mejores características tanto sensoriales y junto con la F1, las más altas actividades antioxidantes del estudio.
- Se determinó la presencia de varios componentes bioactivos presentes en la bebida F3 como compuestos fenólicos (555.78 mg/L), Taninos (2475.15 mg/L), Flavonoides (64.26 mg/L) y Saponinas (0.4 %), además mediante screening

Cromatográfico (GCMS) se pudo encontrar la presencia de otros componentes de interés como Ácido Ascórbico (Vitamina C), Digitoxina y Tumerona.

- La bebida F3 cumple con los requisitos fisicoquímicos, microbiológicos y de contaminantes que se encuentran en la normativa NTE INEN 2337:2008, garantizando la inocuidad y calidad del producto final a los consumidores.
- Los resultados obtenidos en las determinaciones de actividad antioxidante in vitro mediante inhibición de DPPH a las 6 formulaciones de bebida a base de *Vaccinium shei Reade* (arándano azul), *Vitis vinífera* (uva roja) e *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica), mostraron que en todas ellas existe actividad antioxidante, siendo las de mayor valor las formulaciones F1 y F3.

Recomendaciones

- Utilizar otras técnicas de conservación de alimentos que no incluyan la temperatura, como altas presiones o radiación UV, para determinar si la actividad antioxidante de la bebida se mantiene o conserva mejores resultados que la técnica de pasteurización utilizada en este estudio.
- Mediante screening Cromatográfico (GC-MS), indagar la presencia de Ácido Ascórbico (Vitamina C), Digitoxina y Tumerona, compuestos de significancia en el bienestar de la salud humana mundial.
- Estudiar el contenido de fenoles, taninos y flavonoides, encontrados en este estudio, en las especies de las formulaciones con respecto a la estación, el clima, el cultivo y la edad de la fruta, para favorecer su contenido de antioxidantes en el producto final.
- Investigar nuevas fórmulas para elaborar productos alimenticios de calidad nutricional, aprovechando la variedad de fuentes agrícolas del Ecuador.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar-Barojas, S. (2005). Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud En Tabasco*, 11, 2–7.

Albuquerque, T. G., Silva, M. A., Oliveira, M. B. P. P., & Costa, H. S. (2018). Analysis, Identification, and Quantification of Anthocyanins in Fruit Juices. In *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis* (pp. 693–737). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00034-5>

- Alenazi, M. M., Shafiq, M., Alobeed, R. S., Alsdon, A. A., Abbasi, N. A., Ali, I., ... Javed, I. (2019). Application of abscisic acid at veraison improves red pigmentation and accumulation of dietary antioxidants in red table grapes cv. Red Globe at harvest. *Scientia Horticulturae*, 257. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108672>
- Astiasarán, I., & Martínez, J. A. (2000). *Alimentos, Composición y Propiedades*. (I. Astiasarán & J.A. Martínez, Eds.) (2nd ed., Vol. 2). Navarra: McGraw-Hill. Retrieved from www.FreeLibros.me
- Batalla-Mayoral, J., Vega-Hernández, M., & Silveti-Loeza, A. (2019). *ANÁLISIS DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LAS TÉCNICAS FRAP Y DPPH EN LA FLOR DE JAMAICA (Hibiscus sabdariffa L.) MEDIANTE LAS TÉCNICAS FRAP Y DPPH*.
- Bernal-Gallardo, J. O., Molina-Torres, J., Angoa-Pérez, M. v., Cárdenas-Valdovinos, J. G., García-Ruíz, I., Ceja-Díaz, J. A., & Mena-Violante, H. G. (2022). Phenolic compound content and the antioxidant and antimicrobial activity of wild blueberries (*Vaccinium stenophyllum* steud.) fruits extracts during ripening. *Horticulturae*, 8(1). Retrieved from <https://doi.org/10.3390/horticulturae8010015>
- Brenna, O. v. (2014). Antioxidant Capacity of Soft Drinks. In *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 51–56). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738-9.00006-4>
- Busto, M. D., Cavia-Saiz, M., Ortega, N., & Muñiz, P. (2014). Enzymatic Debittering on Antioxidant Capacity of Grapefruit Juice. In *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 195–202). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738-9.00020-9>
- Concepción, S.-M., José, A. L., & Fulgencio, S.-C. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. *J Sci Food Agric*, 76(2), 270–276.
- Cornejo, L. A., & Párraga, R. C. (2021). Capacidad antioxidante y contenido fenólico de una bebida a base de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). *CIENCIAMATRIA*, 7(12), 229–249. Retrieved from <https://doi.org/10.35381/cm.v7i12.427>

- Curo, S., & Montenegro, L. (2018). *EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE UNA BEBIDA FUNCIONAL A BASE DE BETARRAGA (BETA VULGARIS) Y ARÁNDANOS (VACCINIUM MYRTILLUS)*. LAMBAYEQUE.
- de Abreu, F. P., Dornier, M., Dionisio, A. P., Carail, M., Caris-Veyrat, C., & DhuiqueMayer, C. (2013). Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) extract from byproduct of juice processing: A focus on carotenoids. *Food Chemistry*, 138(1), 25–31. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.028>
- de Freitas Laiber Pascoal, G., de Almeida Sousa Cruz, M. A., Pimentel de Abreu, J., Santos, M. C. B., Bernardes Fanaro, G., Júnior, M. R. M., ... Teodoro, A. J. (2022). Evaluation of the antioxidant capacity, volatile composition and phenolic content of hybrid *Vitis vinifera* L. varieties sweet sapphire and sweet surprise. *Food Chemistry*, 366. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130644>
- de Nisco, M., Manfra, M., Bolognese, A., Sofo, A., Scopa, A., Tenore, G. C., ... Russo, M. T. (2013). Nutraceutical properties and polyphenolic profile of berry skin and wine of *Vitis vinifera* L. (cv. Aglianico). *Food Chemistry*, 140(4), 623–629. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.123>
- Delange, D. M., Rico, C. L. M., Pérez, R. de la C. S., Canavaciolo, V. G., & Leyes, E. A. R. (2012). Determination by GC-MS of the Hexane Extract Components from *Malvaviscus penduliflorus* Flowers Growing in Cuba. *Analytical Chemistry Letters*, 2(3), 171–176. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/22297928.2000.10648266>
- Devi, S., & Singh, R. (2017). Antioxidant and Anti-Hypercholesterolemic Potential of *Vitis vinifera* Leaves. *Pharmacognosy Journal*, 9(4), 565–572. Retrieved from <https://doi.org/10.5530/pj.2017.4.90>
- Dıblan, S., & Özkan, M. (2021). Effects of various clarification treatments on anthocyanins, color, phenolics and antioxidant activity of red grape juice. *Food Chemistry*, 352. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129321>
- Eichholz, I., Huyskens-Keil, S., & Rohn, S. (2015). Blueberry Phenolic Compounds: Fruit Maturation, Ripening and Post-Harvest Effects. Fruit Maturation, Ripening and Post-Harvest Effects. In *Processing and Impact on Active Components in Food* (pp.

173–180). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00021-4>

Garcia, C., & Blesso, C. N. (2021, August 20). Antioxidant properties of anthocyanins and their mechanism of action in atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*. Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.040>

Gaviria Montoya, C. et al. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617461007>

Gironés-Vilaplana, A. (2014). *Diseño de nuevas bebidas funcionales enriquecidas en fitoquímicos bioactivos*. Murcia.

Hooi, T. (2019). Effects of pasteurization and different concentrations of xanthan gum on honey beverage. *Food Research*, pp-pp. Retrieved from <http://www.myfoodresearch.com>

INEN. (2013a). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 1672:2013 Primera revisión QUINUA. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SAPONINAS POR MEDIO DEL MÉTODO ESPUMOSO (MÉTODO DE RUTINA) Primera edición QUINOA. DETERMINATION OF SAPONINE CONTENT. (ROUTINE METHOD)*.

INEN. (2013b). *NTE INEN 051:2013*.

Jaglan, P., Buttar, H. S., Al-bawareed, O. A., & Chibisov, S. (2022). Potential health benefits of selected fruits: apples, blueberries, grapes, guavas, mangos, pomegranates, and tomatoes. *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases*, 359–370. Retrieved March 2, 2022 from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819815-5.00026-4>

Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro, 73, 285–290.

King, R. (2021). ¿Podemos saborear un buen café sin remordimientos?

Kunitake, M., Ditchfield, C., Silva, C., & Petrus, R. (2014). *EFFECT OF PASTEURIZATION TEMPERATURE ON STABILITY OF AN ACIDIFIED SUGARCANE JUICE BEVERAGE Efeito da temperatura de pasteurização na estabilidade de caldo de cana acidificado*. *Ciênc. Agrotec.*

- Li, S., Li, S. K., Li, H. bin, Xu, X. R., Deng, G. F., & Xu, D. P. (2014). Antioxidant Capacities of Herbal Infusions. In *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 41–50). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978012-404738-9.00005-2>
- Lima, M. C., Paiva de Sousa, C., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. D., & de Souza, E. L. (2019). A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 130, 259–270. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.025>
- Loizzo, M. R., Sicari, V., Pellicanò, T., Xiao, J., Poiana, M., & Tundis, R. (2019). Comparative analysis of chemical composition, antioxidant and anti-proliferative activities of Italian *Vitis vinifera* by-products for a sustainable agro-industry. *Food and Chemical Toxicology*, 127(March), 127–134. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.03.007>
- Luzio, A., Bernardo, S., Correia, C., Moutinho-Pereira, J., & Dinis, L. T. (2021). Phytochemical screening and antioxidant activity on berry, skin, pulp and seed from seven red Mediterranean grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) treated with kaolin foliar sunscreen. *Scientia Horticulturae*, 281. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109962>
- Mariod, A. A., Saeed Mirghani, M. E., & Hussein, I. (2017). Hibiscus sabdariffa L. Roselle. In *Unconventional Oilseeds and Oil Sources* (pp. 59–65). Elsevier. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809435-8.00011-1>
- Mark, R., Lyu, X., Lee, J. J. L., Parra-Saldívar, R., & Chen, W. N. (2019). Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *Journal of Functional Foods*, 57(February), 233–254. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.008>
- Martín-Gómez, J., García-Martínez, T., Varo, M. Á., Mérida, J., & Serratos, M. P. (2021). Phenolic compounds, antioxidant activity and color in the fermentation of mixed blueberry and grape juice with different yeasts. *LWT*, 146. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111661>
- Ministerio de Salud Pública. (2017). Estrategia Nacional para la Atención Integral del Cáncer en el Ecuador. Ecuador.

Nahas, R. I. (2012). *Natural antioxidants as food and beverage ingredients. Natural food additives, ingredients and flavourings*. Woodhead Publishing Limited. Retrieved from <https://doi.org/10.1533/9780857095725.1.100>

Ozkan, G., Guldiken, B., & Capanoglu, E. (2019). Effect of Novel Food Processing Technologies on Beverage Antioxidants. In *Processing and Sustainability of Beverages* (pp. 413–449). Elsevier. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/b978012-815259-1.00012-4>

Pasteurización Sobre Características Sensoriales Y, E. de, Villareal, Y. D., Fernando Mejía, D. E., Osorio, O. M., & Felipe Cerón, A. C. (n.d.). *EFFECT OF PASTEURIZATION ON SENSORY CHARACTERISTICS AND CONTENT OF VITAMIN C IN FRUIT JUICES EFEITO DA PASTEURIZAÇÃO SOBRE*

CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E TEOR VITAMINA C EM SUCO DE FRUTAS.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial (Vol. 11).

PETRIFILM 3M. (2005). PETRIFILM-COLIFORMES-TOTALES-FT.

Prenci, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007a). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of Hibiscus sabdariffa flowers. *Food Chemistry*, 100(2), 433–438. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.063>

Prenci, E., Berto, S., Daniele, P. G., & Toso, S. (2007b). Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of Hibiscus sabdariffa flowers. *Food Chemistry*, 100(2), 433–438. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.063>

René Encina Zelada, C., & Paola Bernal Sánchez Daniel Rojas Hurtado Universidad Nacional Agraria La Molina Lima, A. (2013). *Efecto de la temperatura de pasteurización y proporción de mezclas binarias de pulpa de carambola y mango sobre su capacidad antioxidante lipofílica* (Vol. 31).

Rockenbach, I. I., Gonzaga, L. V., Rizelio, V. M., Gonçalves, A. E. de S. S., Genovese,

M. I., & Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of seed and

- skin extracts of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking. *Food Research International*, 44(4), 897–901. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.049>
- Salar, F. J., Fernández, P. S., & García-Viguera, C. (2020). *Nueva bebida funcional baja en azúcar y rica en compuestos bioactivos. Optimización del proceso. 9th Workshop on Agri-food Research for young researchers*. Retrieved from Cartagena:
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015, October 1). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*. Elsevier Ltd. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Silva, A. M., Pinto, D., Fernandes, I., Gonçalves Albuquerque, T., Costa, H. S., Freitas, V., ... Oliveira, M. B. P. P. (2019). Infusions and decoctions of dehydrated fruits of *Actinidia arguta* and *Actinidia deliciosa*: Bioactivity, radical scavenging activity and effects on cells viability. *Food Chemistry*, 289(March), 625–634. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.105>
- Tkacz, K., Wojdyło, A., Nowicka, P., Turkiewicz, I., & Golis, T. (2019). Characterization in vitro potency of biological active fractions of seeds, skins and flesh from selected *Vitis vinifera* L. cultivars and interspecific hybrids. *Journal of Functional Foods*, 56(March), 353–363. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.029>
- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020, June 1). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*. KeAi Communications Co. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.01.001>
- Yang, W., Guo, Y., Liu, M., Chen, X., Xiao, X., Wang, S., ... Chen, F. (2022, January 1). Structure and function of blueberry anthocyanins: A review of recent advances. *Journal of Functional Foods*. Elsevier Ltd. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104864>
- Yuan, Y. v., & Baduge, S. A. (2018). The Contribution of Phytochemicals to the Antioxidant Potential of Fruit Juices. In *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis* (pp. 95–128). Elsevier Inc. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00007-2>



PhD. Sandra Ronquillo Castro

Sandra Mirella del Consuelo Ronquillo Castro, Docente Universitaria, Ingeniera Química, Diplomada en Educación Superior, Especialista en Proyectos Sociales y Educativos, Magíster en Educación Superior, Máster en Ingeniería Química, Doctora en Ciencias Ambientales. Docente investigador, Tutora de trabajos de Titulación de Pre y Postgrado, participante en proyectos FCI, 16 años de experiencia académica en el área de la Ingeniería Química. Actualmente Decana de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad de Guayaquil (UG)- Ecuador.

Mgts. Stuard Montoya Vizuete

Químico Farmacéutico y Magister en Alimentos. Jefe de Laboratorio y Responsable de Gestión de Calidad ISO 17025, Docente Universitario y Capacitador, Analista de cromatografía, bromatología, físico- químico, absorción atómica, espectrofotometría, microbiología.



MSc. Glenda Sarmiento Tomalá

Glenda Marcela Sarmiento Tomalá, Química y Farmacéutica, docente de la Universidad de Guayaquil (UG) - Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas desde el 2006, obtuvo Diploma Superior en Evaluación y Acreditación de la Educación Superior (cuarto nivel), Maestría en Planificación Evaluación y Acreditación de la Educación Superior, Maestría en Farmacología, actualmente está culminando Doctorado en Ciencias Farmacéuticas en la Universidad de la Habana Cuba. En la Universidad de Guayaquil ha realizado actividades como: analista de gestión de la calidad en Programa Progeca-Bioterio, realizando ensayos e investigaciones preclínicas en fitofármacos y plaguicidas, coordinadora de la Unidad de Titulación, miembro del Comité Científico de Investigación. Tutora y cotutora de Trabajos de Titulación, tutora de Eventos Científicos Estudiantiles de "Galardones. SENESCYT, coordinadora de Maestría en Farmacia con mención en Farmacia Clínica, investigadora reconocida por la SENESCYT; tiene publicaciones de artículos, capítulos de libro y libros en editoriales regionales e internacionales de alto impacto, ha participado en proyectos de investigación interdisciplinarios e interinstitucionales regionales, ha participado en congresos internacionales como ponente desde el año 2014.



Mgts. Zoraida Burbano Gómez

Zoraida Burbano Gómez, docente de la Universidad de Guayaquil (UG) Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas (CC.QQ) desde 1987 hasta la actualidad, ayudante de cátedra en la Facultad de Ciencias Químicas (1988), realizó estudios en la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL), profesor en Educación Media, Colegio Fiscal DOLORES SUCRE Y URDESA SCHOOL (1994), doctorado en Química y Farmacia (2000), especialista en proyectos educativos (2005), magister en Educación Superior (2006), directora del Laboratorio Progeca-Bioterio (CC.QQ), obteniendo la acreditación del Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) (2014), tutora de Trabajos de Titulación de tercer nivel, investigadora de proyectos científicos, coautora de varios artículos científicos, libros y capítulos de libros. Ha realizado cursos de capacitación continua, congresos, seminarios tanto de tipo educativo como profesionalizantes.



Q.F. Sandra Vizuete Proaño

Soy una persona con un alto espíritu colaborador, analística, entusiasta y proactiva, me gusta trabajar en grupo, Soy responsable y con un gran espíritu de aprendizaje. Desde el año 2000 he gestionado y elaborado múltiples proyectos de investigación Siento una gran pasión por la docencia desde el año 1998. Docente universitario en el área de ciencias químicas y en el área de salud he trabajado más de 15 años.



Md. Leonardo Vargas Prías

Como médico de la Republica del Ecuador e Instructor ATLS 19.5 AMA PRA Category 1 Credit.TM de AMERICAN COLLEGE OF SURGEONS. ADVANCED TRAUMA LIFE SUPPORT (ATLS), asumo mi quehacer profesional con justicia y prudencia, respetando los códigos de ética, me conduzco con honestidad intelectual, fidelidad a la confianza entregada por el paciente, postergación del interés propio. Mi sentido del deber lo evidencio con altruismo, responsabilidad, empatía, paciencia y magnanimidad. Actualmente laboro como médico de la organización CNT-EP -Corporación Nacional de Telecomunicaciones Empresa Pública y estoy finalizando mis estudios para obtener el grado de MAGISTER EN ADMINISTRACIÓN Y GESTIÓN DE SALUD OCUPACIONAL de la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE ORURO.



ISBN: 978-9942-7196-1-4



9 789942 719614