

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental

Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias



**DESARROLLO DE UNA BEBIDA FUNCIONAL A BASE DE EXTRACTO DE
Equisetum arvense "COLA DE CABALLO" EDULCORADO CON Stevia rebaudiana
Bertoni "STEVIA"**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Ingeniero en Industrias Alimentarias

Presentado por:

Bach. Bustamante Bustamante, Felix

Asesor:

Ing. Fernández Herrera, Fredesvindo

HUACHO – PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental

Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias

DESARROLLO DE UNA BEBIDA FUNCIONAL A BASE DE EXTRACTO DE Equisetum arvense “COLA DE CABALLO” EDULCORADO CON Stevia rebaudiana Bertoni “STEVIA”

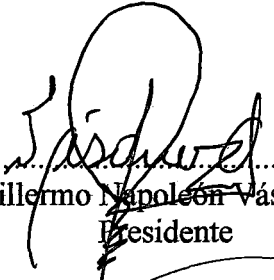
Presentado por: Bach. Bustamante Bustamante, Felix

Asesorado por: Ing. Fernández Herrera, Fredesvindo

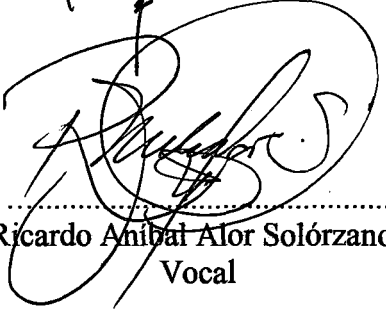
Tesis revisada y aprobada por el Jurado evaluador, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito parcial para obtener el Título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

APROBADO POR:


.....
Ing. Guillermo Napoleón Vásquez Clavo
Presidente


.....
ing. Danton Jorge Miranda Cabrera
Secretario


.....
Ing. Ricardo Anibal Alor Solórzano
Vocal


.....
Ing. Fernández Herrera, Fredesvindo
Asesor

HUACHO – PERÚ

2015

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios primeramente, que me ha dado la fortaleza, inteligencia y capacidad para poder realizar esta obra fruto de gran dedicación.

A mi madre que con su esfuerzo y apoyo hizo que la misma se cumpliera en el mejoramiento de mi superación profesional.

A una persona muy especial en mi vida quien me motiva a seguir adelante, luchando y preparándome para ser cada día mejor, ella es la razón de mi vida.

AGRADECIMIENTO

Mi mayor gratitud a Dios, porque nos ha dado la vida, fortaleza para seguir adelante siempre con su protección, provisión y cuidados.

A mi madre porque ha estado siempre guiándome, dándome todo su amor y apoyo desde el inicio de mi existencia.

A mí estimado asesor de la investigación, por su acertada dirección y paciencia para culminar tan anhelada meta académica.

A todos aquellos que de alguna manera colaboraron para realizar este trabajo de investigación, incluyendo a los maestros y amigos que con su cariño me motivaron a seguir adelante.

A todos muchas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1. Identificación del Problema	4
1.2. Formulación del Problema	5
1.2.1. Problema general	5
1.2.2. Problemas específicos	5
1.3. Objetivos de la Investigación	6
1.3.1. Objetivo general	6
1.3.2. Objetivos específicos	6
II. MARCO TEÓRICO	7
2.1. Antecedentes de la Investigación	7
2.2. Bases Teóricas	10
2.2.1. Alimentos	10
2.2.2. Nutraceuticos y Alimentos funcionales	10
2.2.3. Bebidas	15
2.2.4. Bebidas funcionales	15
2.3. Cola de Caballo (<i>Equisetum arvense</i>)	20
2.3.1. Características botánicas	20
2.3.2. Composición química	21
2.3.3. Antioxidantes presentes en <i>Equisetum arvense</i>	25
2.3.4. Aporte nutricional	25
2.3.5. Acción Farmacológica	26
2.3.6. Parte utilizada	26
2.3.7. Precauciones	26
2.3.8. Efectos adversos y/o tóxicos	26
2.4. Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni)	27
2.4.1. Origen	27
2.4.2. Características generales del esteviósido	27
2.4.3. Composición	27
2.4.4. Propiedades	28

2.4.5. Beneficios para la salud	28
2.4.6. Seguridad de uso	29
2.5. Radicales libres	29
2.5.1. Mecanismo de acción de los radicales libres	30
2.5.2. Fuentes de radicales libres	30
2.5.3. Estrés oxidativo	31
2.5.4. Enfermedades y procesos relacionados con el estrés oxidativo	31
2.5.5. Antioxidantes	33
2.5.6. Mecanismo de acción de los antioxidantes	33
2.6. Compuestos fenólicos	34
2.6.1. Clasificación de los compuestos fenólicos	35
2.6.2. Compuestos fenólicos como antioxidantes	35
2.6.3. Compuestos fenólicos en la cura de enfermedades crónico degenerativas	36
2.7. Evaluación Sensorial	36
2.7.1. Objetivos y finalidad de la evaluación	37
2.7.2. Percepción y atributos sensoriales	38
2.7.3. Método de Selección de Jurado	39
2.8. Marco Conceptual	39
2.9. Formulación de la hipótesis	41
2.9.1. Hipótesis general	41
2.9.2. Hipótesis específica	41
III. MATERIALES Y MÉTODOS	42
3.1. Lugar de Ejecución	42
3.2. Materiales	42
3.2.1. Materia Prima	42
3.2.2. Materiales y Equipos	42
3.3. Metodología	43
3.3.1. Sondeo de opinión	43
3.3.2. Metodología para la elaboración de una bebida funcional de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”	44
3.3.3. Materiales	46
3.3.4. Preparación del extracto de Cola de Caballo	47
3.3.5. Formulación de la bebida funcional	47
3.3.6. Pasteurización	48

3.4. Procedimiento y Análisis de Datos	48
3.4.1. Análisis microbiológicos	48
3.4.2. Análisis físicoquímicos	48
3.4.3. Evaluación sensorial	52
3.4.4. Prueba t-Student aplicada a resultados de la determinación de polifenoles totales	53
3.4.5. Prueba de comparaciones múltiples	54
3.4.6. Método de escala hedónica	54
3.4.7. Ranking	55
3.4.8. Análisis estadístico	55
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
4.1. Análisis microbiológicos	56
4.2. Análisis físicoquímicos	56
4.3. Análisis Sensorial y estadístico	60
4.3.1. Prueba de comparaciones múltiples	63
4.3.2. Análisis Sensorial y Estadístico Escala Hedónica – Ranking	65
V. CONCLUSIONES	69
VI. RECOMENDACIONES	70
VII. FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	71
7.1. Fuentes bibliográficas	71
7.2. Fuentes hemerográficas	75
7.3. Fuentes electrónicas	77
ANEXOS	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de la stevia	28
Tabla 2. Materiales y equipos usados	42
Tabla 3. Formulación de la bebida funcional	47
Tabla 4. Codificación de las muestras de bebida funcional	48
Tabla 5. Diluciones para el gráfico de calibración de polifenoles totales	49
Tabla 6. Diluciones para el gráfico de calibración de actividad antioxidante	50
Tabla 7. Resultados obtenidos de la mezcla en el espectrofotómetro	53
Tabla 8. Resultado de polifenoles obtenido de la bebida funcional en el espectrofotómetro	53
Tabla 9. Prueba t-Student aplicada a los resultados de la determinación de polifenoles totales de la mezcla	54
Tabla 10. Prueba t-Student aplicada a los resultados de la determinación de polifenoles totales de la bebida	54
Tabla 11. Resultado de microorganismos mesofílicos aerobios y de coliformes totales en las muestras de bebida	56
Tabla 12. Resultados de los parámetros fisicoquímicos de la bebida (muestra C)	56
Tabla 13. Contenido de polifenoles totales de las muestras de la mezcla	57
Tabla 14. Resultado del contenido de polifenoles totales en las muestras de bebida	57
Tabla 15. Resultados de la comparación del contenido de polifenoles totales en diferentes bebidas	58
Tabla 16. Resultados de la actividad antioxidante en las diferentes muestras de la mezcla	59
Tabla 17. Resultados de la actividad antioxidante en las diferentes muestras de la bebida	59
Tabla 18. Comparación de resultados de pH, grados Brix y acidez titulable en diferentes bebidas	60
Tabla 19. Resultados obtenidos de la bebida funcional en el espectrofotómetro	64
Tabla 20. Resultados de la técnica de ANOVA	65
Tabla 21. Resultados de las comparaciones múltiples de las tres muestras de la bebida funcional desarrollada con la prueba t-Student con un error de confianza del 5%	65
Tabla 22. Resultado promedio de la evaluación sensorial de la bebida funcional por la escala hedónica	65
Tabla 23. Resultado promedio de las calificaciones de la evaluación sensorial de la bebida-Ranking	66
Tabla 24. Rangos de los atributos sensoriales de la bebida-Ranking	68
Tabla 25. Resultados de Chi-Cuadrado χ^2 para los atributos sensoriales de la bebida	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las bebidas de acuerdo con su contenido o ausencia de alcohol (FAO, 2010)	15
Figura 2. Mecanismo de acción de los antioxidantes. (Reyes, 2005)	34
Figura 3. Resultados de la preferencia de acuerdo con el sondeo realizado	44
Figura 4. Metodología para la elaboración de una bebida funcional	45
Figura 5. Metodología para la extracción del extracto de Cola de Caballo y Maíz Morado	45
Figura 6. Flujograma para la elaboración de una bebida funcional	46
Figura 7. Distribución de género de los panelistas que realizaron la prueba sensorial	60
Figura 8. Distribución de edades entre los panelistas	60
Figura 9. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida preparada en sus tres muestras de bebida funcional	61
Figura 10. Resultados de preferencia por parte de los consumidores	62
Figura 11. Bebida de 25% extracto de cola de caballo saborizada con 30% extracto de maíz morado edulcorado con 0.07% stevia	62
Figura 12. Muestra la campana de la regla de decisión	63
Figura 13. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida por escala hedónica	66
Figura 14. Resultados promedios de las calificaciones de la evaluación sensorial de la bebida por ranking	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ejemplos de nutracéuticos agrupados por sus mecanismos de acción	12
Cuadro 2. Guía de declaraciones en etiquetado de alimentos	14
Cuadro 3. Clasificación general de bebidas funcionales	18
Cuadro 4. Tipo de especies de oxígeno radioactivo y especies relacionadas	29
Cuadro 5. Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos	34
Cuadro 6. Clasificación general de los compuestos fenólicos en su estructura química	35

A RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinaron los parámetros tecnológicos óptimos para la elaboración de la bebida funcional donde los extractos fueron obtenidos por extracción sólido-líquido en concentraciones de 1:6 (cola de caballo: agua), 1:4 (maíz morado: agua), 100°C y 15 minutos. La formulación óptima de la bebida fue de 25% de extracto de cola de caballo, 30% extracto de maíz morado y 45% de agua tratada, 0.07% de stevia en polvo y 0.1% de ácido cítrico, luego se llevó a un tratamiento térmico (pasteurizado) a 90°C por 10 minutos, envasado en envases de 500mL, enfriado a temperatura ambiente y almacenado en refrigeración de 2 a 5°C. Los resultados fisicoquímicos se encuentran dentro de los parámetros tomados como referencia, SST (2.87 ± 0.28 °Brix), pH (4.4 ± 0.11), acidez titulable (0.13 ± 0.02 %), contenido de polifenoles (84.8 ± 0.20 mgAGE/100mL) y la actividad antioxidante (5.39 ± 0.01 mgET/mL) contribuyendo de esta forma con el 65.3% de la ingesta diaria recomendada de polifenoles. La bebida elaborada fue edulcorada con un edulcorante no calórico lo cual tiene la ventaja de ser recomendada para las personas que además de buscar una bebida con sabor agradable se preocupan por su salud, controlan su peso y diabéticos. Los análisis microbiológicos se encuentran dentro del rango (máximo de 35UFC/mL de microorganismos mesofílicos aerobios y <3 microorganismos coliformes totales por mL) permitido tanto en microorganismos mesófilos aerobios como en coliformes totales de acuerdo con la norma Mexicana NOM-218-SSA1-2011. De acuerdo a los resultados estadísticos de los atributos (Olor, Color, Sabor y Aspectos Generales) evaluados en las muestras de bebida elaborada a un nivel de significancia del 5% se determinó que si presentan diferencias significativas entre ellas por lo que la muestra C (25% de extracto de cola de caballo, 30% extracto de maíz morado y 45% de agua tratada, 0.07% de stevia en polvo y 0.1% de ácido cítrico) se ubicó dentro del nivel de agrado por los consumidores, ubicándose como una oportunidad prometedora en el mercado de los alimentos funcionales.

ABSTRACT

In the present research the optimal technological parameters were determined for the preparation of functional beverage where the extracts were obtained by solid-liquid extraction at concentrations of 1:6 (Horsetail : water) , 1:4 (purple corn : water) , 100 ° C and 15 minutes. optimum beverage formulation was 25 % extract , horsetail , 30 % purple corn extract and 45% of treated water , 0.07% stevia powder and 0.1 % citric acid , then brought to a heat treatment (pasteurized) to 90 ° C for 10 minutes , packed in 500 ml bottles , cooled to room temperature and stored refrigerated for 2 to 5°C. The drink made was sweetened with a non- caloric sweetener which has the advantage of being recommended for people who also seek a pleasant-tasting drink care about your health, weight and diabetic control. Microbiological analyzes are within the range (up to 35UFC / mL of mesophilic aerobic and <3 total coliform organisms per mL) allowed both mesophilic aerobic microorganisms and total coliforms according to Mexican Standard NOM -218 - SSA1-2011. According to the statistical results of the attributes (Odor , Color , Flavor and General Aspects) evaluated samples beverage made a significance level of 5% was determined that if significant differences between them so that the sample C (25 % extract of horsetail, 30 % purple corn extract and 45 % of treated water , 0.07% of stevia powder and 0.1 % citric acid) was within the level of appreciation for consumers , ranking as an opportunity promising market for functional foods.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas la perspectiva que se tiene de los alimentos y de la nutrición ha cambiado. Aunque desde épocas remotas se ha sabido que hay alimentos que perjudican nuestra salud y otros que la benefician, hoy en día el consumidor busca en ellos una oportunidad no solamente de mejorar su nutrición, sino también su calidad de vida.

El mercado actual de bebidas es completamente diferente al de hace 10 años. Ahora los consumidores eligen sus alimentos y bebidas de acuerdo con la relación que tienen estos con su salud y bienestar; por esta razón, se han desarrollado los llamados alimentos funcionales, productos que aparte de cumplir con ciertas exigencias nutricionales, sensoriales y tecnológicas brindan al consumidor componentes bioactivos (como antioxidantes, ácidos grasos omega-3, fibra dietética, prebióticos, entre otros) que han demostrado ayudar a prevenir o disminuir el riesgo de ciertas enfermedades como son: El cáncer, padecimientos cardiovasculares, osteoporosis, diabetes, por mencionar algunas.

La diversidad botánica de Perú es muy amplia y un alto porcentaje de esta tiene uso en la medicina tradicional. Como ejemplo es la Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) que presenta propiedades antioxidantes, las cuales pueden reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas. Por lo que se usó como una alternativa a estos productos y como edulcorante natural no calórico a la Stevia.

El cuerpo humano posee radicales libres, y en circunstancias normales tiene las defensas adecuadas de antioxidantes para hacerles frente, pero la mayoría de las veces los superan en cantidad, generándose un desequilibrio (radicales libres-antioxidantes) que ocasionará daños al organismo. La cantidad de antioxidantes presentes en el cuerpo humano puede incrementarse a través del consumo de suplementos o mediante una adecuada alimentación, por lo que una alternativa para inhibir la oxidación es incorporarlos a la alimentación diaria mediante una bebida funcional, por lo que el principal objetivo de este trabajo fue Determinar el procedimiento tecnológico adecuado para desarrollar una bebida funcional a base de extracto de *Equisetum arvense* “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

Los resultados obtenidos mostraron que la bebida elaborada a base de extracto de cola de caballo, edulcorada con stevia y saborizada con extracto de maíz morado; es buena fuente de compuestos fenólicos y antioxidantes; que tiene buena aceptación por parte de los consumidores. Ubicándose de esta forma como una oportunidad a introducir dentro del mercado de los alimentos funcionales.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Identificación del Problema

Las enfermedades no transmisibles (ENT) son un conjunto de trastornos de la salud en las que se incluye principalmente las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, enfermedades de las vías respiratorias y la diabetes. Estas representan el 63% de las muertes en el mundo; 9 millones de estas muertes cobran la vida de personas menores de 60 años. Las enfermedades no transmisibles afectan a todos grupos de edad, a todas las regiones y de igual forma a hombres y mujeres a nivel mundial (OMS, 2013).

Dentro de las principales causas de estas enfermedades se encuentran la obesidad y la mala alimentación (dietas malsanas). Los efectos de estos factores pueden manifestarse con el incremento de la presión arterial, el azúcar y las grasas en la sangre.

Una forma de mala alimentación es el consumo de las bebidas que contribuye al incremento de estos factores de riesgo es el refresco. Por ejemplo en México entre 1984 y 1998 se observó un incremento de su consumo paralelo a una disminución de grupos alimenticios como frutas y vegetales; leche y queso; carne, pollo y huevo (Rivera et al., 2002). En cuanto al consumo de bebidas azucaradas, México en el 2009, fue el principal consumidor ocupando el primer lugar con 163.3 L por persona al año, seguido por Estados Unidos con 118.1 L y Chile con 116.2 L (Andreyeva et al., 2011).

Entre otras medidas está comprobado que aumentar el consumo de productos naturales puede ayudar a reducir el riesgo de las ENT. El efecto benéfico que se le atribuye principalmente a los vegetales, es que son ricos en antioxidantes por su alto contenido de compuestos fenólicos como carotenoides, flavonoides, taninos, entre otros fotoquímicos. Ejemplo de estos productos vegetales son las plantas medicinales, las frutas y las verduras.

El consumo per cápita de las principales bebidas no alcohólicas, en el mercado Peruano lo podemos encontrar en una gran variedad de estas bebidas que han logrado posicionarse en el gusto del consumidor. Dentro de las bebidas no alcohólicas, se tiene a la bebida gaseosa como uno de las principales bebidas no alcohólicas que consume un Peruano con 27 litros y 300 mililitros al año o 2 litros y 300 mililitros de consumo promedio per cápita al mes, seguido del agua mineral y de mesa con 4 litros y 900 mililitros al año, entre otros. Según el ámbito geográfico, el consumo de la bebida gaseosa es diferencial; así, por área de residencia, el área urbana tiene el mayor consumo con 11 litros y 800 mililitros más que en el área rural que tiene el menor consumo promedio per cápita anual con 18 litros y 200 mililitros al año. Por región natural, la Costa tiene el mayor consumo promedio per cápita con 7 litros y 700

mililitros más que la Sierra donde el consumo es menor con 22 litros y 900 mililitros al año. Mientras que las otras bebidas como las bebidas funcionales son consumidas en cantidades menores. (Vaca C. 2013).

Se ha reportado que la Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) presenta propiedades antioxidantes (flavonoles: la quercetina 3-O-glicósido y el kaempferol 3-O-glicósido, siendo éstos los que se encuentran en mayor cantidad), las cuales como se mencionó anteriormente pueden reducir el riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas. Aprovechando dichas características de esta planta se desarrolló la una bebida funcional edulcorada con *Stevia rebaudiana* Bertoni “Stevia” que es un edulcorante natural; lo cual tiene un poder endulzante de 300 veces más que la sacarosa, es decir que 1gr de steviosida (compuestos de glucosa y rebaudiosida) sustituye a 300gr de sacarosa; por la fuerte incidencia en el consumo de bebidas azucaradas que son uno de los principales factores causales de la obesidad (Terán, E. 2010).

Dicha bebida funcional, puede ser consumida por personas que cuidan de su salud, su peso, así como por personas que padecen de diabetes, brindando además de la hidratación, brinda unos beneficios adicionales al bienestar de los consumidores. Para aumentar su poder nutricional y funcional la bebida fue saborizada con maíz morado (importante como antioxidante por su alto contenido en antocianinas), el cual fue elegido por una prueba de sondeo de opinión evaluado.

1.2. Formulación del Problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es el procedimiento tecnológico adecuado para desarrollar una bebida funcional a base de extracto de *Equisetum arvense* “Cola de Caballo” edulcorado con *Stevia rebaudiana* Bertoni “Stevia”?

1.2.2. Problemas específicos

¿En qué medida se podrá formular una bebida funcional a base de extracto de *Equisetum arvense* “Cola de Caballo” edulcorado con *Stevia rebaudiana* Bertoni “Stevia”?

¿En qué medida se podrá evaluar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos a la bebida funcional a base de extracto de *Equisetum arvense* “Cola de Caballo” edulcorado con *Stevia rebaudiana* Bertoni “Stevia”?

¿En qué medida se podrá determinar la aceptación sensorial a la bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo general.

Determinar el procedimiento tecnológico adecuado para desarrollar una bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

1.3.2. Objetivos específicos

Formular una bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

Evaluar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos a la bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

Determinar la aceptación sensorial de la bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

Las plantas, hierbas y vegetales utilizados en la medicina tradicional han ganado una amplia aceptación como fuente de fotoquímicos que previenen enfermedades. Por esta razón la información global sobre las propiedades antioxidantes de los productos naturales se está convirtiendo relevante en el campo de la nutrición y en el desarrollo de Nutracéuticos. El reino vegetal ofrece una posibilidad casi interminable de componentes para elaboración de bebidas funcionales. Estas bebidas surgen como respuesta a la demanda y al estilo de vida de los consumidores, ya sea para la estimulación, relajación o promoción de la salud. (Rocha-Guzmán et al., 2012).

Altamirano Jácome, S. (2013), en su tesis titulada “Desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de Muicle (*Justicia spicigera*)”, llegó a las conclusiones siguientes:

La formulación de la bebida seleccionada, se constituyó por sucralosa, en una concentración de 0.025g/100g de bebida; por ácido cítrico, en un contenido de 1g/L; y por saborizante artificial uva en una concentración de 3mL/L.

El contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la bebida elaborada a base de extracto de Muicle la definen como una buena fuente de antioxidantes, lo cual favorece la prevención del estrés oxidativo, el cual ha sido relacionado con diferentes enfermedades y procesos degenerativos. La ingesta diaria recomendada de polifenoles es de 650mg, por lo que la bebida elaborada, en una presentación de 500mL estaría contribuyendo aproximadamente con el 80% de este valor.

El proceso de pasteurización no afectó de forma significativa la cantidad de compuestos fenólicos, ni la actividad antioxidante, por lo que se recomienda como método de conservación.

La bebida elaborada fue endulzada con un edulcorante no calórico. El análisis de sólidos solubles totales mostró un resultado inferior al contenido en las dos marcas comerciales de té helado debido a que estos últimos contienen mayor cantidad de edulcorantes y estos son azúcares comunes y fructosa, lo cual le brinda a la bebida de extracto de Muicle la ventaja de ser recomendada para las personas que además de buscar una bebida con sabor agradable se preocupan por su salud y también para personas que controlan su peso. De igual forma es apta para un grupo especial de consumidores que son los diabéticos.

De acuerdo con la NOM-218, la cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios permitida no debe ser mayor a 50UFC/g o mL y el NMP (número más probable) de coliformes totales por mL o g no debe ser superior a 10, por lo tanto, los resultados de la prueba se situaron en el límite establecido cumpliendo así con dicha norma.

Reyes (2005), estudió el efecto de las propiedades antioxidantes del extracto de maguey morado (*Rhoeo discolor*) durante su procesamiento y almacenamiento. Los extractos fueron obtenidos por extracción sólido-líquido y se determinó la capacidad antioxidante, entre otros parámetros.

La capacidad antioxidante del extracto de maguey morado fue examinada espectrofotométricamente por la reducción del radical DPPH en luz UV-visible. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran una capacidad antioxidante de 26.32 –O.D.- 3 /min/mgm.s). Actividad antioxidante elevada en comparación con el té verde (5.60–O.D.-3 /min/mgm.s) y el té negro (1.95–O.D.-3 /min/mgm.s.).

Rocha-Guzmán et al. (2012), efectuaron una evaluación química determinando la capacidad antioxidante y la aceptación de los consumidores de infusiones de diferentes especies de sauco. En estudios se ha demostrado que esta hierba posee propiedades anti-inflamatorias, actividad antioxidante, contenido fenólico y actividad anticarcinogénica, lo cual abre la puerta al desarrollo de un producto Nutracéuticos basado en recursos naturales. En este estudio se determinó la capacidad antioxidante y se realizó una evaluación sensorial del extracto herbal de sauco en comparación con dos marcas comerciales de té verde.

La evaluación sensorial demostró que la preferencia de los consumidores es inversamente proporcional al contenido antioxidante, específicamente al contenido del ácido fenólico gálico. La muestra de mayor preferencia fue la *Q. eduardii* y la de menor preferencia la *Q. resinosa*, esto debido a que las infusiones probadas son ricas en Catequinas y estas poseen un sabor amargo, astringente y amargo con resabio dulce. Estas características pueden influir en la preferencia de los consumidores de infusiones de sauco.

Esquivel (2011), desarrolló una bebida a base del fruto falso de marañón. El jugo se elaboró a partir de la pulpa de marañón sin cáscara utilizando un extractor de jugos. Se le adicionaron betalainas (pigmento de tuna) para mejorar su coloración y se probó el efecto de cuatro clarificantes para disminuir su astringencia. Se analizaron diferentes parámetros fisicoquímicos, polifenoles totales, actividad antioxidante, pH, acidez titulable, ácido ascórbico y sólidos solubles totales. Además se determinaron las condiciones de pasteurización. Finalmente se realizó una evaluación sensorial.

La determinación de polifenoles totales se realizó por el método de Singleton y Rossi (1965), el cual mostró que la concentración de polifenoles totales presentes en el jugo fue 2321 mg EAG/L lo cual es mayor a la reportada en jugo de naranja, el cual tiene valores de 620.7 a 630.5 mEq AG/L. Este parámetro lo define como un excelente antioxidante.

La actividad antioxidante se realizó por el método de Brand-Williams et al. (1995), el resultado obtenido fue 3152 mEq AA/L, este valor superó lo reportado en frutos como la naranja (553mEq AA/L), mandarina (34.7mEq AA/L), pomelo (400.1 mEq AA/L) y lima (259.7mEq AA/L). Este parámetro muestra una fuerte relación con el contenido de polifenoles totales.

Se realizó un análisis sensorial afectivo, utilizando una escala hedónica de 9 puntos, en el que participaron 100 jueces no entrenados y evaluaron los atributos de sabor y color. Los resultados arrojaron que no hubo diferencia significativa en cuanto a preferencia al variar las concentraciones de los clarificantes.

Abbasian et al. (2013), realizaron un estudio a diferentes extractos herbales así como a varias marcas comerciales de té negro para determinar su contenido total de polifenoles, su actividad antioxidante y la cantidad de flavonoides contenida. Los análisis se realizaron aplicando el método basado en la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu, el análisis de capacidad antioxidante reductora de hierro férrico (FRAP), y una metodología colorimétrica, respectivamente.

En los análisis realizados a los extractos herbales, el contenido más alto de polifenoles y flavonoides lo tuvo la rosa damasco (70.15 mg EAG/100 g y 208.46 mg CE/mL, respectivamente) y el contenido más bajo la flor de naranjo amargo (15.91 mg EAG/100 g y 25.79 mg CE/mL, respectivamente). El rango de actividad antioxidante se encontró entre 880.69 a 144.56 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{L}$. En cuanto a los análisis de las marcas comerciales de té negro, el té Lipton mostró el mayor contenido de polifenoles totales y flavonoides, así como la mayor capacidad antioxidante en comparación con el resto de las muestras. Se determinó que existe una relación lineal positiva entre el contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y el contenido de flavonoides de las muestras analizadas.

Salamanca, G. et al. (Marzo, 2010), en su estudio “Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de Borojo (Borojoa patinoi Cuatrec)”. El trabajo permitió desarrollar y optimizar una nueva forma de consumo de borojó (Borojoa patinoi Cuatrec.), en un cremolácteo endulzado con miel, a través de herramientas de diseño por superficie de respuesta. El producto optimizado mantiene las propiedades de la fruta, provee antioxidantes, minerales y vitaminas, aportados por sus componentes; la adición de miel

resalta los sabores y el aroma de la mezcla final; el valor calórico y los componentes en general del producto final lo clasifican como un alimento energético y funcional, que aporta calorías y puede ser consumido por un amplio grupo de personas. El aroma y flavor proveen al producto aceptabilidad sensorial, que a su vez está influenciada por las variables °Brix y pH. La respuesta sensorial optimizada corresponde a una mezcla sobre la cual no revela actividad microbiológica importante. Dada la presencia de fenoles en la matriz de la fruta y el efecto de las bifidobacterias, el producto generado se presenta con un importante acierto que puede ser proyectado a un estudio de mercado.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Alimentos

La alimentación es una actividad fundamental que todos los seres humanos necesitan llevar a cabo para la obtención de la energía diaria y alcanzar su pleno desarrollo. Los alimentos son todo producto nutritivo de naturaleza sólida o líquida, natural o transformada, que por sus características, componentes químicos, estado de conservación y aplicaciones, resulta susceptible de ser utilizado para la alimentación humana (Bello, 2005).

De acuerdo con la OMS (2004), los alimentos se definen como productos naturales o industrializados que se ingieren con el fin de cubrir una necesidad fisiológica.

2.2.2. Nutraceuticos y Alimentos funcionales

La actual década se caracteriza por la adopción de nuevos estilos de vida en la población, rápidos avances científico-tecnológicos, innovación industrial, apertura de fronteras, difusión inmediata de información y mayores exigencias de los consumidores. Las industrias de alimentos y fármacos han desarrollado diversos productos que apuntan hacia la promoción de la salud y el bienestar del consumidor (Lutz y Zuleta, 2009).

El interés en nutraceuticos y alimentos funcionales se encuentra en constante crecimiento impulsado por la búsqueda de aplicaciones potenciales de sustancias nutraceuticas, así como por el interés público y la demanda de los consumidores. El creciente interés de la población en el rol de la nutrición para la salud y el bienestar, es uno de los factores principales detrás del éxito en el mercado de los alimentos funcionales.

En los últimos años, el aumento de los costos médicos ha orillado a las personas a encontrar medios más baratos y eficaces de protección de salud, y por lo tanto el interés

en los alimentos funcionales ha aumentado (Hözer and Kimarci, 2010), siendo de esta forma un factor importante los consumidores al aumentar el deseo de tomar un papel más proactivo en la optimización de la salud personal y el bienestar, sin limitarlo a los productos farmacéuticos.

Hoy en día con la ayuda de los medios de comunicación, los consumidores son más conscientes de los vínculos entre la salud y la nutrición. Además, el envejecimiento de la población en la sociedad occidental, y mayor evidencia científica de la eficacia de los alimentos funcionales, son algunos de los factores que han desencadenado el rápido desarrollo del mercado de alimentos funcionales (Hözer and Kimarci, 2010).

De esta forma surgen y se desarrollan los nutracéuticos y alimentos funcionales, con apariencia similar a la de un alimento convencional que se consume como parte de la dieta, y que además de la función nutritiva básica, se ha demostrado que presentan propiedades fisiológicas que disminuyen el riesgo contra ciertas enfermedades.

A. Nutracéuticos

El término nutracéutico es una contracción de nutrición y farmacéutico. Expresado de forma más amplia, la Fundación para la Innovación en Medicina (1994), los definió como cualquier sustancia que puede ser considerada un alimento o parte de un alimento y que provee beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades. Estos productos pueden variar de nutrientes aislados, dietéticos, suplementos y dietas, hasta alimentos diseñados mediante ingeniería genética, productos herbales y alimentos procesados como cereales, sopas y bebidas.

Los nutracéuticos también son definidos como productos que son preparados de alimentos, pero vendidos en forma de pastillas o polvos (porciones), o en otras formas medicinales no asociadas usualmente con alimentos. Está demostrado que un nutracéutico posee beneficios fisiológicos o provee protección contra enfermedades crónicas (Wildman, 2007).

Los nutracéuticos pueden ser clasificados de acuerdo con sus probadas o presuntas propiedades fisiológicas, como se muestra en la Cuadro 1.

Cuadro 1. Ejemplos de nutraceuticos agrupados por sus mecanismos de acción

Anti-cancerígeno	Influencia positiva en el perfil lipídico en sangre	Actividad antioxidante	Anti-inflamatoria	Osteogenético o protector de huesos
Capsaicina	B-glucano	CLA	Ac. Linolenico	CLA
Genesteína	γ-tocotrienol	Ac. Ascórbico	EPA	Proteína de soya
Dadzeína	Tocotrieno	B-caroteno	DHA	Genesteína
A-tocotrieno	Mufa	Polifenoles	GLA (ac. Gamma-linolenico)	Dadzeína
γ-tocotrieno	Quercitina	Tocoferoles	Capsaicina	Calcio
CLA	Ω -3 PUFAs	Tocotrienoles	Quercitina	Fosfopeptidos de caseína
L. Acidophilus	Resveratrol	Indol-3-carbinol	Curcumina	FOS (fructooligosacaridos)
Esfingolipidos	Taninos	A-tocoferol		Inulina
Limoneno	B-sitosterol	Ac. Elágico		
Sulfuro de dialilo	Saponina	Licopeno		
Ajoeno	Guar	Luteína		
A-tocoferol	Pectina	Glutación		
Enterolactona		Hidroxitirosol		
Glicirricina		Luteolina		
Equol		Oleuropeína		
Curcumina		Catequinas		
Ácido elágico		Gingerol		
Luteína		Ac. Clorogénico		
Carnosol		Taninos		
L. bulgaricus				

Fuente: Wildman, 2007.

B. Alimentos funcionales

De forma general, se puede decir que un alimento funcional es aquel que confiere al consumidor una determinada propiedad benéfica para la salud, independiente de sus propiedades nutritivas. Son alimentos convencionales aquellos a los que se ha añadido, incrementado su contenido o eliminado un determinado

componente. Debe presentarse como un alimento propiamente dicho y sus efectos deben observarse cuando el alimento se consume dentro de una dieta equilibrada diaria, es decir, dentro del modelo alimentario habitual. El término, en cualquier caso, es una denominación genérica que representa más un concepto que un grupo bien definido de alimentos (Aranceta & Gil, 2010).

Lutz, (2009), definió a los alimentos funcionales como aquellos alimentos con ingredientes capaces de producir efectos saludables, cuya elaboración no solo contempla su calidad nutricional, sensorial y tecnológica; sino que también aportan fitoquímicos u otros agentes bioactivos que contribuyen al bienestar del consumidor.

Según la Asociación Americana de Dietética (2004), el término “funcional” implica que el alimento tiene un valor determinado que promueve los beneficios de la salud, incluyendo la reducción del riesgo de enfermedades, para la persona que lo consume.

No existe un concepto universalmente aceptado para alimentos funcionales y nutracéuticos, pero si existe una concordancia entre las definiciones establecidas por las diferentes organizaciones orientadas a la salud y la nutrición. Es importante distinguir a los alimentos funcionales y a los nutracéuticos de los medicamentos. De acuerdo con lo establecido por la United States Food and Drug Administration (USFDA, 1994), el núcleo en la definición de un medicamento es cualquier artículo que está diseñado para su uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedades en el hombre o en otros animales.

Las declaraciones en las etiquetas de alimentos funcionales y nutracéuticos también pueden estar relacionadas con cuestiones de promoción de la salud. Las principales declaraciones de salud en alimentos se muestran en la Cuadro 2.

Cuadro 2. Guía de declaraciones en etiquetado de alimentos.

Declaración	Propósito	Ejemplo
Nutriente contenido	Describe el contenido de ciertos nutrientes.	“Libre de grasa”; “Bajo en sodio.”
Calificado saludable	Describe la relación entre alimento, componente alimenticio, o suplemento dietético y la reducción de riesgo de alguna enfermedad o condición de salud. Esta declaración usa lenguaje calificado porque la evidencia para esta relación es emergente y no suficientemente fuerte para cumplir la norma del avance científico significativo establecido por la FDA.	“Evidencia científica sugiere que el consumo de vitaminas antioxidantes puede reducir el riesgo de ciertas formas de cáncer. Sin embargo la FDA ha determinado que esta evidencia es limitada e inconclusa.”
Salud autorizado	Caracteriza la relación entre un alimento, un componente alimenticio, ingrediente dietético o suplemento dietético y el riesgo de una enfermedad.	“Dietas altas en calcio pueden reducir el riesgo de padecer osteoporosis”.
Estructura/ Función	Describe el papel de un nutriente o ingrediente destinado a afectar la estructura normal o funciones en humanos.	El calcio fortalece los huesos”
	Puede caracterizar a los medios por los que el nutriente o ingrediente afecta la estructura o función.	
	Puede describir un beneficio relacionado a una deficiencia.	
	Debe ser acompañado por una advertencia que indique que la FDA no ha revisado la declaración y que el producto no está destinado a “diagnóstico, tratamiento, cura o prevención de enfermedades”.	

Fuente: Stephen, 1998.

2.2.3. Bebidas

Dentro de la industria de los alimentos una rama importante y de alto consumo es las bebidas, las cuales se clasifican en primera instancia de acuerdo con su contenido o ausencia de alcohol (FAO, 2010).

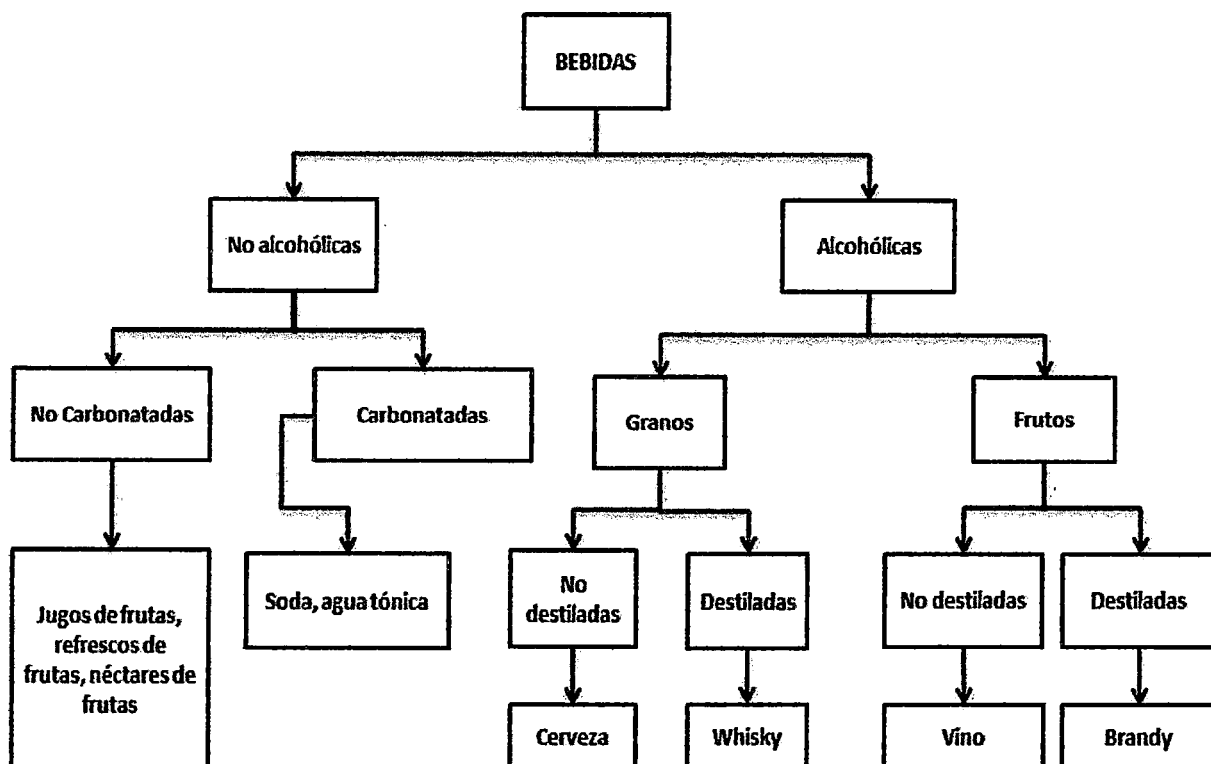


Figura 1. Clasificación de las bebidas de acuerdo con su contenido o ausencia de alcohol (FAO, 2010).

El mercado de la bebidas se encuentra en constante crecimiento, los expertos aseguran que la tendencia de consumo es hacia las bebidas no alcohólicas debido al interés creciente que tienen los consumidores por el cuidado de su salud, y la relación que esta tiene con los alimentos y bebidas que ingieren (Berto, 2003).

Una bebida no alcohólica se define como aquella bebida no fermentada, carbonatada o no, que se elabora con agua, ingredientes característicos de la propia bebida y productos autorizados (Wilson and Temple, 2004).

2.2.4. Bebidas funcionales

Al igual que la alimentación, la hidratación es un proceso necesario para el ser humano, su cuerpo está compuesto por 55-78% de agua. El agua es fundamental para la realización de diversos procesos metabólicos en el organismo. La mayor cantidad de agua se ingiere en comidas y bebidas, por lo que estas últimas representan una oportunidad de desarrollo fundamental para los productos funcionales. Las bebidas son el segundo grupo

entre los alimentos con mayor crecimiento. El mayor número de lanzamientos en bebidas a nivel mundial, corresponde a las bebidas funcionales (GNNDP, 2010).

Calvo et al. (2013), definen a las bebidas funcionales como aquellas que se ingerirán con las mismas expectativas, y más específicamente, las que podrían contribuir a la mejora de la hidratación de un individuo y de otras situaciones fisiológicas.

También pueden definirse como aquellas presentaciones listas para consumirse que contienen en su formulación uno o más ingredientes funcionales no tradicionales, que demuestran ser benéficos para la salud reduciendo así el riesgo de enfermedades (Martínez Carrera et al., 2010).

Uno de los principales problemas de salud en Perú y en mundo entero es por ejemplo el creciente índice de obesidad, uno de los factores que favorecen este mal es el excesivo consumo de refrescos (Andreyeva et al., 2011).

Este segmento es uno de los segmentos estrella del sector en América Latina. Tradicionalmente asociado a países como Argentina (131 litros por año y habitante), Chile (121 litros por año y habitante), o México (119 litros por año y habitante), como grandes consumidores, la creciente alarma mundial por el aumento de la obesidad, obesidad infantil y sobre todo siendo el país con mayor número de diabetes en el mundo pone el foco mundial sobre las empresas de refrescos. Los países de América Latina como Chile han comenzado a regular la publicidad que se dirige a jóvenes y niños junto con la imposición posible de tasas de impuestos a productos con determinadas cantidades de azúcar. Lo importante es que vienen surgiendo nuevos productos con menor cantidad de azúcares y más sustitutos endulzantes. Empresas grandes como Coca-Cola o Pepsico ven este cambio como positivo y apuestan por reducir la cantidad de azúcar en los refrescos. Por otra parte las empresas multinacionales como Coca-Cola han visto al mercado latinoamericano como el ideal para el lanzamiento y prueba de los productos bajos en calorías y azúcares. El mercado argentino quinto consumidor mundial, ha sido el escogido para la nueva Coca-Cola Life, con envase de etiqueta verde. A pesar de las denuncias de algunas organizaciones no gubernamentales, parece que la industria y los grandes fabricantes por fin dan el paso para ser un instrumento en prevenir estas enfermedades. Las tendencias en términos de sabores y nuevos productos parecen interminables. Mientras que son cada vez más las variedades regionales que atienden las preferencias de los consumidores, también lo son los nuevos empaques que aportan una herramienta de marketing y ventas en un mercado ya de por sí saturado.

Como viene siendo habitual, Coca-Cola FEMSA marca los principales movimientos de fusiones y adquisiciones dentro del mercado. Con excelentes resultados no solo en términos numéricos sino siendo cada vez más prominente en el mercado latinoamericano y extranjero, la empresa cerró el año 2012 adquiriendo un 51% de la Coca-Cola Filipinas y abrió el segundo semestre de 2013 con la fusión con el Grupo Yoli. Ambos movimientos atienden a la idea del grupo de expansión por medio de adquisición y a tener cada vez más un portfolio internacional. De igual manera, Arca Continental, segunda embotelladora de América Latina, comenzó el año inaugurando una planta en Tucumán, Argentina, donde prevé poder duplicar su capacidad de producción.

Las bebidas funcionales pueden desempeñar un importante rol en la protección de la salud y prevención de enfermedades. Las bebidas son consideradas un importante medio para el suplemento de componentes nutracéuticos enriquecedores, tales como fibra soluble o extractos herbales. Existe un gran número de bebidas funcionales como lo son tés helados, cafés, bebidas para deportistas, tés herbales, bebidas carbonatadas congeladas, mezclas de mentas, zumos de verduras y batidos (Kausar et al., 2012). La inclusión de ingredientes funcionales en un formato de bebidas proporciona a los consumidores una manera conveniente y de bajo costo para satisfacer necesidades específicas de la salud (Yu and Bogue, 2013). Una clasificación general de las bebidas funcionales de acuerdo con la función que desempeñan se muestra en la Cuadro 3.

Cuadro 3. Clasificación general de bebidas funcionales

Propiedad funcional	Características
Control de peso o apropiadas para diabéticos	Se sustituyen azúcares por edulcorantes artificiales (bebidas light).
	Contienen polisacáridos que tienen el efecto de provocar un índice glucémico bajo.
Orgánicas/Naturales	Se elaboran de vegetales cultivados en ausencia de pesticidas o de abonos químicos y procesados sin conservadores o aditivos químicos, pero pueden tener aditivos naturales.
Energizantes/Revitalizantes	Aceleran el sistema nervioso simpático. Se les añade cafeína o algún otro alcaloide estimulante. Puede añadirseles ginseng, equinácea o espinillo amarillo.
Reductoras de colesterol	Se les añade etanol o sus ésteres los fitoesteroles
Relajantes	Elaboradas a base de hierbas con opiáceos en bajas concentraciones.
Reconstituyentes/Hidratante	Aportan valor energético y un índice glucémico alto.
	Añadidas con hidrolizados de proteínas vegetales o animales, carbohidratos, vitaminas y minerales.
	Se formulan para grupos específicos: niños, ancianos, mujeres, deportistas, etc.
Curativas de úlcera	Se utilizan extractos de Aloe vera (sábila) y nopal.
	Proveen gomas y otros agentes químicos con propiedades antiinflamatorias, regeneradoras de tejido, antibióticos y que aceleran el metabolismo de los lípidos.
Mitigantes del envejecimiento	Se les adicionan ácidos grasos omega-3, omega-6 o compuestos fenólicos que actúan como antioxidantes.
Simbióticas	Contienen una o más especies de bacterias lácticas o actinomicetos con carácter prebiótico, además de contener oligosacáridos que funcionan como prebióticos y como fibra biológica.

Fuente: Ramos et al., 2007.

Una de las bebidas funcionales más antiguas es el té. Aunque en sus inicios no se conocían con certeza los beneficios que podía aportar a la salud, hoy en día múltiples estudios revelan los efectos fisiológicos positivos que trae consigo su consumo.

A. El té como bebida funcional

El té constituye la segunda bebida más consumida en el mundo solamente detrás del agua. Esta bebida provee una gran variedad de compuestos fenólicos, poseen propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antibióticas. Las principales vitaminas del té son la A, B2, C y E. Aporta micronutrientes como fluoruro y provee algunos aminoácidos entre los más importante es la teanina, los otros son: ácido glutámico, triptófano, glicina, serina, ácido aspártico, tirosina, valina, leucina, treonina, arginina, lisina, fenilalanina y asparagina (Kamath et al., 2003).

Una taza de té aporta alrededor de 150 mg de flavonoides, la mayoría se libera durante el primer minuto de infusión, además a menor tiempo de infusión se encontrarán menos flavonoides. Basta con beber tres tazas al día durante dos semanas para que aumente un 25% la concentración de flavonoides en sangre (Van Het Hof et al., 1998).

Existen varios estudios epidemiológicos que han examinado el nexo entre el consumo de té y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Estudios indican que el consumo regular de té puede contribuir a la disminución de los niveles de colesterol LDL debido a su alto contenido de epigallocatequinas (Chyu et al., 2004).

Los polifenoles presentes en el té también pueden jugar un papel importante en la prevención de varios tipos de cáncer. Estudios han demostrado evidencia en tratamiento para el cáncer en pulmón, leucemia, cáncer de próstata y cáncer de vejiga (Reyes, 2005).

El término té se utiliza para referirse a cualquier bebida en la que mediante una infusión con agua caliente se ha extraído el contenido de cualquier hierba. Sin embargo el término té propiamente dicho se refiere a la bebida preparada únicamente con la especie *Camellia sinensis*, y de acuerdo con el proceso al que sea sometida dicha especie se puede obtener té verde, té negro, té rojo o té blanco. Al utilizar otra hierba para obtener su extracto el nombre correcto será infusión o tizana (Wang et al., 2000).

Existe una gran variedad de hierbas que se utilizan en la elaboración de infusiones, la mayoría de estas por las propiedades medicinales que poseen, algunas

otras simplemente por su sabor. Una especie muy utilizada por sus diferentes propiedades medicinales es la *Justicia spicigera*.

2.3. Cola de Caballo (*Equisetum arvense*)

2.3.1. Características botánicas

La “cola de caballo de primavera” (*Equisetum arvense*), es una planta perenne, perteneciente a la familia de las Equisetáceas, originaria de Europa. Tiene varios nombres comunes: Cola de caballo, limpia plata, yunquillo, cien nudillos, candalillo, pinillo, rabo de caballo, rabo de mula, cepacaballo, rabo de lagarto, rabo de asno, hierba del platero (Orozco, M. A. 2013).

Cecchini (1999), menciona que “Parece que esta planta es una de las pocas que durante el transcurso de los siglos no ha sufrido transformaciones y que ha llegado hasta nosotros tal como era hace milenios”.

El nombre genérico *Equisetum* procede del latín *equus* que significa "caballo" y *seta* que significa "cerda" o "pelo", el nombre latino se adoptó del griego que en castellano se traduce como "cola de caballo", debido a lo fino que son los verticilos de los brotes verdes. La palabra *arvense* deriva igualmente del latín *arvum* que significa "campo" señalando el emplazamiento normal de la planta. Su nombre se debe a que posee pequeñas ramas con estrías longitudinales, con nudos de trecho en trecho, de los cuales nacen unas especies de vaina en un gran número de lengüetas largas que se asemejan a una cola de caballo.

Balcon Alternativo (2004), se refiere a la cola de caballo como: “La planta con mayor concentración de sílice (6%-8%) con la ventaja de que la mayor parte de esta sílice forma combinaciones orgánicas fácilmente metabolizables por el organismo. El sílice es un elemento fisiológico normal en el cuerpo humano, donde posee un papel importante en la nutrición mineral, un papel plástico y funcional en el crecimiento y la defensa general. La acción remineralizante del *Equisetum* se debe a su contenido en minerales y sobre todo en sílice que a su vez prepara la recalcificación en afecciones óseas traumáticas o infecciosas. También aumenta la resistencia del tejido conjuntivo. Por otro lado, parece que aumenta la actividad leucocitoria en la infección. Favorece las reacciones de defensa del organismo. Es también un agente eliminador de desechos orgánicos (urea, ácido úrico) y una barrera en los procesos degenerativos. *Equisetum* contiene además: carbonato calcico, sulfato de magnesio, cloruro de potasio, fosfato cálcico, hierro, manganeso, un principio amargo, resina pectina, ácido linoleico, ácido oléico, ácido esteárico, equisetina.

Otras propiedades de esta planta: astringente, cicatrizante, hemostática y diurética. Favorece la asimilación de fósforo. Es de una gran utilidad en procesos reumáticos y la arteriosclerosis (estas personas, así como los tuberculosos, contienen niveles bajos de sílice), consolidación de fracturas, hemorragias, edemas” (Quirós Chaves, A. F. 2004)

Actualmente es una de las hierbas medicinales más consumidas en el mundo, tiene muchas propiedades terapéuticas y estéticas, pero principalmente se le conoce por sus propiedades regenerativas de los tejidos celulares, por sus efectos depurativos y de grandes efectos para la belleza y la salud de la piel (Orozco, M. A. 2013).

2.3.2. Composición química

A. Sales minerales

Ácido silícico (casi 2/3 partes), potasio, calcio, fósforo, magnesio (en escasa cantidad) y compuestos hidrosolubles derivados del sílice. Solamente las cenizas (15-18%) contienen casi un 70 de sílice. En estado fresco la cantidad de ácido silícico oscila entre 3,21 y 16,25% (dependiendo de las variedades) mientras que la parte soluble alcanza sólo 0,06 y 0,33%.

El sílice junto con el oxígeno, es el elemento más abundante de la naturaleza. El mineral silícico constituye el 28,9% de la corteza terrestre, y es el cuarzo su forma más común. Dentro del cuerpo humano este mineral se encuentra en forma de sílice, un compuesto natural formado por silicio y oxígeno.

Aproximadamente un 0,05% del peso del cuerpo es sílice, este es absolutamente imprescindible para el buen funcionamiento de este. El sílice tiene un papel activo en la formación y remineralización de los huesos, y les da a los tejidos firmeza y fuerza. Las moléculas de sílice aumentan la capacidad del cuerpo para la absorción acuosa de las proteínas esenciales, actuando como un agente aglutinante. Silicio Orgánico (2004) se indica que: juntando las moléculas de calcio existentes y las moléculas de agua, se ayuda a fortalecer y revitalizar piel, pelo y uñas. Es uno de los elementos principales en las siguientes estructuras: Pulmones, Bazo, Sangre, Piel, Tejidos conectivos, Cartilagos y tendones, Huesos, Vasos sanguíneos y Pelo.

Newnaturalhealth (2004), “Cuando envejecemos los niveles de sílice disminuyen y se empiezan a notar cambios por la edad como la piel seca, falta de energía y una curación más lenta. Lo huesos no se pueden remineralizar y reparar por sí mismos, si el sílice no está presente. Los sílices orgánico y mineral aparecen de forma natural en el cuerpo humano y se encuentran en diversas cantidades en los

vegetales naturales crudos, las plantas y los granos tales como arroz, cebada y avena no refinados.

Una planta que contiene un alto porcentaje de sílice tanto mineral como orgánico es la Cola de Caballo. Históricamente, esta planta se ha utilizado para curar heridas y para detener las hemorragias internas y externas. Los indios nativos americanos la aplicaban como cataplasma para curar heridas y como antiinflamatorio. También es útil como diurético y para ayudar a deshacer de la vejiga; debido a que es un componente principal del pelo, las uñas y el esmalte de los dientes, siempre se ha considerado que la absorción del sílice los fortalece. Algunos sugieren que el sílice puede ayudar al crecimiento celular y nutrirá la piel, mientras que otros aconsejan que se aplique como baño ocular y para el dolor de oídos (Rodríguez, 2000).

La mayor parte de la investigación y la literatura contemporánea sobre el sílice se centra en el efecto de este sobre la elasticidad y la firmeza de los ligamentos. Se administra tras operaciones ortopédicas y para aliviar el dolor de los músculos lumbares. La dificultad para absorber las cantidades terapéuticas de sílices orgánico y mineral a partir de plantas y vegetales, es el viejo problema de la "dieta equilibrada", estas son buenas sólo para las "personas equilibradas" y los individuos que sufren por la edad de una deficiencia de sílice o que necesitan cantidades extra de sílice para hacer frente a una herida o a una torcedura tendrían que comer o beber cantidades considerables de vegetales y plantas. También se ha investigado la aplicación tópica del sílice en el caso de heridas y quemaduras de la piel de diversos grados en humanos. Hoy en día, en algunos hospitales se utilizan vendajes que contienen sílice. Se recomienda especialmente como antiinflamatorio en la artritis, lesiones ligamentosas y torceduras musculares.

B. Flavonoides.

Los flavonoides son pigmentos amarillos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc.

Los flavonoides son metabolitos secundarios de bajo peso molecular, que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), generalmente se encuentran como O-glicósidos en sus fuentes naturales, aunque también se

encuentran de forma natural como C-glicósidos. Poseen un origen biosintético común y, por ese motivo, un mismo elemento estructural básico con diferentes grados de oxidación, dando lugar a las distintas familias estructurales: flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas (o flavanoles), antocianos, isoflavonas, chalconas y auronas.

Se conocen unos 900 flavonoides naturales, se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres o como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas son más frecuentes en tejidos leñosos. Los flavonoides presentan todos los matices de solubilidad, desde totalmente soluble en el agua hasta insolubles en ella, pero solubles en éter etílico (las agliconas muy eterificadas) pasando por los solubles en etanol (agliconas), son insolubles en éter de petróleo por lo que permite desengrasar un material antes de extraerlo. Los que tienen mayor interés farmacológico son las flavonas, flavonoles y flavanonas.

De los tantos flavonoides que existen en el cola de caballo existen los siguientes: Quercetina, isoquercitrina, Kaempferol, Galuteolina y Equisetrina.

Uno de sus beneficios es la acción antioxidante que protege las células de los radicales libres responsables por el envejecimiento precoz y por el surgimiento de enfermedades degenerativas. Además ayudan en la calidad de las grasas para que circulen en la sangre.

El Instituto Nacional de Salud e Investigación Médica de Burdeos realizó una investigación sobre nutrición con 1640 hombres y mujeres sanos, de 65 años o más durante diez años, y demostraron que los que más consumían frutas y verduras tuvieron una mejor conservación de la función cerebral.

C. Saponidos ó Saponosimos

Estos componentes pertenecen a los glucósidos, los cuales se definen como sustancias orgánicas formadas por una o más moléculas de monosacáridos (azúcares).

Vademécum (1998), de prescripción "Producen una acción hemolítica, al interaccionar con el colesterol de la membrana de los eritrocitos, pero por vía oral la incidencia es mínima ya que la mucosa intestinal absorbe una pequeña parte no suficiente para causar daño severo, por ello se debe cuidar la dosis ya que puede

causar irritación de las mucosas causando malestar general". La saponida presente en la cola de caballo es la Equisetonina.

D. Taninos

Compuestos Polifenolicos, que en las plantas tienen acción defensiva, (estos agentes actúan como astringentes, arreglan la piel), antimicrobiana, antifúngica, inhibidora y como enzimático y antídoto de alcaloides. Gracias a que poseen acción antimicrobiana podrían evitar la presencia de una infección postexodoncia y eliminar la posibilidad de utilizar antibióticos como tratamiento postexodoncia o en una cirugía (Vademécum, 1998). Estos pueden ocasionar intolerancias gástricas y estreñimiento.

E. Trazas de alcaloides

Son sustancias orgánicas de origen vegetal con una actividad fisiológica muy intensa en dosis pequeñas. En la cola de caballo encontramos un alcaloide muy común, la nicotina. En una persona fumadora encontraremos los niveles de este alcaloide aumentados por tal motivo se debería tratar con pacientes no fumadores, con el fin de no llegar a inducir el síndrome nicotínico, él causa irritación de las mucosas, aumenta la motilidad y las secreciones (diarrea, congestión nasal).

F. Vitamina C

Es una vitamina hidrosoluble, se le conoce también como Ácido Ascórbico. Podemos encontrarla en las verduras y frutas. A altas temperaturas los enlaces químicos de la vitamina se destruyen, por ello la mejor forma de obtenerla es a través de los frutos.

La deficiencia de la vitamina C favorece a la aparición del escorbuto. Ella es de gran relevancia en la acción de la tiroxina durante la oxidación celular (ATP), también tiene un papel importante en la formación de colágeno.

Otro de los principios activos son los Flavonoides, compuestos pertenecientes a la familia de los polifenoles; son muy abundantes en el reino vegetal y están presentes en muchos alimentos. Fueron descubiertos por el Dr. Albert Szent-Gyorgyi en sus trabajos por aislar la vitamina C. Se les llamó "vitamina P" por su función de aumentar la permeabilidad capilar. El Dr. observó que tenían la capacidad de fortalecer los capilares de las encías y evitar el sangrado. Después de su

descubrimiento hubo muchos estudios demostrando, sobre todo, la capacidad de los flavonoides para fortalecer los capilares evitando su rompimiento, los flavonoides tienen actividad antioxidante y protegen a la vitamina C y la adrenalina de daño oxidativo por enzimas que contienen cobre. Aunque en 1968, un panel del FDA determinó que estas sustancias “no tenían utilidad alguna”, recientes estudios están confirmando que sí la tienen y que su potencial para la salud es de vital importancia en lo preventivo y lo terapéutico.

2.3.3. Antioxidantes presentes en Equisetum arvense

Las propiedades antioxidantes de Equisetum arvense son atribuidas principalmente a dos flavonoles: la quercetina 3-O-glicósido y el kaempferol 3-O-glicósido, siendo éstos los que se encuentran en mayor cantidad. (Mímica y col., 2008). Y se caracterizan por tener baja solubilidad en agua.

2.3.4. Aporte nutricional

Contiene gran cantidad de sílice, cumple numerosas funciones para el ser humano, tiene un efecto benéfico en las síntesis de colágeno y su papel en la consistencia y dureza de estructuras tales como huesos, tendones, uñas, pelos, córnea, esclerótica, tráquea, cartílagos, etc. Mantiene también las paredes elásticas de las arterias.

2.3.5. Acción Farmacológica

Su principal uso es como diurético, esto a partir de la presencia de los flavonoides y las sales potásicas; con respecto a la presencia de sales sílicas confiere propiedades remineralizantes, por contribuir al mantenimiento de la estructura fundamental del tejido conjuntivo, el colágeno y favorecer la flexibilidad de las arterias y venas, también se utiliza como hemostático local y cicatrizante, esta acción se debe a la presencia de los taninos (Vademécum de prescripción, plantas medicinales, 1998). Pero estos efectos no han sido totalmente demostrados. La cola de caballo se puede utilizar en:

- Enfermedad renal
- Cicatrizante de úlceras y heridas
- Hemostático
- Limpieza de heridas
- Desinfectante

- Osteoporosis
- Arteriosclerosis
- Consolidación de fracturas.

2.3.6. Parte utilizada

Se puede utilizar toda la planta, pero se recomienda utilizar los tallos estériles (tiernos, verdes), esto por que es donde encontramos la mayor cantidad de agentes activos de la planta útiles para su acción terapéutica.

2.3.7. Precauciones

Se recomienda utilizar en tratamientos cortos ya que si son prolongados pueden causar alteraciones nerviosas como cefaleas, anorexia y disfagia por ejemplo. Su uso en personas que padecen de hipertensión o son cardiópatas solo se justifica con la prescripción y el control médico, esto debido a que la cola de caballo funciona como diurético y puede causar una posible descompensación tensional. Otras contraindicaciones son: embarazo, lactancia, gastritis, úlceras gastroduodenales, ser fumador excesivo. Como recomendación para el proyecto se trabajara con pacientes sanos y no fumadores, además mayores de 18 años.

Si se utiliza cruda la planta, principalmente será de uso externo, con el fin de no causar malestar en el tracto gastrointestinal. Es de suma importancia que la preparación de la planta sea por cocción, esto por que el nivel de sales silicas es muy alto y puede ocasionar daños al paciente, de esta manera disminuimos la concentración, y por último debemos filtrarlo antes de usarlo. Se debe colocar 100 gramos de la planta en un litro de agua hirviendo, y dejar que enfríe, luego se remoja un paño o toalla en el agua y se coloca sobre la piel (Dr. Hernan Rodríguez, 2004).

2.3.8. Efectos adversos y/o tóxicos

Hasta el momento no existe evidencia científica que demuestre que el consumo de la planta cola de caballo en dosis adecuadas, produzca efectos tóxicos en las personas. Sin embargo, no se recomienda el consumo de cualquier preparado con base en esta planta, durante el embarazo y la lactancia.

La cola de caballo posee dentro de su composición una gran cantidad de sustancias que pueden desencadenar algún efecto tóxico, por lo que no se recomienda en absoluto,

abusar de esta especie, para obtener beneficios medicinales. Dentro de la composición de la planta de cola de caballo se encuentran alcaloides, como la nicotina, que en acumulación excesiva en el organismo, podría ocasionar malestares en general, dolor de cabeza, desordenes nerviosos, disfagia, cefalea, tenesmo y pérdida de apetito.

2.4. Stevia (stevia rebaudiana Bertoni)

2.4.1. Origen

La stevia es una planta nativa del norte de Paraguay y parte de Brasil, fue descrita por primera vez por el científico Antonio Bertoni. Desde tiempos precolombinos las hojas de la planta han sido utilizadas por la tribu de los indios Guaraní, para endulzar sus alimentos. Ellos la denominan “Kaa-Hee” que significa hierba dulce.

2.4.2. Características generales del estevióside

Aspecto Físico y color: Los cristales tienen aspecto de polvo muy fino, de color blanco marfil e inodoro.

Dulzor: Es el factor más importante. Su poder endulzante es 300 veces más que la sacarosa. Es decir, un gramo del estevióside sustituye a 300 gramos de sacarosa.

Presión osmótica: Es menor y ello mantiene la forma de los alimentos.

Metabolismo: No se metaboliza en el organismo, por lo tanto, es calórico y muy adecuado para uso dietético. No contiene cafeína

Peso molecular = 804

Fórmula: C₃₈H₆₀O₁₈

Los cristales en estado de pureza funden a 238 °C, se mantiene su sabor estable a altas y bajas temperaturas, no fermenta y es soluble en agua, alcohol etílico y metílico.

2.4.3. Composición

La Stevia no contiene calorías y tiene efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la presión arterial. Contiene proteínas, minerales (hierro, calcio, fósforo, potasio, zinc) y vitaminas (A y C).

El sabor dulce de la planta se debe a un glucósido llamado esteviosido, compuesto de glucosa y rebaudiosida. La concentración de esteviosidos en la hoja seca es del 6 al 10%, en ocasiones se registran valores extremos de 14%.

Tabla 1: Composición de la stevia

Nutrientes
Más del 50% de Carbohidratos de fácil asimilación
Más del 10% fibras, polipéptidos (proteínas vegetales)
Más del 1% lípidos, potasio
Entre el 0.3 y el 1%: calcio magnesio y fósforo
Menos del 0,1%: cromo cobalto, hierro, manganeso, selenio, silicio, zinc
Indicios de ácido Ascórbico, aluminio, beta caroteno C, estaño, riboflavina, vitaminaB1
Varios aceites esenciales

Fuente: Terán, E. (2010)

2.4.4. Propiedades

El principio activo de la stevia es el esteviósido y el rebaudiósido, que son los glicósidos responsables del sabor dulce de la planta. Estos principios aislados son hasta 300 veces más dulces que la sacarosa.

La Stevia natural, sin refinar, contiene más de 100 elementos y aceites volátiles identificados. Comúnmente se le utiliza para endulzar alimentos y bebidas, al igual que la planta llamada “lengua de buey” o más popularmente “lenguaza” (*Anchusa azurea*), néctar que también es más dulce que el azúcar y sobre el cual no se conocen estudios.

En la actualidad se utiliza de varias formas, como una simple infusión, en forma líquida o en forma de cristales solubles, y cada una de estas tiene diferentes propiedades o aplicaciones.

2.4.5. Beneficios para la salud

Terán, E. (2010), los beneficios y propiedades para la salud de la stevia son:

- Recomendado para los Diabéticos.
- Reduce la obesidad..
- Cardiotónico, regula la presión y los latidos del corazón.
- Acción digestiva, es diurética y antiácida, así ayuda a eliminar las toxinas.
- Antirreumática.
- Antimicrobiana, el extracto de stevia eliminó E. coli, salmonella, Estafilococos, bacilos, y no afectó bacterias útiles, lo que indica una acción selectiva. (Sato Investigador japonés, 2000).

- Anti-caries. Compatible con el flúor, detiene el crecimiento de las plaquetas y evita la caries. (Universidad de Purdue USA).
- Combate la ansiedad, acción sobre el sistema nervioso.
- Antioxidante.
- Efecto dérmico revitalizando las células epiteliales, ayuda en la rápida cicatrización de las heridas.
- Previene caries y enfermedades de encías.
- Muy soluble en agua fría o caliente, resistente a las altas temperaturas.

2.4.6. Seguridad de uso

En los EE.UU, la FDA (Food and Drug Administration), aprobó en septiembre de 1995, a la stevia, aunque solo podría venderse en tiendas naturistas, así no interfiere con los intereses de las industrias productoras de los otros edulcorantes no naturales.

2.5. Radicales libres

Los radicales libres o especies reactivas del oxígeno (Cuadro 4) son metabolitos secundarios de los procesos oxidativos normales de las células. Estos son átomos o moléculas que se encuentran al final de una estructura molecular y son extremadamente reactivos e inestables debido a que contienen electrones desapareados. Estos pueden unirse a otra estructura molecular capturando un átomo de hidrógeno lo que provocará que esta también quede inestable, generándose más radicales libres propiciando un efecto en cadena. Son capaces de reaccionar con muchos de los componentes celulares, entre los que se incluyen ADN, proteínas y lípidos, lo cual puede provocar modificaciones del funcionamiento normal de estas moléculas y así iniciar los cambios patológicos (Webb, 2007).

Cuadro 4. Tipo de especies de oxígeno radioactivo y especies relacionadas

Radicales	No radicales
O_2^* - Superóxido	H_2O_2 Peróxido de hidrógeno
OH^* Radical hidroxilo	O_2 Oxígeno singlete
HO_2^* Radical hidroperoxilo	$HOCl$ Ácido hipocloroso
NO_2^* Dióxido de nitrógeno	$ONOO^*$ Peroxinitrito
NO^* Óxido de Nitrogeno	

Fuente: Noguchi and Niki, 1999

2.5.1. Mecanismo de acción de los radicales libres

Se considera oxidación a todo proceso en el que ocurre la pérdida de electrones, captación de oxígeno o cesión de hidrógeno y reducción al proceso en el que se captan electrones o se pierden oxígenos (Teijón et al., 2006).

Los radicales libres siendo metabolitos secundarios de procesos de oxidación reaccionan con otras moléculas al intentar capturar los electrones necesarios para ganar su estabilidad. Cuando la molécula ha sido atacada pierde un electrón y se convierte en un radical libre, comenzando así una reacción en cadena. De esta forma se puede iniciar la peroxidación de lípidos, que da lugar a la desestabilización y a la desintegración de las membranas de la célula o a la oxidación de otros compuestos celulares como proteínas y ADN, finalmente dando como resultado la muerte de las células (Halliwell et al., 2000).

2.5.2. Fuentes de radicales libres.

La generación de radicales libres puede ser provocada por múltiples factores a los que de forma natural o por situaciones adversas el cuerpo humano se encuentra expuesto. De forma general estos se clasifican en fuentes endógenas y exógenas (González et al., 2001).

A. Fuentes endógenas.

Como su nombre lo indica estas fuentes generan radicales libres dentro de los diversos procesos fisiológicos del cuerpo, ejemplo de estos son: la cadena respiratoria, donde la reducción monovalente de la molécula de oxígeno da lugar a la formación de la mayoría de los radicales libres. En este proceso se genera el ión superóxido (O_2^-). Por otra parte dichas células generan óxido de nitrógeno (NO), por acción de la oxido-nitrito- sintasa, formándose así el ONOO, capaz de inducir peroxidación lipídica. La autoxidación de compuestos de carbono reducido como aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos da lugar también a la formación de estos radicales. La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo como la hipoxantina y xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa, ciclooxigenasa, lipoxigenasa, son fuentes representativas de esta producción (Reyes, 2005).

B. Fuentes exógenas

Estas fuentes se refieren principalmente a factores ambientales como lo son la exposición a humo de tabaco, contaminantes ambientales, radiaciones ionizantes (incluyendo luz solar), tensiones de oxígeno elevadas. La ingesta o administración de productos químicos (fármacos como xenobióticos, drogas, entre otros) y algunos factores nutricionales (contaminantes, aditivos), por mencionar algunos (Webb, 2007; Reyes, 2005)

2.5.3. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce por una falta de equilibrio entre la producción de radicales libres y los mecanismos de defensa antioxidantes, lo cual resulta de forma directa o indirecta en el daño celular. Bajo circunstancias normales el cuerpo tiene las defensas antioxidantes adecuadas para hacerle frente a los radicales libres, sin embargo si la producción de radicales libres es excesiva o las defensas antioxidantes están comprometidas, el balance se da en favor de los radicales libres (Wildman and Kelley, 2007). Esta falta de equilibrio resulta dañina para la salud pues estos pueden afectar la estructura molecular de lípidos, carbohidratos, proteínas, ADN, el funcionamiento celular, entre otros procesos.

2.5.4. Enfermedades y procesos relacionados con el estrés oxidativo

Existe una multitud de enfermedades con las que se ha relacionado el estrés oxidativo y la generación de radicales libres principalmente el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y el aceleramiento del proceso de envejecimiento.

A. Cáncer

Un tumor puede definirse como la acumulación focal de células superior al número requerido para el desarrollo, reparación o función de un tejido. Todos los cánceres son enfermedades en las que se presenta una proliferación, desarrollo y muerte celular alteradas. Así el cáncer puede definirse como el desarrollo, crecimiento y diseminación por metástasis de un neoplasma maligno. La mayor parte de las anormalidades genéticas observadas en los tumores son mutaciones adquiridas durante la carcinogénesis. Estas alteraciones pueden darse como consecuencia de la exposición a radiaciones o mutágenos químicos, o por los efectos de algunas especies moleculares, tales como los radicales libres del oxígeno, generados durante del

metabolismo celular. Los carcinógenos químicos como las sustancias presentes en el humo del tabaco, tienden a reaccionar fácilmente con las regiones ricas en electrones de las proteínas celulares y el ADN (Johnson, 2004).

B. Arteriosclerosis

La oxidación de los residuos de ácidos grasos poliinsaturados en las proteínas de baja densidad, (LDL) colesterol, puede aumentar su potencial de inducir arteriosclerosis e incrementar el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Webb, 2007). La arteriosclerosis es un proceso patológico inflamatorio y fibroproliferativo crónico de las grandes y medianas arterias que provoca la progresiva formación de placas fibrosas, las cuales a su vez hacen disminuir el flujo sanguíneo en el vaso. Estas lesiones pueden provocar el infarto de algún órgano, un ataque cardiaco o un accidente trombótico (Virgili et al., 2004).

C. Diabetes

La autoxidación de azúcares genera especies de radicales libres. A concentraciones altas de glucosa, típicas de estados de diabéticos, la producción de radicales libres se incrementa en presencia de metales de transición (Hunt et al., 1988), así como existe una disminución de antioxidantes en la persona con este padecimiento.

D. Envejecimiento

El envejecimiento se ha asociado a una concentración de radicales libres causado por la falta de actividad antioxidante o un incremento de factores prooxidantes, lo cual deriva en un descontrol de producción y eliminación de radicales libres que se refleja en la elevación del daño oxidativo celular y que traerá consigo las afecciones características de la vejez. En la génesis de la mayoría de las enfermedades crónicas no transmisibles hay un componente de estrés oxidativo. Es importante señalar que antioxidantes endógenos como la melatonina, estrógenos, entre otros, se reducen en el envejecimiento, lo que da inicio al incremento del estrés oxidativo y al envejecimiento celular. Si bien el envejecimiento depende de varios factores, el estrés oxidativo es un aspecto crucial en el desarrollo del mismo (Lutz, 2009; Velázquez et al., 2004).

2.5.5. Antioxidantes

Uno de los principales procesos que afectan día a día al ser humano y que desencadena un sinnúmero de enfermedades y trastornos fisiológicos es el estrés oxidativo. Este es producido por un desequilibrio entre los radicales libres y la actividad antioxidante. Aunque en condiciones normales la producción de radicales libres es bien controlada por las fuentes antioxidantes endógenas, múltiples factores alteran este equilibrio (factores ambientales, alimentación, envejecimiento, entre otros), es por esto que una forma de protección contra este desequilibrio es la ingesta de compuestos antioxidantes, de los cuales existen múltiples estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales que demuestran su efecto benéfico frente a enfermedades crónicas degenerativas.

Los alimentos son fuente importante de compuestos antioxidantes, especialmente aquellos que son, o contienen entre sus ingredientes productos naturales. Entre estos podemos encontrar compuestos fenólicos como ácido gálico, taninos, flavonoides, vitamina E, carotenoides, etc. A su vez se han desarrollado compuestos antioxidantes sintéticos como aditivos alimentarios, fármacos y suplementos alimenticios. Uno de los más populares antioxidantes sintéticos es el 2,6-di-tert-buti-4-metilfenol conocido como BTH, aunque suele asumirse que los antioxidantes naturales son más seguros, eficaces, potentes y tienen mayor aceptación por los consumidores que los antes mencionados (Shi et al., 2004).

La eficacia global de los antioxidantes naturales depende de la reacción del hidrógeno fenólico con los radicales libres, de la estabilidad de los radicales antioxidantes formados durante la reacción con los radicales libres y de las sustituciones químicas presentes en su estructura básica (Hall, 2004).

2.5.6. Mecanismo de acción de los antioxidantes

Los antioxidantes neutralizan a los radicales libres donando uno de sus propios electrones, acabando con la reacción de robo de los últimos mencionados. Los antioxidantes no se convierten en radicales libres porque son estables en cualquier forma (Kaur and Kapoor, 2001). En el mecanismo de los antioxidantes se forma un complejo entre el radical lípido y el radical antioxidante (aceptor del radical libre) como se muestra en la Figura 2 (Reyes, 2005).

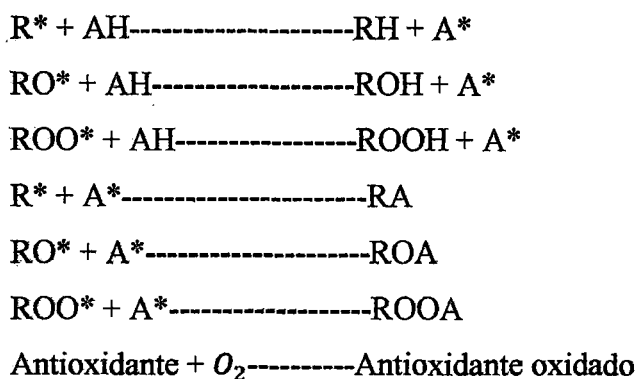


Figura 2. Mecanismo de acción de los antioxidantes. (Reyes, 2005).

2.6. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos encuentran su origen en el reino vegetal pues son uno de los metabolitos secundarios de las plantas, y se encuentran dentro del reino animal por el consumo de plantas y vegetales. Los fenoles se encuentran ampliamente distribuidos en plantas medicinales, vegetales, frutas, cacao, aceite de oliva virgen y una variedad de bebidas como jugos frutales, vino y té. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptación y estabilidad de los alimentos, como se muestra en el Cuadro 5, pues actúan como saborizantes, colorantes y antioxidantes (Gimeno, 2004). El grupo de polifenoles posee estructuras químicas y actividades diferentes, engloban un grupo de más de 8000 compuestos distintos (Martínez-Valverde et al., 2000). La capacidad antioxidante de los polifenoles dentro de la dieta se considera mucho mejor que la aportada por las vitaminas (Tsao and Yang, 2003).

Cuadro 5. Propiedades organolépticas atribuidas a los compuestos fenólicos.

Propiedad	Ejemplo
Color	Antocianidinas responsables de los tonos rojos, violáceos y azules de muchas frutas, hortalizas y derivados: fresas, ciruelas, uvas, berenjena, col lombarda, rábano, vino tinto, entre otros.
Sabor amargo	Flavanonas de los cítricos (naringina el pomelo, neohesperidina de la naranja) o la oleuropeína en las aceitunas
Astringencia	Proantocianidinas (<i>taninos condensados</i>) y los <i>taninos hidrolizables</i> , por ejemplo, el vino
Aroma	Fenoles simples como el eugenol de los plátanos

Fuente: Gimeno, 2004

2.6.1. Clasificación de los compuestos fenólicos

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.) (Tsimidou, 1998). Estos compuestos forman un grupo químicamente heterogéneo de sustancias tales como fenoles, flavonoides, lignina y taninos condensados (Cuadro 6).

Cuadro 6. Clasificación general de los compuestos fenólicos en su estructura química.

No flavonoides.	Flavonoides (C6-C3-C6): Formados por dos grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado.
Fenoles no carboxílicos: C6, C6- C1, C6-C3.	Antocianos.
Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3.	Flaonas, flavononas, flavanoles, flavanonoles.
	Flavanoles taninos condensados y lignanos.

Fuente: Gimeno 2004

2.6.2. Compuestos fenólicos como antioxidantes

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres. Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir con dos condiciones básicas, la primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, enlentecer o prevenir la autooxidación o la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores (Martínez-Valverde et al., 2000).

Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzóico, caféico, clorogénico), taninos (elligataninos), calconas y cumarinas, (Pratt and Hudson, 1990), los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos. El mecanismo de protección de los polifenoles (representados por AOH) ocurre en el estado inicial y más efectivamente durante el estado de propagación de la oxidación, por

captura de radicales libres (R^*), inhibiendo de esta manera la reacción en cadena (Ec. 1) (Reyes, 2005).



2.6.3. Compuestos fenólicos en la cura de enfermedades crónico degenerativas

Además de las funciones biológicas de los compuestos fenólicos, se les han atribuido propiedades antivirales, antimicrobianas, con efectos vasodilatadores, estimuladores de la respuesta inmune, anticancerígenos, antiinflamatorios, bactericidas, antialérgicos, entre otras (Shahidi et al., 1992). En los últimos años los compuestos fenólicos han adquirido gran interés por su capacidad antioxidante, ya sea atrapando radicales libres o quelando metales.

El consumo de una dieta rica en polifenoles se asocia a un menor riesgo de padecer enfermedades degenerativas. En concreto, se ha demostrado que son capaces de proteger a los lípidos séricos frente a la oxidación, punto que representa la etapa principal en el desarrollo de la arteriosclerosis (Virgili et al., 2004). Los polifenoles pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al ADN del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos. Dentro del grupo de los polifenoles los flavonoides son los que han demostrado mayor capacidad antioxidante (Bravo, 1998).

2.7. Evaluación Sensorial

El análisis sensorial puede ser definido como el método experimental mediante el cual los jueces perciben y califican, caracterizan y/o midiendo, las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas, bajo condiciones ambientales pre-establecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico.

En la actualidad es considerada como una herramienta importante para el logro del mejor apoyo dentro de la Industria Alimentaria, pues es aplicable en el control de calidad y de procesos, en el diseño y desarrollo de nuevos productos y en la estrategia del lanzamiento de los mismos.

Las aplicaciones de análisis sensorial en la industria de los alimentos son:

- Desarrollo de nuevos productos
- Comparación de productos
- Mejoramiento del producto

- Evaluación del proceso de producción
- Control de calidad
- Estudio de la estabilidad del alimento durante el almacenamiento
- Clasificación de productos y otros

El Instituto de Alimentos de EEUU (IFT), define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído”.

El análisis sensorial o evaluación sensorial es el análisis de los alimentos u otros materiales a través de los sentidos. Otro concepto que se le da a la evaluación sensorial es el de la caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo a las sensaciones experimentadas desde el mismo momento que lo observa y después que lo consume. Es necesario tener en cuenta que esas percepciones dependen del individuo, del espacio y del tiempo principalmente.

También es considera simplemente como: el análisis de las propiedades sensoriales, se refiere a la medición y cuantificación de los productos alimenticios o materias primas evaluados por medio de los cinco sentidos. La palabra sensoriales deriva del latín *sensus*, que significa sentido. Para obtener los resultados e interpretaciones, la evaluación sensorial se apoya en otras disciplinas como la química, las matemáticas, la psicología y la fisiología entre otras.

2.7.1. Objetivos y finalidad de la evaluación

La importancia de la evaluación en las industrias de alimentos radica principalmente en varios aspectos como:

- Control del proceso de elaboración: la evaluación sensorial es importante en la producción, ya sea debido al cambio de algún componente del alimento o por que se varié la formulación; a la modificación de alguna variable del proceso o tal vez por la utilización de una máquina nueva o moderna.
- Control durante la elaboración del producto alimenticio: el análisis sensorial se debe realizar a cada una de las materias primas que entran al proceso, al producto intermedio o en proceso, al producto terminado. Esto permite hacer un seguimiento al producto evitando o previniendo algunos inconvenientes que puedan alterar las características del producto en cada etapa del proceso principalmente en los PC y PCC.

- **Vigilancia del producto:** este principio es importante para la estandarización, la vida útil del producto y las condiciones que se deben tener en cuenta para la comercialización de los productos cuando se realizan a distancias alejadas de la planta de procesamiento o cuando son exportados, ya que se deben mantener las características sensoriales de los productos durante todo el trayecto hasta cuando es preparado y consumido.
- **Influencia del almacenamiento:** es necesario mantener el producto que se encuentra en almacenamiento, bajo condiciones óptimas para que no se alteren las características sensoriales, para lograr este propósito es necesario verificar las condiciones de temperatura, ventilación, tiempo de elaboración y almacenamiento, las condiciones de apilamiento y la rotación de los productos.
- **Sensación experimentada por el consumidor:** se basa en el grado de aceptación o rechazo del producto por parte del consumidor, ya sea comparándolo con uno del mercado (competencia), con un producto nuevo con diferentes formulaciones o simplemente con un cambio en alguno de los componentes con el fin de mejorarlo. Se debe tener claro el propósito del aspecto o atributo que se va a medir.
- Además de medir la aceptación de un producto, la evaluación sensorial permite también medir el tiempo de vida útil de un producto alimenticio.

2.7.2. Percepción y atributos sensoriales

El proceso sensorial se inicia con la presencia de un estímulo que actúa sobre los receptores sensoriales. Se define el estímulo como el agente químico o físico que produce la respuesta de los receptores sensoriales externos o internos. El impulso nervioso, creado por el receptor sensorial, se transmite por el sistema nervioso al cerebro que lo interpreta como sensación.

La interpretación de la sensación, es decir, la toma de conciencia sensorial, se denomina percepción.

Cada órgano receptor está especializado en recibir una sola clase de estímulo.

Existen seis clases de estímulos: mecánicos, térmicos, luminosos, acústicos, químicos y eléctricos. Cada uno de ellos dará lugar a una sensación que vendrá caracterizada por su calidad, intensidad, duración y por la sensación de agrado o rechazo. Los estímulos son medidos por métodos físicos o químicos, pero las sensaciones sólo pueden ser medidas mediante métodos psicológicos.

El primer contacto del ser humano con un producto alimenticio se produce habitualmente a través de la vista, el olfato (por el aire, a través de la nariz), el oído o el tacto, o bien por dos o tres de estas percepciones sensoriales simultáneamente.

Las sensaciones subsiguientes son generalmente táctiles (a través de los labios y la cavidad bucal, donde pueden percibirse sensaciones de frío, calor o dolor) y de nuevo, sonidos (los de la masticación); inmediatamente después intervienen el gusto y nuevamente el olfato, pero esta vez en forma indirecta, a través de la cavidad faríngea.

Los atributos de un alimento se perciben en el siguiente orden: apariencia, aroma u olor, textura y sabor.

2.7.3. Método de Selección de Jurado.

Para el reclutamiento de los panelistas se realiza una encuesta teniendo en cuenta: horario disponible, horario en el cual ingiere sus alimentos, si fuma o bebe bebidas alcohólicas, con qué frecuencia; si es consumidor o conocedor del producto o productos a fines, si sufre alguna enfermedad que impida evaluar el producto, entre otros.

Para ello se debe de trabajar con un buen número de personas de los cuales se elegirán a las que pasen la encuesta y estén dispuestos a colaborar y a participar eficientemente de la evaluación.

2.8. Marco Conceptual.

Alimento. Los alimentos son todo producto nutritivo de naturaleza sólida o líquida, natural o transformada, que por sus características, componentes químicos, estado de conservación y aplicaciones, resulta susceptible de ser utilizado para la alimentación humana (Bello, 2005). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (2004), los alimentos se definen como productos naturales o industrializados que se ingieren con el fin de cubrir una necesidad fisiológica.

Nutracéuticos. Es una contracción de nutrición y farmacéutico. Expresado de forma más amplia, la Fundación para la Innovación en Medicina (1994), los definió como cualquier sustancia que puede ser considerada un alimento o parte de un alimento y que provee beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades.

Alimentos funcionales. Es aquel que confiere al consumidor una determinada propiedad beneficiosa para la salud, independiente de sus propiedades nutritivas.

Bebidas funcionales. Son productos que poseen componentes fisiológicos que complementan su aporte nutricional y que representan un beneficio extra para la salud de las

personas, como por ejemplo en el metabolismo del colesterol, la mineralización ósea y la reducción de riesgos de enfermedad.

Bebidas no alcohólica. Se define como aquella bebida no fermentada, carbonatada o no, que se elabora con agua, ingredientes característicos de la propia bebida y productos autorizados.

Tecnología. Es el conjunto de conocimientos técnicos, científicamente ordenados, que permiten diseñar y crear bienes y servicios que facilitan la adaptación al medio ambiente y satisfacer tanto las necesidades esenciales como los deseos de la humanidad.

Tratamiento. Hace referencia a la forma o los medios que se utilizan para llegar a la esencia de algo, bien porque ésta no se conozca o porque se encuentra alterada por otros elementos.

Proceso. Es un conjunto de actividades mutuamente relacionadas o que al interactuar transforman elementos de entrada y los convierten en resultados

Formulación. Expresión de algo de forma clara y precisa

Esterilización. Eliminación o muerte de todos los microorganismos que contiene un objeto o sustancia, y que se encuentran acondicionados de tal forma que no pueden contaminarse nuevamente.

Antiséptico. Agente que controla y reduce la presencia de microorganismos potencialmente patógenos sobre piel y/o mucosas (sólo pueden aplicarse externamente sobre seres vivos).

Extracto. Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua.

Mezcla. Es una combinación física de dos o más sustancias que retienen sus identidades y que se mezclan pudiendo formar según sea el caso como aleaciones soluciones, suspensiones y coloides.

Pasteurización o pasterización. Es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objetivo de reducir los agentes patógenos que puedan contener como es el caso de bacterias, protozoos, mohos, levaduras, etc.

2.9. Formulación de la hipótesis.

2.9.1. Hipótesis general

Se puede elaborar una bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia” con características sensoriales aceptables, aplicando un procedimiento tecnológico adecuado.

2.9.2. Hipótesis específica

A través una buena formulación se podrá elaborar una bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

A través una buena evaluación de los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se podrá elaborar una bebida funcional a base de extracto Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”.

A través una buena formulación se podrá elaborar una bebida funcional a base de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia” y así poder determinar la aceptación sensorial por parte de los consumidores.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios (tecnología de procesos y pos-cosecha) de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias y Bromatología y Nutrición de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión-Huacho. Los análisis físico-químicos y microbiológicos se llevaron a cabo en los laboratorios de calidad total (Universidad Nacional Agraria la Molina-Lima), tecnología de procesos y pos cosecha de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión-Huacho.

3.2. Materiales

3.2.1. Materia Prima

La materia prima utilizada (5Kg de tallos de cola de caballo, 5Kg de maíz morado y 250gr de Stevia en polvo), se adquirió en los mercados Centenario (la Parada) y Central del distrito de Huacho, provincia de Huaura-Lima.

3.2.2. Materiales y Equipos

En la presente investigación se usaron y utilizaron los siguientes materiales y equipos.

Tabla 2. Materiales y equipos usados

Materiales	Unidad	Cantidad
Tubo de ensayo	Unid.	6
Vaso beaker de 50,100.250 y 1000 ml	Unid.	8
Gradilla acrílica	Unid.	3
Pisceta	Unid.	3
Pipeta graduada 1 y 10 ml	Unid.	5
Vaso de plástico	Unid.	500
Mesa de acero inoxidable	Unid.	1
Probeta	Unid.	1
Varilla de vidrio	Unid.	2
Cucharas de acero inoxidable	Unid.	3

Paquete de algodón	Unid.	2
Olla de aluminio n°50	Unid.	1
Platos de plástico	Paq.	100
Matraz Erlenmeyer 250 ml	Unid.	1
Papel filtro Whatman n°6	Unid.	20
Botellas de vidrio de 500 ml	Unid.	20
Balanza analítica, rad wag modelo wtb2000	Unid.	1
Refractómetro Rhb - 32bp atc	Unid.	1
Peachimetro portátil	Unid.	1
Espectrofotómetro	Unid.	1
Termómetro	Unid.	1
Carbono activado	Kg	1
Sol. Buffer de pH 4y7	Lt	0.25
Reactivo de folin-ciocalteu (2n)	Lt	0.2
Acido gálico	Lt	0.2
Metanol 80%	Lt	1
Sol. Estándar radical DPPH	Lt	0.2
Sol. Estándar de trolox	Lt	0.2
Ácido cítrico	Kg	0.3
Carbonato de sodio al 7%	Kg	0.2
Hidróxido de sodio 0.1 N	Lt	0.5
Alcohol isoamilico	Lt	1
Cultivo de mesófilos aerobios	Kg	0.5
Cultivo para coliformes totales	Kg	0.5
Fenolftaleína 2%	Lt	0.2
Agua destilada	Lt	10

3.3. Metodología

3.3.1. Sondeo de opinión

Para determinar el sabor que se le adiciono a la bebida, se realizó un sondeo de opinión a 100 personas, a las cuales se les describieron las características principales de la bebida: que era un té frío, color característico, y de forma natural era un sabor bajo o casi insabora. Posterior a esto se les pedio que indiquen cuál de los siguientes sabores: Kiwi, Uva, Berenjena, Maíz Morado o Noni, preferían para la bebida descrita, o si preferían otro

sabor que no fuera alguno de los antes mencionados. Los sabores fueron seleccionados utilizando como referencia el color de la bebida.

El sondeo se llevó a cabo en la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, en el laboratorio de procesos de la escuela profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

El sondeo de opinión (Figura 3) arrojó como resultado preferente el sabor maíz morado (30%), seguido por el sabor uva (25%), berenjena (19%), noni (12%), kiwi (10%), principalmente, y finalmente algunos sabores adicionales como sugerencia (4%) (Sabor manzana, mango, fresa, lúcuma y piña).

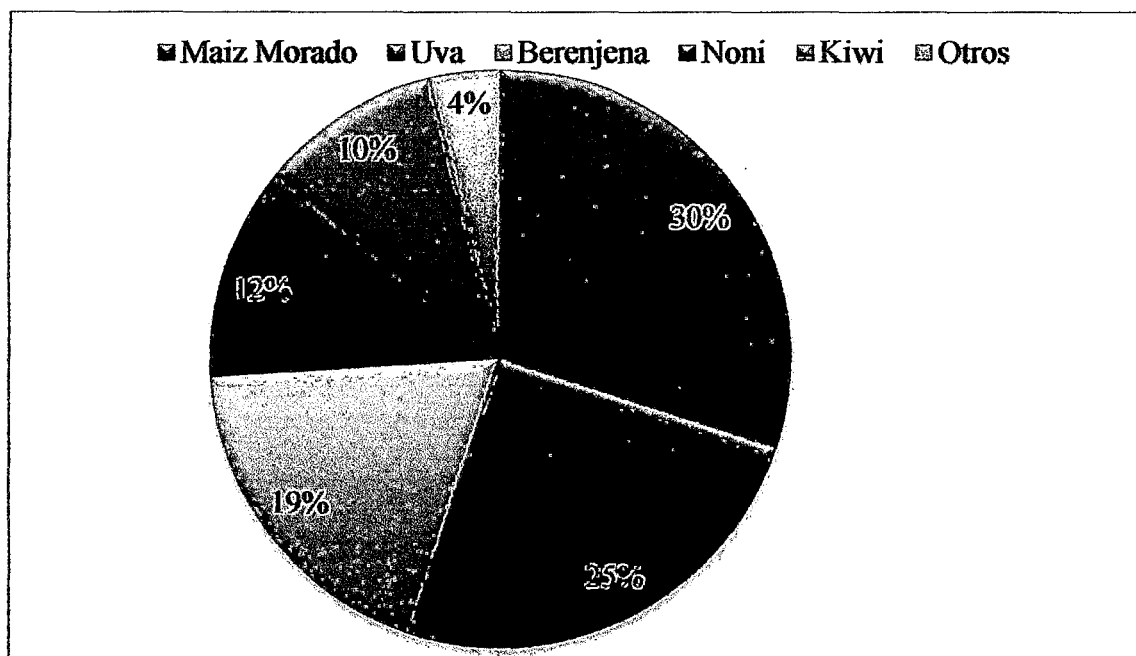


Figura 3. Resultados de la preferencia de acuerdo con el sondeo realizado.

3.3.2. Metodología para la elaboración de una bebida funcional de extracto de Equisetum arvense “Cola de Caballo” edulcorado con Stevia rebaudiana Bertoni “Stevia”

El siguiente estudio se realizó en la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, en los laboratorios de las escuelas de Ingeniería en Industrias Alimentarias (laboratorios de tecnología y post-cosecha) y Bromatología y Nutrición (laboratorios de biotecnología, bioquímica y tratamiento de agua); con la guía de los experimentados maestros de dichas escuelas para así poder obtener un producto de calidad e inocuo con características sensoriales aceptables. La metodología a realizar se muestra en las siguientes figuras:

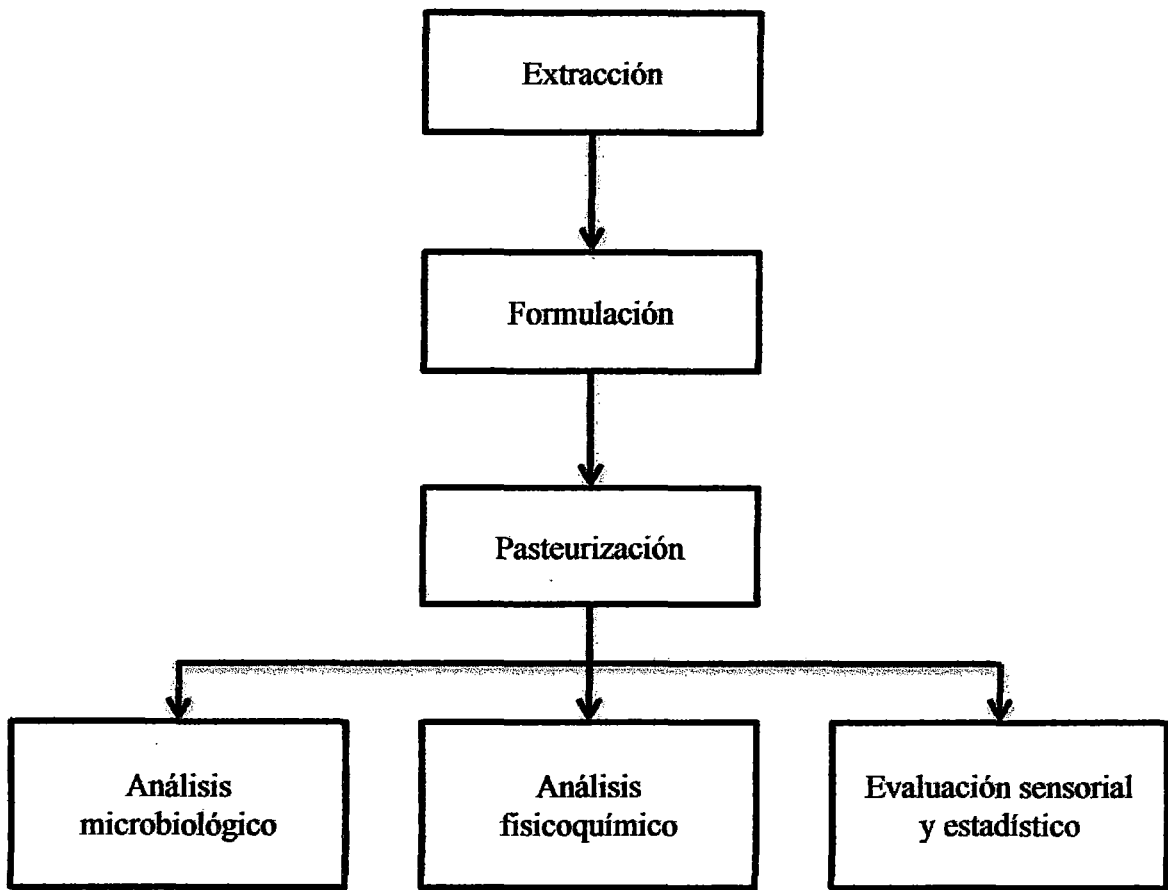


Figura 4. Metodología para la elaboración de una bebida funcional.

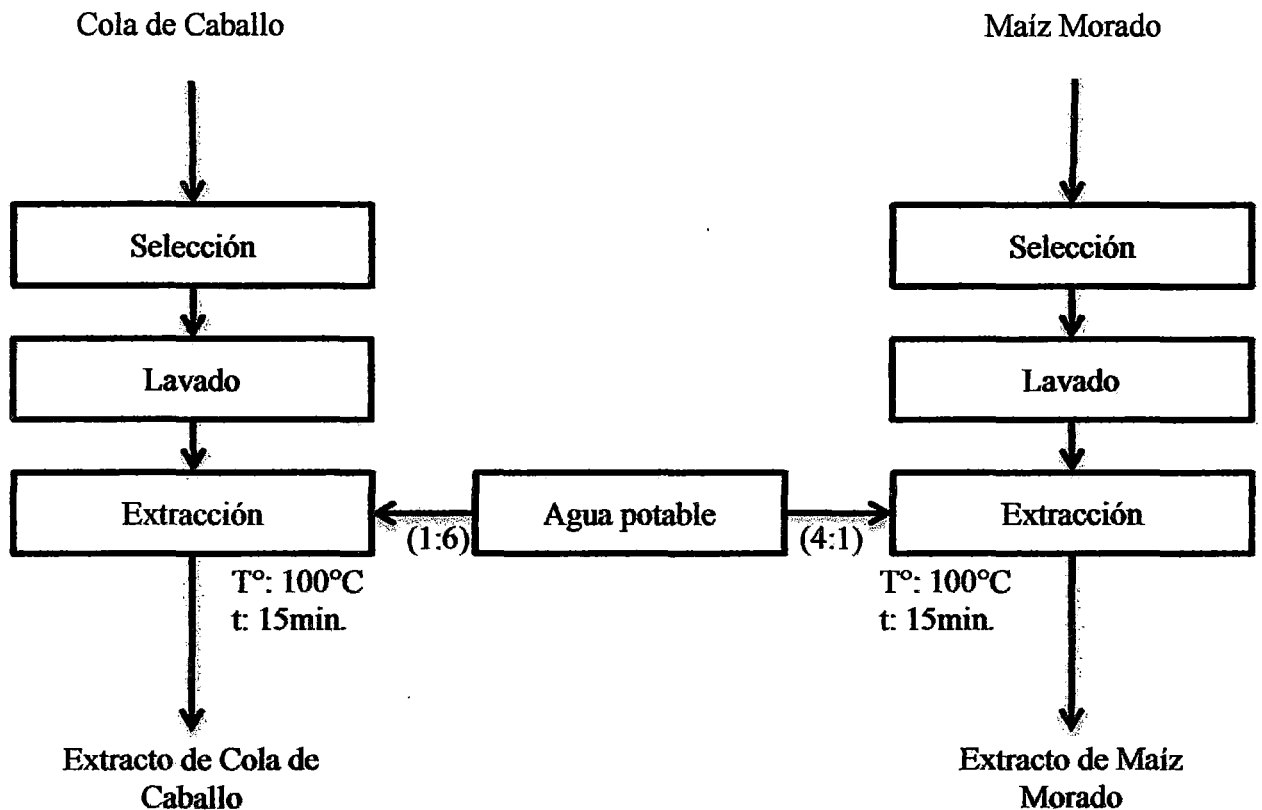
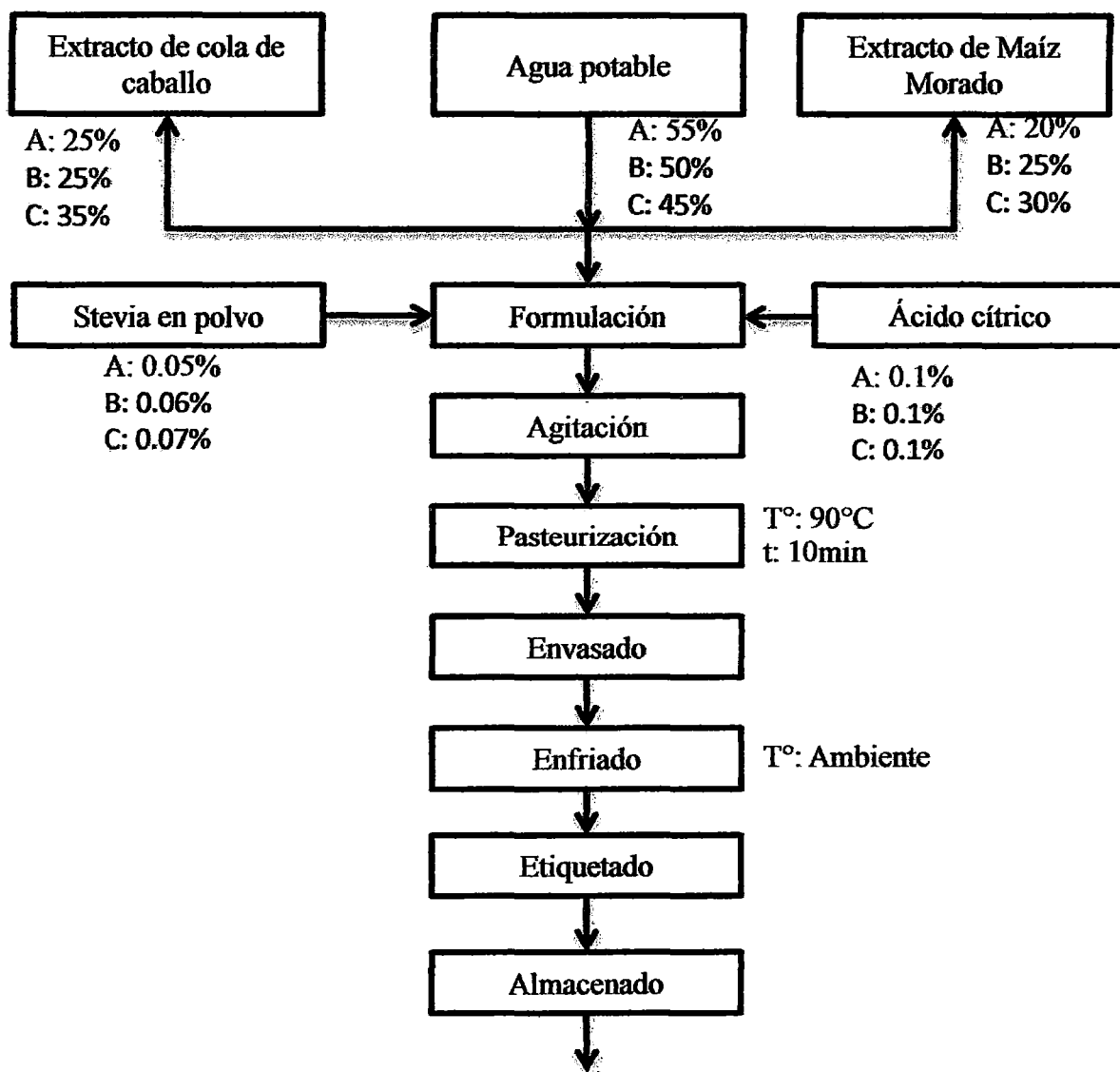


Figura 5. Metodología para la extracción del extracto de Cola de Caballo y Maíz Morado



Bebida Funcional de Cola de Caballo Edulcorado con Stevia y Saborizada con Maíz Morado

Figura 6. Flujograma para la elaboración de la bebida funcional.

3.3.3. Materiales

Se utilizaron tallos de cola de caballo plenamente desarrollados y secos obtenidos en el mercado el Centenario “la Parada”, del distrito de Huacho, provincia de Huaura-Lima.

Como edulcorante se utilizó un endulzante sin calorías Stevia rebaudiana Bertoni (Stevia) en polvo, en presentaciones de 250gr; como conservador natural se empleó ácido cítrico; marca Millikan y como saborizante se utilizó extracto de Maíz Morado obtenidos en el mercado el Centenario “la Parada”, del distrito de Huacho, provincia de Huaura, Lima.

Para la determinación de pH, sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable se utilizó como referencia a los resultados obtenidos de la bebida elaborada por Silvia Elvira

Altamirano Jácome en su estudio titulado “desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de muicle (*Justicia spicigera*)” Xalapa, diciembre del 2013.

3.3.4. Preparación del extracto de Cola de Caballo

Los tallos secos fueron lavadas a chorro de agua fría y posteriormente se cortaron en trozos pequeños de aproximadamente 1.5cm. Los extractos fueron obtenidos por extracción sólido-líquido (en un equipo sencillo con tapa) utilizando agua Esterilizada (temperatura 100°C y un tiempo de 15 minutos) y se dejó enfriar a una temperatura aproximada de 72°C hasta que salga la mayor parte de propiedades y características de dicha planta. Mantener una relación de acuerdo a Ferrari et al., 2012. El extracto fue filtrado utilizando un papel filtro Whatman n°6.

3.3.5. Formulación de la bebida funcional

Al extracto de cola de caballo en un 25% (concentración estándar para las tres muestras); extraído en 1:6 (tallos de cola de caballo:agua), como saborizante se le adiciono 20, 25 y 30% de extracto de Maíz Morado extraída del fruto en una concentración de 1:4 (fruto: agua) y como edulcorante se le adiciono Stevia en polvo en diferentes concentraciones 0.07% (de acuerdo con la NOM-086-Mexicana), 0.06 y 0.05%. Además se le dosifico ácido cítrico en una concentración de 0.1% (Tabla 3). Finalmente la bebida se envaso en recipientes de vidrio transparentes de 500mL.

Tabla 3. Formulación de la bebida funcional.

Materia prima	Muestra A	Muestra B	Muestra C
% de extracto de Cola de Caballo	25	25	25
% de extracto de Maíz Morado	20	25	30
% de Agua Tratada	55	50	45
% de Stevia en Polvo	0.05	0.06	0.07
% de Ácido cítrico	0.1	0.1	0.1

Nota: Al 100% de la mezcla se le agrego el % de Stevia en polvo y ácido cítrico.

Las cantidades utilizadas de materia prima se determinaron de acuerdo con la normatividad vigente y las instrucciones del fabricante.

Para los análisis correspondientes todas las muestras fueron codificadas para identificarlas y diferenciarlas entre sí. Se clasificaron de acuerdo con su contenido de endulzantes y saborizantes. En la Tabla 4 se muestran la codificación de las muestras.

Tabla 4. Codificación de las muestras de bebida funcional.

Bebida	Código
Concentración de 0.05% Stevia y 20% de extracto de Maíz Morado	A
Concentración de 0.06% Stevia y 25% de extracto de Maíz Morado	B
Concentración de 0.07% Stevia y 30 de extracto de Maíz Morado	C

3.3.6. Pasteurización

Las muestras fueron pasteurizadas a una temperatura de 90°C durante 10 minutos en baño maría. Una vez transcurrido el proceso térmico se sometieron a un baño de agua fría hasta alcanzar la temperatura ambiente. A la bebida pasteurizada se le adiciono el extracto de Maíz Morado en condiciones inocuas, se almaceno a temperatura de refrigeración (5°C), y luego se prosiguió con sus respectivos análisis.

3.4. Procedimiento y Análisis de Datos.

3.4.1. Análisis microbiológicos.

Se realizó un recuento de organismos mesófilos aerobios y coliformes totales de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana, NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína, a las muestras de bebida funcional (norma tomada como referencia). Dichos análisis fueron realizados en los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

3.4.2. Análisis fisicoquímicos

A. Determinación de polifenoles totales

El análisis se realizó conforme a la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Las mediciones se realizaron en un espectrofotómetro CV-Vis (marca JENWAY) en los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

a. Elaboración del gráfico de calibración para polifenoles totales.

El gráfico de calibración se elaboró utilizando como estándar una solución de ácido gálico (AG) de 0.12mg/mL para preparar diluciones seriales

que contengan dicho ácido en concentraciones de 0.000, 0.002, 0.004, 0.008, 0.006, 0.010 y 0.012 mg EAG/ μ L (Tabla 5).

Tabla 5. Diluciones para el gráfico de calibración de polifenoles totales.

Concentración (mg EAG*/ μ l)	Solución estándar (μ l)	Agua (μ l)
0.000	0	2000
0.002	333	1667
0.004	667	1333
0.006	1000	1000
0.008	1333	667
0.010	1667	333
0.012	2000	0

*EAG: Representa el equivalente de ácido gálico.

b. Análisis del contenido de polifenoles totales de las muestras de bebida funcional.

Las muestras de bebida fueron diluidas 1:25 con agua destilada. Se tomaron 400 μ L de la muestra diluida colocándola en viales color ámbar de 5mL y se añadirán 2 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu (2N) y 1mL de agua destilada, agitando y dejando reposar durante 8 minutos. Posteriormente se adicionaron 2mL de solución de carbonato de sodio al 7% (w/v) y 1.4mL de agua destilada, obteniendo un volumen final de 5mL. Se agito la mezcla vigorosamente y se dejó reposar durante una hora a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se realizaron las mediciones a 750nm. Para realizar los cálculos se multiplicaron los datos obtenidos en el gráfico de calibración por 25 (que será el factor de dilución) para obtener la concentración de polifenoles como equivalentes de ácido gálico (GAE) en mg/L presentes en la muestra. Los análisis se realizaron por triplicado.

B. Determinación de actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método descrito por Brand-Williams et al. (1995), el cual se fundamenta en la generación de radicales libres a partir de un solución metanólica de DPPH (2,2-difenil-picril-hidracilo). Las

mediciones se realizaron en un espectrofotómetro CV-Vis (marca JENWAY) en los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

a. Elaboración del gráfico de calibración para actividad antioxidante

Se elaboró utilizando una solución estándar de trolox, disolviendo 20mg de esta en 100mL de metanol al 80%. Se prepararon diluciones seriales que contenían trolox en concentraciones de 0.000, 0.004, 0.006, 0.008, 0.010 y 0.012 μ mol ET/L (Tabla 6). Con la ecuación obtenida en este gráfico se elaboró, el gráfico concentración μ mol ET/mL contra porcentaje de inhibición del radical DPPH.

b. Preparación del radical DPPH

Se preparó diluyendo 3.9mg de reactivo en 100mL de metanol, sonicando la mezcla durante 15 minutos para asegurar la correcta disolución del reactivo.

Tabla 6. Diluciones para el gráfico de calibración de actividad antioxidante.

Concentración (μ mol ET*/L)	Solución estándar	Metanol al 80%
	(mL)	(mL)
0.000	0	2000
0.002	333	1667
0.004	667	1333
0.006	1000	1000
0.008	1333	667
0.010	1667	333
0.012	2000	0

*ET: Corresponde a equivalente de trolox.

c. Análisis de actividad antioxidante de las muestras de bebida funcional.

Las muestras de bebida fueron previamente diluidos con agua destilada (1:25), de esta dilución se tomaran 100 μ L y se colocaran en viales color ámbar. Se añadieron 2.9mL de solución radical DPPH. Se agito vigorosamente la mezcla y se mantuvo en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Posterior a esto se realizaron las mediciones a 517nm. Los resultados se expresaron como mmol ET/L. Todo el procedimiento se realizó en ausencia de luz.

C. Determinación de sólidos solubles totales (SST)

Se analizaron muestras de la bebida funcional, tomando como referencia los resultados obtenidos de la bebida elaborada por Silvia Elvira Altamirano Jácome en su estudio titulado “desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de muicle (*Justicia spicigera*)” Xalapa, diciembre del 2013. La evaluación se realizó de acuerdo con el método de la A.O.A.C. (1990). Los SST se cuantificaron en un refractómetro, previamente calibrado con agua destilada y se reportaron como grados Brix (°Brix). Las mediciones se realizaron por triplicado.

D. Determinación de pH

El pH se determinó por triplicado en cada muestra de bebida funcional utilizando un potenciómetro digital, por inmersión directa del electrodo previamente calibrado en buffer de pH 4 y 7. Un contenido de 30mL de la bebida fue colocado en un vaso de precipitados de 100mL para realizar las mediciones de acuerdo con el método 981.12 de la Association of official analytical chemist (A.O.A.C.) (1990). Se analizaron muestras de la bebida elaborada, tomando como referencia los resultados obtenidos de la bebida elaborada por Silvia Elvira Altamirano Jácome en su estudio titulado “desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de muicle (*Justicia spicigera*)” Xalapa, diciembre del 2013.

E. Determinación de acidez titulable

Por naturaleza el té de hierba es de una coloración oscura, las bebidas analizadas fueron sometidas a una clarificación con carbono activado, adicionando media cucharada de esta sustancia en 50mL de muestra de bebida y agitando. Después la mezcla fue filtrada utilizando papel filtro Whatman n°6 para realizar posteriormente la titulación (Lamarque et al., 2008).

La acidez titulable se realizó utilizando el método de la AOAC 942.15 (1990). En un matraz Erlenmeyer de 250mL se colocaron 10mL de muestra de bebida y se agregaron 100mL de agua destilada; se tituló con una solución de hidróxido de sodio 0.1N usando como indicador 0.5mL de fenolftaleína al 2% en etanol. Se analizaron

muestras de la bebida por triplicado, tomando como referencia los resultados obtenidos de la bebida elaborada por Silvia Elvira Altamirano Jácome en su estudio titulado “desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de muicle (*Justicia spicigera*)” Xalapa, diciembre del 2013. Los resultados obtenidos fueron calculados por la siguiente formula:

$$\% \text{ Acidez titulable} = \frac{\text{Vol.NaOH} \times \text{NrNaOH} \times 0.064}{\text{Vol.muestra}} \times 100 \dots \dots \dots 2$$

Dónde:

Vol.NaOH: volumen del NaOH gastado en mL

NrNaOH: normalidad de NaOH

Vol.muestra: en mL

3.4.3. Evaluación sensorial

La evaluación sensorial de la bebida en las tres muestras fue realizada después de 72 horas (aproximadamente) de su elaboración, manteniéndola durante este tiempo en refrigeración a una temperatura de 2-5°C.

Se realizó un análisis sensorial afectivo con el fin de establecer el nivel de agrado o desagrado que provoca una muestra específica. Se utilizó una escala hedónica de 9 puntos (1: me disgusta muchísimo; 2: me disgusta mucho; 3: me disgusta moderadamente; 4: me disgusta un poco; 5: no me gusta ni me disgusta; 6: me gusta un poco; 7: me gusta moderadamente; 8: me gusta mucho; 9: me gusta muchísimo), en donde los descriptores eran los extremos de la escala en los cuales se puntualiza la característica de agrado. Dicha escala cuenta con un punto medio que le sirve al juez como punto de indiferencia a la muestra de bebida.

La bebida fue evaluada por un grupo de 100 jueces no entrenados. Se evaluó un atributo conocido (sabor) con muestras de bebida codificadas, entregadas de forma aleatoria. Los ensayos se realizaron durante la mañana y el medio día (11:00am a 13:00pm), las muestras fueron evaluadas frías (5°C). Las evaluaciones sensoriales se efectuaron en la Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental; Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión del distrito de Huacho, provincia de Huaura-Lima. Los panelistas tenían un vaso con agua purificada y paquete de galleta soda para limpiar el paladar antes y después de la toma de la muestra de bebida, las tres muestras de bebida en vasos y una hoja para evaluar el atributo conocido que era el sabor.

3.4.4. Prueba t-Student aplicada a los resultados de la determinación de polifenoles totales.

Los resultados fueron evaluados mediante la prueba t-Student en el paquete estadístico de Microsoft Excel, versión 2010. Esta prueba será seleccionada debido a que incluye estadísticos poblacionales como la media y la desviación estándar, determinando si las medias que arroja la evaluación de una o dos muestras pertenecen o no a una misma población, indicando si las diferencias encontradas pueden declararse como significativas con un cierto nivel de confiabilidad (Pedrero y Pangborn, 1997).

Tabla 7. Resultados de polifenoles obtenidos de la mezcla en el espectrofotómetro.

Mezcla	Factor de dilución	Absorbancia			Concentración de polifenoles mg AGE*/100 ml			Promedio concent.	DST
					1	2	3		
					a	25	0.133		
b	25	0.136	0.136	0.133	82.0	80.3	79.2	80.5	1.41
c	25	0.146	0.142	0.146	81.0	79.1	80.9	80.3	1.07

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico.

Tabla 8. Resultados de polifenoles obtenidos de la bebida funcional en el espectrofotómetro.

Bebida	Factor de dilución	Absorbancia			Concentración de polifenoles mg AGE*/100 ml			Promedio concent.	DST
					1	2	3		
					A	25	0.132		
B	25	0.133	0.133	0.127	83.0	80.2	81.1	81.4	1.43
C	25	0.139	0.134	0.134	84.8	85.0	84.6	84.8	0.20

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico.

Tabla 9. Prueba t-Student aplicada a los resultados de la determinación de polifenoles totales de la mezcla.

Comparaciones	Sd	Ttab.	Tcal	Significancia
a vs b	0.27	1.734	-1.975	Si
b vs c	0.27	1.734	0.6173	No

Tabla 10. Prueba t-Student aplicada a los resultados de la determinación de polifenoles totales de la bebida.

Comparaciones	Sd	Ttab.	Tcal	Significancia
A vs B	0.27	1.734	-5.309	Si
B vs C	0.27	1.734	-12.47	Si

3.4.5. Prueba de comparaciones múltiples

En el ANOVA se compararon las tres muestras diferentes de bebida funcional, es decir, se hacen comparaciones múltiples. El procedimiento nos indica que primero hacemos una prueba global para saber si existen diferencias en al menos uno de los procedimientos. Si la respuesta es negativa, (es decir, no se rechaza la hipótesis de que las medias son iguales) no es necesario, ni útil, seguir haciendo comparaciones. Pero si los datos nos proveen suficiente evidencia para rechazar la hipótesis de igualdad de medias, entonces la pregunta que surge es ¿cuáles medias o grupos difieren?

Existen diferentes métodos de comparaciones múltiples, y el que se uso es la prueba T para cada par de medias de los resultados del total de polifenoles de las muestras de bebida funcional, esto se conoce como contrastes y "están permitidos" cuando las comparaciones a realizar han sido pre-planeadas en el diseño o protocolo del estudio. Los métodos de comparaciones múltiples nos permiten comparar las medias con un nivel de significación global de $\alpha = 5\%$ (INEI, 2013).

3.4.6. Método de escala hedónica

Es un método efectivo que localiza el nivel de agrado o desagrado que provoca una muestra específica, permite medir preferencias, estados Psicológicos, es usada para ver la posible aceptación del alimento; se pide al juez que luego de su primera impresión

responda cuanto le agrada o desagrada el producto, esto lo informa de acuerdo a una escala estructurada. Según Pedrero (1989).

Es usado para medir el nivel de placer que es capaz de llegar y manifestar al consumidor un determinado alimento. A los panelistas se les pide evaluar las muestras de bebidas codificadas, en una escala de 9 a 1 puntos. Para ellos los panelistas marcan una categoría en la escala según su sensación de agrado dando un valor a cada muestra de bebida. Se puede designar una misma categoría a más de una muestra, los datos obtenidos por la apreciación hedónica pueden ser procesados por la prueba no paramétrica de Friedman que se utiliza para el análisis de varias muestras provenientes de un mismo experimento. Ureña y D'Arrigo (1999).

Las muestras de bebida deben ser presentadas en recipientes idénticos, codificados con números aleatorios de tres dígitos, se utilizan las escalas estructuradas de 9 o 5 puntos o las no estructuradas lineales de 10cm de Longitud donde las respuestas se convierten en datos numéricos al medir desde la izquierda hasta la marca del panelista. Watts et. al. (1992).

3.4.7. Ranking

El método tiene por objetivo seleccionar la mejor muestra, el juez ordena una serie de muestras, de acuerdo al grado de aceptabilidad (Prueba afectiva) de algún determinado atributo (Color, Olor, Sabor, etc.). El número total de muestras ensayadas depende de la capacidad de atención y memoria del sujeto; así como las condiciones fisiológicas. Ureña y D'Arrigo (1999). La codificación de la muestra de bebida se debe realizar mediante letras en vez de números; el análisis de los resultados se realiza sumando los datos de todos los jueces (suma de rangos) para aplicar el análisis estadístico, es recomendable utilizar la prueba no paramétrica de Friedman. Pedrero (1989). La estadística se refiere a un sistema o método usado en la recolección, organización, análisis y descripción numérico de la información, así mismo estudia el comportamiento del grupo. Es un ordenamiento sistemático de datos presentados en formas de cuadros y gráficos, siendo los datos agrupados metódicamente. El análisis estadístico se clasifica en análisis paramétricos y no paramétricos. Martínez (2000).

3.4.8. Análisis estadístico

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre los resultados de la evaluación sensorial en los tratamientos efectuados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis microbiológicos.

El análisis microbiológico realizado a la bebida funcional a las tres muestras; arrojó como resultados un máximo de 35UFC/mL de microorganismos mesofílicos aerobios y <3 microorganismos coliformes totales por mL (Tabla 11). Situándose dentro del límite de lo establecido y cumpliendo de esta forma con la Norma Oficial Mexicana (NOM-218-SSA1-2011 para bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína).

Tabla 11. Resultado de microorganismos mesofílicos aerobios y de coliformes totales en las muestras de bebida.

Microorganismo	Límite Máximo Permisible	Resultados obtenidos en la bebida		
		A	B	C
Mesófilos aerobios UFC/mL	50	35	33	32
Coliformes totales NMP/mL	10	<3	<3	<3

4.2. Análisis fisicoquímicos

En la Tabla 12 se muestran los resultados de la determinación fisicoquímica realizada en la bebida elaborada a base de 25% de extracto de cola de caballo saborizada con 30% extracto de maíz morado edulcorado con 0.07% stevia (muestra C).

Tabla 12. Resultados de los parámetros fisicoquímicos de la bebida (muestra C).

PARAMETROS	VALORES
Polifenoles (mg AGE*/100 mL)	84.8 ± 0.20
Capacidad antioxidante (mg ET*/100 mL)	538.81 ± 0.01
SST (°B)	2.87 ± 0.25
Ph	4.4 ± 0.11
Acidez titulable (%)	0.13 ± 0.02

±: Indica la desviación estándar.

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico.

*ET: Corresponde a equivalente de trolox.

El mayor contenido de polifenoles se obtuvo en la muestra de bebida con mayor contenido de saborizante y endulzante, (muestra C) con 84.8mg EAG/100g o mL de muestra. En la Tabla 14 se muestran los resultados del análisis de contenido de polifenoles totales realizado a las muestras de extracto de cola de caballo a diferentes concentraciones de saborizante y endulzante; sometidas o no a pasteurización.

Tabla 13. Contenido de polifenoles totales de las muestras de la mezcla

Mezcla	Polifenoles (mg AGE*/100 mL)
A	79.97 ± 1.75
B	80.50 ± 1.41
C	80.33 ± 1.07

±: Indica la desviación estándar.

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico.

Tabla 14. Resultado del contenido de polifenoles totales en las muestras de bebida.

Bebida	Polifenoles (mg AGE*/100 mL)
A	80.00 ± 1.44
B	81.43 ± 1.43
C	84.80 ± 0.20

±: Indica la desviación estándar.

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico.

El valor encontrado en la muestra C, se encuentra dentro de los valores reportados por Abbasian et al. (2013), quienes determinaron el contenido de compuestos fenólicos en las siguientes marcas comerciales de té (Tabla 15). De igual forma supera al contenido de polifenoles totales reportado en jugo de naranja (Bravo et al., 2007). Sin embargo el contenido de polifenoles en el extracto de cola de caballo es menor al reportado en jugo de marañón (Esquivel, 2009), al del extracto de maguey morado (Reyes, 2005) y al extracto de muicle (Altamirano, 2013), lo cual se puede relacionar con la astringencia y olor de estas últimas tres bebidas. Es decir, aunque el contenido de polifenoles en el extracto de cola de caballo es menor que el reportado en las bebidas antes mencionadas, su sabor menos astringente y su olor atractivo (por la intervención del maíz morado) podría resultar de mayor aceptación entre los consumidores.

Tabla 15. Resultados de la comparación del contenido de polifenoles totales en diferentes bebidas.

Bebida	Polifenoles (mg AGE*/100 mL)
Bebida de extracto de muicle	107.91 ± 1.82
Té negro Lipton	98.05 ± 11.37
Té negro Jahan	92.74 ± 15.39
Té negro Golestan	85.30 ± 08.53
Bebida de cola de caballo	84.80 ± 0.20
Té negro Akbar	84.70 ± 16.27
Té negro Keila	83.23 ± 24.06
Té negro Shahrzad	74.31 ± 11.08
Té negro Mahmoud	73.23 ± 19.34
Té negro Ahmad	66.53 ± 17.23
Jugo de naranja (mEq. AG/100 mL)	62.07 ± 0.00
Jugo de marañón	232.10 ± 00.78
E. maguey morado	210.00 ± 00.00
E. de rosa damasco	70.15 ± 32.03
E. de azafrán	20.44 ± 07.41
E. de flor de naranja	15.92 ± 13.21
E. de manzanilla	20.21 ± 10.52
E. de tomillo	58.17 ± 17.57
Té negro Bamdad	55.91 ± 10.13

±: Indica la desviación estándar.

E: Extracto.

*AGE: Corresponde a equivalente de ácido gálico

La actividad antioxidante que se determinó en las tres muestras de bebida funcional (Tabla 17), siendo la muestra C la del valor más altos; con 5.39 ± 0.01 mg ET/mL de muestra, siendo este resultado superior a los valores obtenidos por Rocha-Guzmán et al. (2012), Quienes determinaron dicha actividad en diferentes extractos de sauco y obtuvieron como resultado más alto el valor 0.15mg ET/g en la especie Q. resinosa y 0.10mg ET/ g en el té comercial marca Laggs y a la ves resultado un valor mucho más alto a las que obtuvo Altamirano J. (2013) de 2.05mg ET/g en su estudio de la bebida de extracto de muicle.

Tabla 16. Resultados de la actividad antioxidante en las tres muestras de la mezcla.

Mezcla	Actividad antioxidante (mg ET*/g muestra)
A	4.53 ± 0.46
B	5.16 ± 0.15
C	5.27 ± 0.08

±: Indica la desviación estándar.

*ET: Equivalente de trolox

Tabla 17. Resultados de la actividad antioxidante en las tres muestras de la bebida.

Bebida	Actividad antioxidante (mg ET*/g muestra)
A	4.85 ± 0.28
B	5.28 ± 0.09
C	5.39 ± 0.01

±: Indica la desviación estándar.

*ET: Equivalente de trolox

El contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante de las muestras antes (802.67mg AGE/L y 5.27±0.08mg ET/mL) y después (817.22 mg AGE/L y 5.39±0.01mg ET/mL) de la pasteurización no fue afectado de forma significativa de acuerdo con el análisis.

Se observó un nivel de pH correspondiente a 4.4, el cual es similar al obtenido en el estudio que realizo Altamirano J. (2013) en su estudio de la bebida de extracto de muicle. El contenido de solidos solubles totales (SST) fue de 2.87°Brix, resultadando un valor por encima de los que obtuvo Altamirano J. (2013) en su estudio de la bebida de extracto de muicle, lo cual esto puede deberse al extracto de maíz morado utilizado en la elaboración de la bebida; la alta fructosa que este contiene (respectivamente). Con respecto a la acidez titulable, determinada como porcentaje de ácido cítrico, se observó que el resultado obtenido fue de 0.13%, porcentaje similar a los obtenidos por Altamirano J. (2013) en su estudio desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de muicle. Estos resultados se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18. Comparación de resultados de pH, grados Brix y acidez titulable en diferentes bebidas.

Bebida	pH	SST (°B	Acidez titulable (% Ácido cítrico)
Bebida de cola de caballo	4.4 ± 0.11	2.87 ± 0.25	0.130 ± 0.020
Té helado de muicle	4.31 ± 0.07	2.73 ± 0.05	0.130 ± 0.010
Té helado Lipton	4.82 ± 0.06	8.93 ± 0.23	0.200 ± 0.013
Té helado Fuze tea	3.98 ± 0.05	8.53 ± 0.51	0.194 ± 0.010

±: Indica la desviación estándar.

4.3. Análisis Sensorial y estadístico

En la evaluación sensorial se realizó a 100 jueces no entrenados, el 60% de los panelistas eran mujeres y el 40% hombres (Figura 7); además de que el 80% de ellos comprendía edades entre los 18 y 20 años, y el 20% restante entre los 21 y 45 (Figura 10).

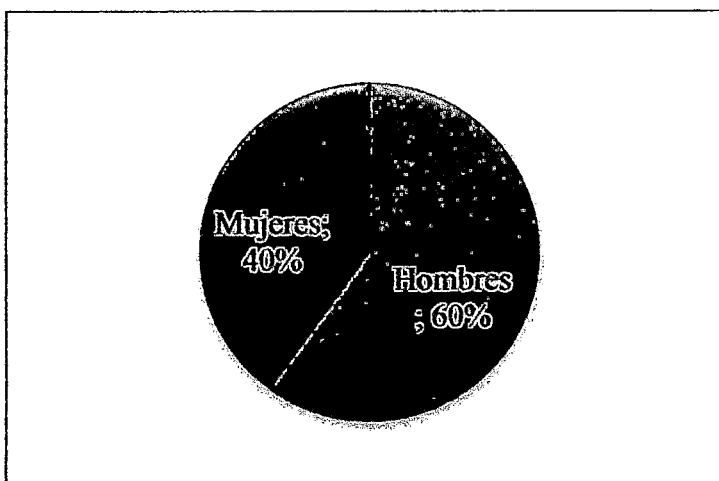


Figura 7. Distribución de género de los panelistas que realizaron la prueba sensorial

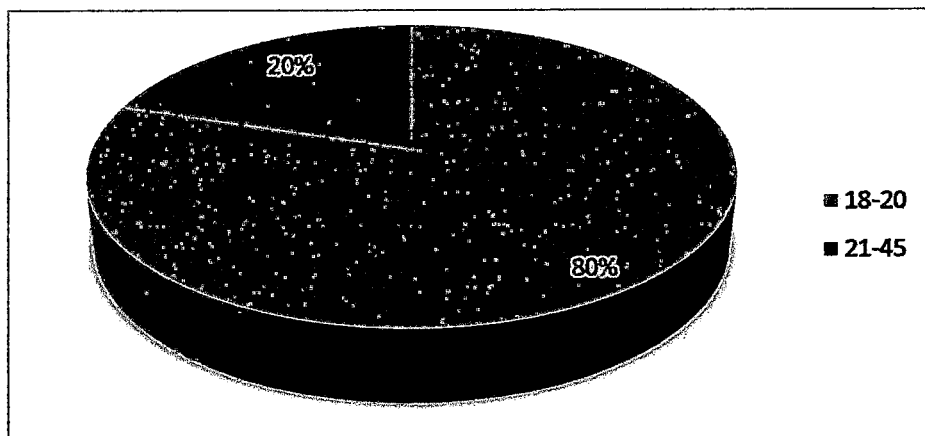


Figura 8. Distribución de edades entre los panelistas

La evaluación sensorial se realizó a 100 jueces no entrenados, mostró que los porcentajes de preferencia para la muestra C se inclinan dentro de la zona de aceptación siendo un 12, 9 y 8% en “Me gusta mucho”, “Me gusta muchísimo” y “Me gusta moderadamente” respectivamente. De igual forma la muestra B también se encuentra dentro de la zona de aceptación teniendo porcentajes de 10, 9 y 4% “Me gusta un poco”, “Me gusta moderadamente y “Me gusta mucho” respectivamente. Respecto a la muestra A, la que tenía menor contenido de endulzante, se ubica dentro de la zona neutral siendo un 9, 7 y 4% en “Me gusta moderadamente”, “Me gusta un poco” y “No me gusta ni me disgusta” respectivamente, siendo así la de menor aceptación de las tres muestras. De forma gráfica estos resultados se expresan en la Figura 9.

Se decidió que otra forma de expresar los resultados es sumando la calificación que cada uno de los 100 jueces le asignó a cada una de las muestras. Es decir, los valores del 1 al 9 (de acuerdo con la escala hedónica) con el que cada uno de los jueces calificó una muestra, fueron sumados obteniendo de esta forma un puntaje total de preferencia por cada muestra, que permitió observar un resultado más concreto, evidenciando cuál de las tres presentaciones tuvo mayor preferencia, como se muestra en la Figura 10.

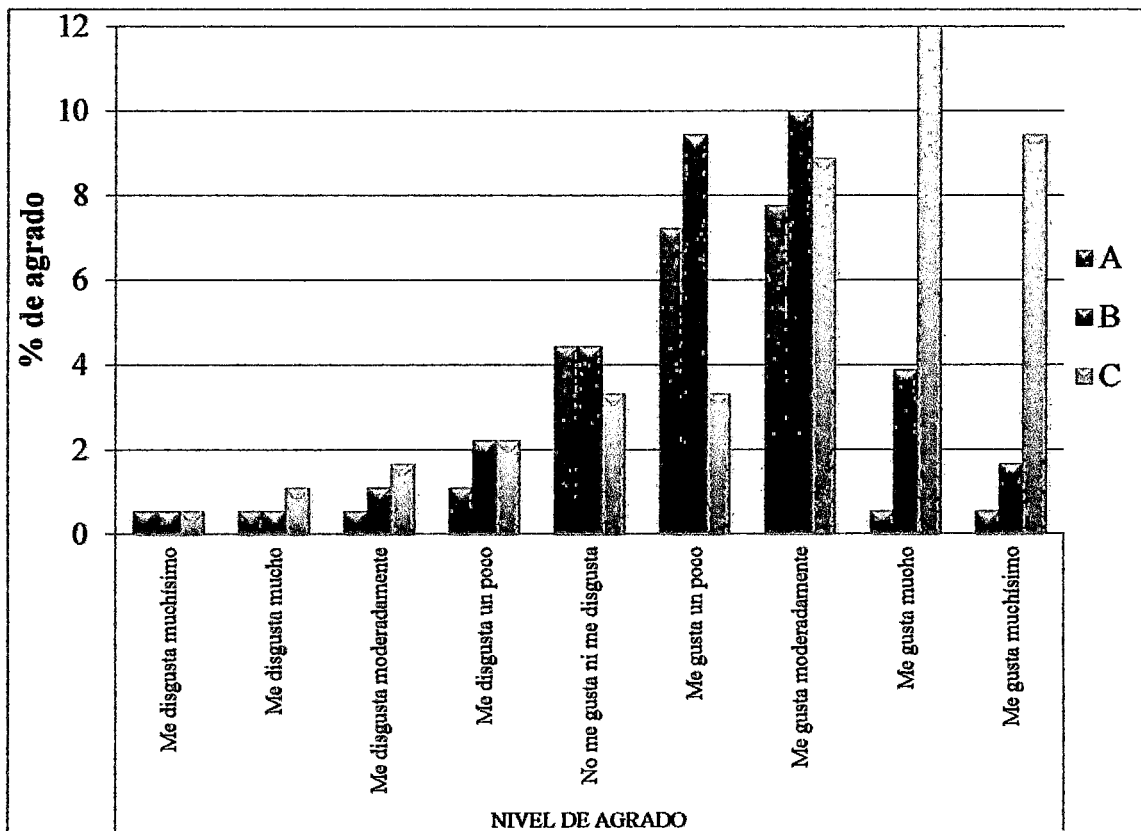


Figura 9. Resultados de la evaluación sensorial del sabor de la bebida preparada en sus tres muestras diferentes.

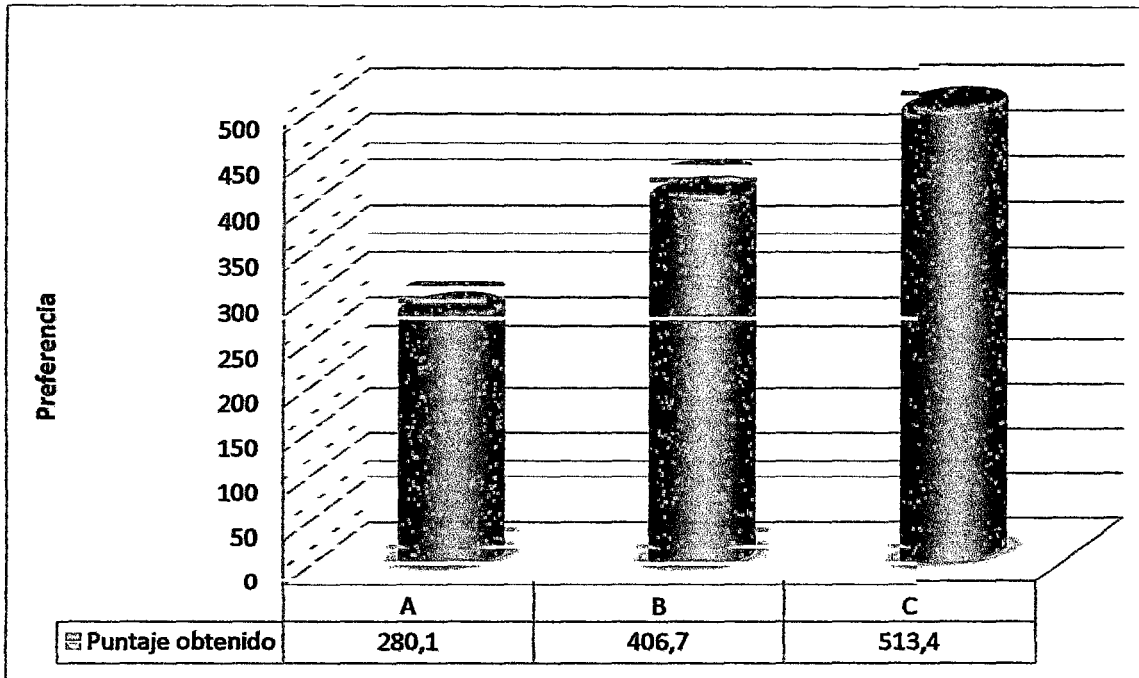


Figura 10. Resultados de preferencia por parte de los consumidores

La bebida seleccionada por ser la de mayor preferencia tanto para hombres como para mujeres, en un rango de edad de 18 a 45 años fue la muestra C (Figura 11).

Por lo anterior se seleccionó la muestra C, para determinar el contenido de sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable.



Figura 11. Bebida de 25% extracto de cola de caballo saborizada con 30% extracto de maíz morado edulcorado con 0.07% stevia.

4.3.1. Prueba de comparaciones múltiples

A. Prueba t

$$T_{cal} = \frac{\hat{Y}_{i0} - \hat{Y}_{0j}}{Sd}$$
$$Sd = \sqrt{CM_{Error} \left(\frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} \right)}$$

Dónde:

\hat{Y}_{i0} : Promedio de la variable o tratamiento T_1

\hat{Y}_{0j} : Promedio de la variable o tratamiento T_2

Sd: Diferencia significativa

CM_{Error} : Media cuadrática del error

r_i y r_j : Número de observaciones correspondientes a cada media.

B. Regla de decisión

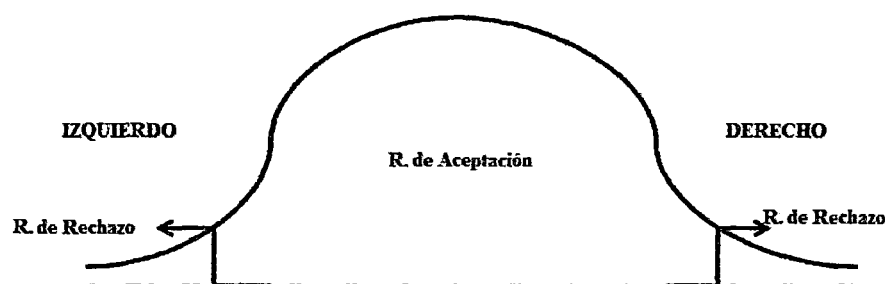


Figura 12. Muestra la campana de la regla de decisión.

A continuación se describe la regla de decisión según posición lateral.

- Si $T_{cal} > T_{tab}$ → se rechaza la H_0 (si la hip. Es lateral derecho)
 $H_1: T_1 > T_2$ o $T_1 - T_2 > 0$
- Si $T_{cal} < T_{tab}$ → se rechaza la H_0 (si la hip. Es lateral izquierdo)
 $H_1: T_1 < T_2$ o $T_1 - T_2 < 0$
- Si $|T_{cal}| < T_{tab}$ → se rechaza la H_0 (si la hip. Es bilateral)
 $H_1: T_1 \neq T_2$

C. Solución del problema

Tabla 19. Resultados de polifenoles obtenidos de la bebida funcional en el espectrofotómetro.

Bebida	Factor de dilución	Absorbancia			Concentración de polifenoles mg AGE*/100 ml			Promedio concent.	DST
					1	2	3		
A	25	0.132	0.130	0.132	80.4	81.2	78.4	80.0	1.44
B	25	0.133	0.133	0.127	83.0	80.2	81.1	81.4	1.43
C	25	0.139	0.134	0.134	84.8	85.0	84.6	84.8	0.20

a. Formulación de las hipótesis

H_0 : No existe diferencia significativa entre las muestras de bebida funcional.

H_1 : Si existen diferencias significativas por lo menos en dos muestras de bebida funcional.

Con un nivel de significancia de $\alpha=0.05$

b. Técnica de ANOVA

$$SC_{Total} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - T_{..}^2/n$$

$$SC_{Total} = 60675.61 - \frac{738.7^2}{9}$$

$$SC_{Total} = 44.76$$

$$SC_{trat.} = \sum_{j=1}^K Y_{ij}^2 - T_{..}^2/n$$

$$SC_{Trat.} = \left(\frac{248.2^2}{3}\right) + \left(\frac{246.4^2}{3}\right) + \left(\frac{244.1^2}{3}\right) - \frac{738.7^2}{9}$$

$$SC_{Trat.} = 2.82$$

$$SC_{error} = SC_{TOTAL} - SC_{Trat.}$$

$$SC_{error} = 44.76 - 2.82$$

$$SC_{error} = 41.94$$

Tabla 20. Resultados de la técnica de ANOVA

F. de V.	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática
Tratamiento	2.82	2	0.0282
Error	41.94	6	0.4194

c. Resultados de las comparaciones múltiples de las tres muestras de la bebida funcional.

Tabla 21. Resultados de las comparaciones múltiples de las tres muestras de la bebida funcional desarrollada con la prueba t-Student con un error de confianza del 5%.

Comparaciones	Sd	Tcal.	Ttab.	Regla de decisión	Significancia
A vs B	0.10	-14	1.94	Tcal < Ttab → se rechaza H_0	Si
A vs C	0.10	-48	1.94	Tcal < Ttab → se rechaza H_0	Si
B vs C	0.10	-34	1.94	Tcal < Ttab → se rechaza H_0	Si

Todas las posibles comparaciones presentan una diferencia significativa, eso quiere decir que las tres muestras de bebida funcional difieren una de la otra.

4.3.2. Análisis Sensorial y Estadístico Escala Hedónica – Ranking

La bebida fue evaluada por un grupo de 10 jueces no entrenados. Se evaluó los atributos sensoriales olor, color, sabor y aspectos generales; obteniendo así los resultados que se muestra en la tabla 22.

Tabla 22. Resultado promedio de la evaluación sensorial de la bebida funcional por la escala hedónica.

Atributo	Muestras		
	A	B	C
Olor	5.2	5.7	7.5
Color	5.8	6.2	7.8
Sabor	5.5	6.3	7.9
A. Generales	5.3	6.6	7.9

Donde a simple vista se puede mostrar que la muestra C es la de mayor calificación promedio acumulada y a la vez existe diferencia entre las tres muestras de bebida, a continuación se muestra gráficamente en la figura 13.

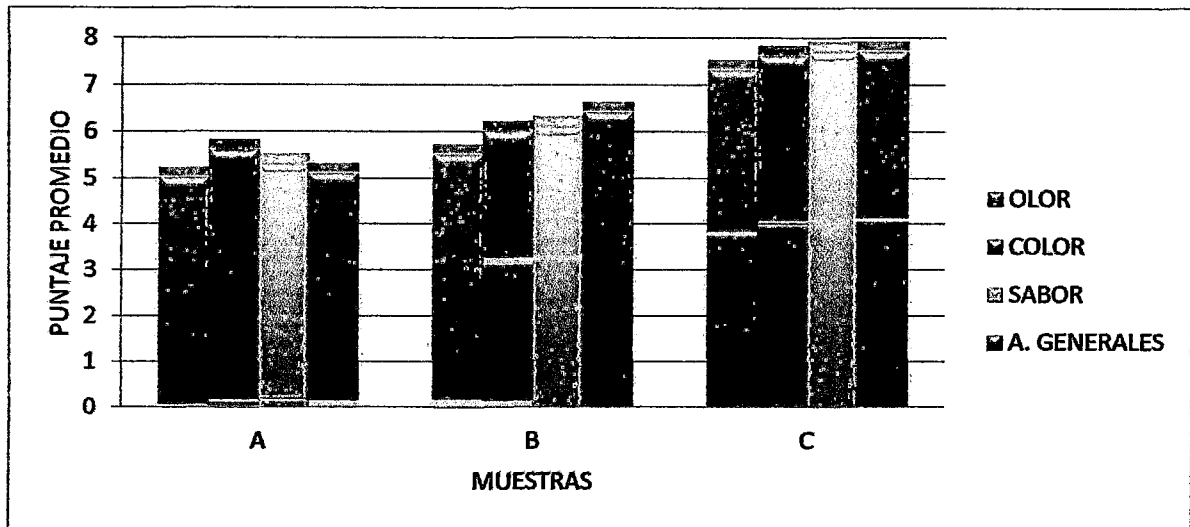


Figura 13. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida por escala hedónica.

Dentro del bloque de los resultados de la calificación de cada juez no entrenado que emitió según su criterio, se ordenan las calificaciones de menor a mayor y luego se les asigno rangos (1, 2 y 3). A continuación se muestra los resultados promedios de las calificaciones en la tabla 23.

Tabla 23. Resultado promedio de las calificaciones de la evaluación sensorial de la bebida-Ranking.

Atributo	Bebidas		
	A	B	C
Olor	1.4	1.75	2.85
Color	1.4	1.8	2.8
Sabor	1.2	2	2.8
A. Generales	1.2	1.8	3

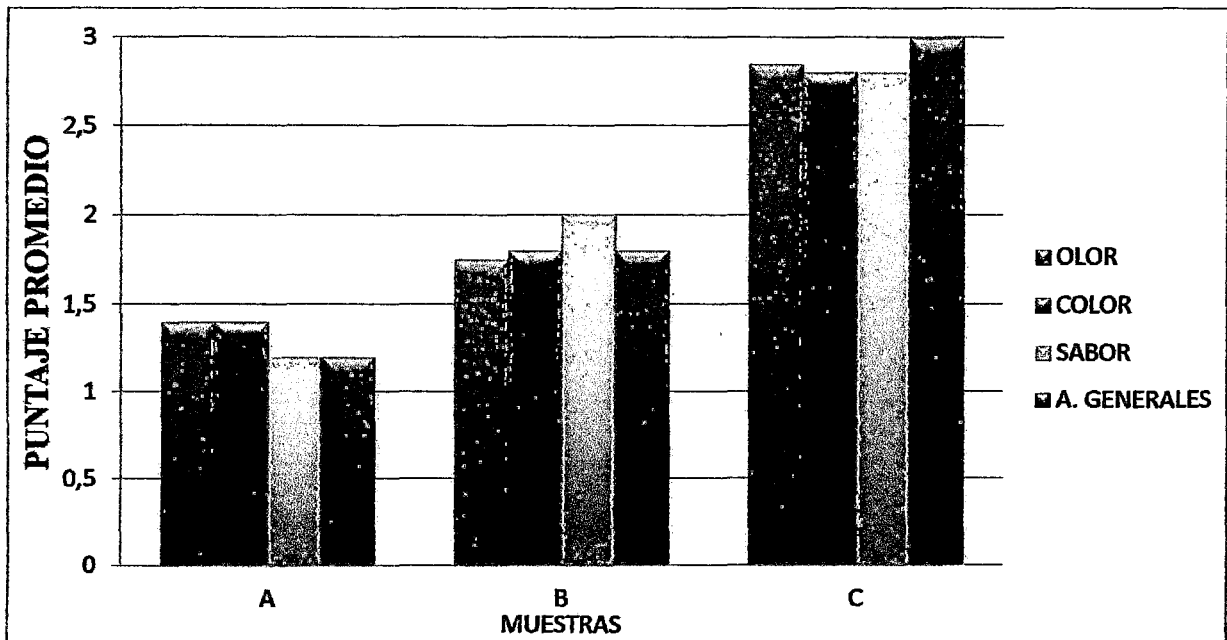


Figura 14. Resultados promedios de las calificaciones de la evaluación sensorial de la bebida por ranking.

a. Planteamiento de las hipótesis

H_0 : No hay diferencia significativa entre las muestras de la bebida funcional.

H_1 : Si existen diferencias significativas en al menos dos muestras de bebida funcional.

Con un nivel de significancia de $\alpha=5\%$

b. Estadístico de prueba

Para resolver el contraste de hipótesis anterior, Friedman propuso un estadístico que se distribuye como una Chi-cuadrado con $K-1$ grados de libertad, siendo K el número de variables relacionadas; se calcula mediante la siguiente expresión.

$$X_r^2 = \frac{12}{bk(k+1)} \sum R_i^2 - 3b(k+1)$$

Dónde:

X_r^2 = estadístico calculado del análisis de varianza por rangos de Friedman.

b= representa el número de elementos o de bloques (número de hileras)

k= el número de variables relacionadas

$\sum Rc^2$ = es la suma de rangos por columnas al cuadrado.

Tabla 24. Rangos de los atributos sensoriales de la bebida-Ranking

Atributos	Bebidas a diferentes concentraciones			Rangos
	A	B	C	
Olor	14	17.5	28.5	60
Color	14	18	28	60
Sabor	12	20	28	60
A. Generales	12	18	30	60

c. Regla de decisión.

Si $X^2_{r,Cal} > X^2_{r,Tab}$, se rechaza H_0 y se acepta H_1 , Grados de libertad: 2

Tabla 25. Resultados de Chi-Cuadrado x^2 para los atributos sensoriales de la bebida.

Atributo	$X^2_{r, Cal}$	$X^2_{r, Tab}$ (5%)	$X^2_{r, Tab}$ (1%)	$X^2_{r, Cal}$ vs $X^2_{r, Tab}$	Significancia
Olor	11.45	5.99	9.21	$X^2_{r, Cal} > X^2_{r, Tab}$	si
Color	10.4	5.99	9.21	$X^2_{r, Cal} > X^2_{r, Tab}$	si
Sabor	12.8	5.99	9.21	$X^2_{r, Cal} > X^2_{r, Tab}$	si
A. Generales	16.8	5.99	9.21	$X^2_{r, Cal} > X^2_{r, Tab}$	Si

Como $X^2_{r, Cal} > X^2_{r, Tab}$, entonces se rechaza H_0 y se acepta H_1 eso quiere decir que existen diferencias significativas en todas muestras diferentes de bebida funcional.

V. CONCLUSIONES

- Los parámetros óptimos en la elaboración de la bebida fueron los siguientes: Los extractos fueron obtenidos por extracción sólido-líquido: 1:6 (cola de caballo: agua), 1:4 (maíz morado: agua), 100°C y 15 minutos. La formulación óptima de la bebida fue de: 25% de extracto de cola de caballo, 30% extracto de maíz morado y 45% de agua tratada, 0.07% de stevia en polvo y 0.1% de ácido cítrico (muestra C), se llevó a un tratamiento térmico (pasteurizado) a 90°C por 10 minutos, envasado en envases de 500mL, enfriado a temperatura ambiente y almacenado en refrigeración de 2 a 5°C.
- Los resultados fisicoquímicos de la bebida se encuentran dentro de los parámetros tomados como referencia, $2.87 \pm 0.28^\circ\text{Brix}$ SST, 4.4 ± 0.11 pH, $0.13 \pm 0.02\%$ acidez, ($84.8 \pm 0.20\text{mgAGE}/100\text{mL}$) contenido de polifenoles y ($5.39 \pm 0.01\text{mgET}/\text{mL}$) de actividad antioxidante, la bebida funcional elaborada en una presentación de 500mL estaría contribuyendo con el 65.3% ingesta diaria recomendada de polifenoles.
- De acuerdo con la norma Mexicana NOM-218-SSA1-2011, la cuenta total de microorganismos mesófilos aerobios permitida no debe ser mayor a 50UFC/mL y el NMP (número más probable) de coliformes totales por mL no debe ser superior a 10, por lo tanto, los resultados de la prueba se situaron en el límite establecido (35UFC/mL de microorganismos mesofílicos aerobios y <3 microorganismos coliformes totales por mL).
- De acuerdo a los resultados estadísticos de los atributos (Olor, Color, Sabor y Aspectos Generales) evaluados en las muestras de bebida elaborada a un nivel de significancia del 5% se determinó que si presentan diferencias significativas entre ellas por lo que la muestra C (25% extracto de cola de caballo saborizada con 30% extracto de maíz morado edulcorado con 0.07% stevia) se ubica dentro del nivel de agrado por los consumidores.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar la vida de anaquel del producto elaborado para conocer la estabilidad de sus componentes durante su almacenamiento en refrigeración y a temperatura ambiente, probando con diferentes conservadores y determinando de esta forma la caducidad del producto.
- Se recomienda realizar investigaciones con otros saborizantes que puedan aportar cantidades significativas de polifenoles y la actividad antioxidante a la bebida, con el fin de aumentar su contenido, sin alterar demasiado la proporción de extracto de cola de caballo.
- En la bebida elaborada se utilizó edulcorante procesado (stevia en polvo), se recomienda realizar investigaciones con stevia sin procesar (uso de hojas de stevia) y así ver si se puede aumentar la aportación de cantidades significativas de polifenoles y la actividad antioxidante a la bebida, sin alterar demasiado la proporción de extracto de cola de caballo.
- Se recomienda realizar investigaciones de metodología de conservación de los componentes de polifenoles y la actividad antioxidante, tomando otros parámetros de tiempo y temperatura.

VII.FUENTES BIBLIOGRÁFICAS

7.1. Fuentes bibliográficas

- Abbasian S., Karimi F., Moghaddam G., Soroush A., Moloudian H. and Sadat Ahosseini M. (2013). Antioxidant properties of different black tea samples and some Iranian native plants. *Pharmacy global international journal of comprehensive pharmacy*, vol 4, nº2.
- Andreyeva T., Chaloupka F. y Brownell K. (2011). Estimating the potential of taxes on sugar-sweetened beverages to reduce consumption and generate revenue. *Preventive medicine*, 52, 413-416. doi:10.1016/j.ypmed.2011.03.013
- A.O.A.C. (1990). Association of official analytical chemist. *Official Methods of Analysis* Virginia, p.p. 1000-1050.
- Aranceta J. y Gil A. (2010). *Alimentos funcionales y salud en las etapas infantil y juvenil*. Madrid: Médica Panamericana.
- Asociación Americana de Dietética (2004). Position of the Americana Dietetics Association functional position statement. *Journal of American Dietetic Association*, 104: 814-826
- Bello G. (2005). *Calidad de vida, alimentos y salud humana: Fundamentos científicos*. España, Díaz de Santos.
- Berto D. (2003). Bebidas ñao alcohólicas- Apelo “saudável” impuliona consumo. *Food Ingredients*, 24, 32-34.
- Block G., B. Patterson and A. Subar (1992). Fruits, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and cancer*, 18:1-29.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. and Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25- 30.
- Bravo L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition review*, 56: 317-333
- Calvo B., Gómez C., López N. y Royo B. (2013). *Nutrición, Salud y Alimentos funcionales*. España: Arazandi.
- Chyu K., Babbidge S., Zhao X., Dandillaya R., Rietveld A., Yano J., Dimayuga P., Cercek B. and Shah P. (2004). Differential effects of green tea-derived catechin on developing versus established atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Circulation*, 109, 2448-2453.
- Colegio Oficial de Farmacéuticos de Biz Kaia. Asociación Española de Medicos Naturistas (1998). *Fitoterapia: Vademécum de Prescripción de Plantas Medicinales*. Barcelona, España. Masson S.A, Tercera Edición

- Díaz, I. (2008). Estudio del empleado del Yacon y de una cepa prebiótica para obtener una bebida funcional. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann Tacna. Tacna – Perú.
- Esquivel R. (2011). Elaboración de una bebida a base del fruto de marañón (*Anacardium Occidentale* L.) Adicionado con betalainas. [Tesis inédita de maestría] Universidad Veracruzana: Xalapa, Veracruz.
- FAO (2010). Small-scale food processing. A guide for appropriate equipment. Disponible en <http://www.fao.org/WARRdocs/x543e/x543e00.htm#Contents>
- Ferrari P., De Dea L., Thomaz S., Parada and Soccol (2012). Development of an innovative nutraceutical fermented beverage from herbal mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hill.) extract. *International Journal of Molecular Science*, 13, pp. 788-800. doi: 10.3390/ijms13010788.
- García-Closas R., Agudo A., González C. A. and Riboli E. (1998). Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of lung cancer in women in Barcelona, Spain. *Nutrition Cancer Journal*, 1998, 32, 154-158.
- Gimeno E. (2004). Compuestos fenólicos: un análisis de sus beneficios para la salud. *OFFARM: farmacia y sociedad*, vol. 23, nº6
- GNDP (Base de datos global de nuevos productos Mintel) (2010). Functional beverages.
- González S.J., Muliz R. y Valls B. (2001). Actividad antioxidante de la cerveza: estudio in vitro in vivo. *Centro de la información: cerveza y salud*, Universidad de Valencia. 1-57.
- Hall C. (2004). Origen de los antioxidantes naturales: aceites de semillas, frutos secos, cereales, legumbres, productos de origen animal y de origen microbiano. En Pokorny, Yanishlieva y Gordon (Eds.), *Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones prácticas*, (153-198). Acribia, Zaragoza, España.
- Halliwell B., Murcia A., Chirico, and O. Auroma I. (2000). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work paradox. *Critical review in Food Science and Nutrition*, 35, 7-20.
- Hollman O., L. Tijburg L. and C. Yang (1997). Bioavailability of flavonoids from tea. *Critical Reviews Food Science Nutrition*, 37 (8), 719-738.
- Hözer B. and Kimarci H.A. (2010). Functional milks and dairy beverages. *International Journal of Dairy Technology*, 63(1). doi: 10.1111/j.1471- 0307.2009.00547.x
- Hunt J. V., Dean R. T., Wolff S. T. (1988). Hydroxyl production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Journal Biochemistry*. 256: 205-212.

- Johnson F. (2004). Propiedades antitumorales de los antioxidantes. En Pokorny, Yanishlieva y Gordon (Eds.), *Antioxidantes de los alimentos: Aplicaciones prácticas* (97-117). Acribia, Zaragoza, España.
- Kamath A., Wang L., Das H., Li L., Reinhold V. and Bukowski J. (2003). Antigens in tea-beverage prime human V γ 2V δ 2 T cells in vitro and in vivo for memory and nonmemory antibacterial cytokine responses. *National Jewish Medical and Research Center*, 100 (10), 6009-6014.
- Kausar H, Saeed S, Ahmad M. and Salam A. (2012). Studies on the development and storage stability of cucumber-melon functional drink. *Journal of Agriculture Research*, 50 (2), 238-248.
- Knekt P., R. Jarvinen, R. Seppanen, M. Heliovaara, L. Teppo, E. Pukkala and A. Aromaa (1997). Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *American Journal of Epidemiology*, 146, 223-230.
- Lamarque A., Zygadlo J., Labuckas D., López L., Torres M. y Maestri D. (2008). *Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica*. Encuentro: Argentina.
- Lutz M. y Zuleta A. (2009). Relación entre la alimentación y la salud del consumidor. En Lutz M. y León E. (Eds.) *Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación* (pp. 17-25). Chile: Universidad de Valparaíso.
- Martínez-Carrera D., Curvetto N., Sobal M., Morales P. y Mora V. M. (Eds.). (2010). *Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción-consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y perspectivas del siglo XXI*. México
- Martínez-Valverde P., Periago MJ, Ríos G (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 50: 5-18
- Matsunaga, K; Sasaki, S; Ohizumi, Y. (1994). Excitatory and inhibitory effects of paraguayan medicinal plants *Equisetum giganteum*, *Acanthospermum australe*, *Allopylus edulis* and *Cordia salicifolia* on contraction of rabbit aorta and guinea-pig left atrium. *Natural Med* 51 (5): 478-481.
- Mímica N., Simin N., Cvejic, J., Jovin E., Orcic D, y Bozin B. (2008). Phenolic Compounds in Field Horsetail (*Equisetum Arvense* L.) as Natural Antioxidants. *Molecules*, 13:1455-1464.
- Noguchi N. and Niki E. (1999). Free radicals and active oxygen species. *Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health*. Am Papas (Ed.), CRC Press, Boca Raton, pp 3- 20.
- NOM-086-SSA1-1994. Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.

- NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Organización Mundial de la Salud (2004). Global Strategy on Diet. Physical Activity and Health. Doc. WHA57.17.
- Pedrero D y Pangborn R. M. (1997). Evaluación sensorial de los alimentos. Métodos analíticos. Alhambra Mexicana: México.
- Pratt D.E. and Hudson F.J.B. (1990). Natural antioxidants not exploited. En FJB. Hudson (Ed). Amsterdam Elsevier Food antioxidants, pp. 171-192.
- Ramos E., Romeo J., Wärnberg J. y Marcos A. (2007). ¿Más que alimentos? En Barberá y Marcos (Eds.) Alimentos funcionales: aproximación a una nueva alimentación. Pág. 30-45, Dirección General de Salud Pública y alimentación: Madrid, España.
- Reyes M. (2005). Efecto de las propiedades antioxidantes del extracto de maguey morado (Rhoeo discolor) durante el procesamiento y almacenamiento. (Tesis inédita de maestría) Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz.
- Rocha-Guzmán N.E., Medina-Medrano J.R., Gallegos-Infante J.A., González- Laredo R.F., Ramos-Gómez M., Reynoso-Camacho M., Guzmán-Maldonado H. and González-Herrera S.M. (2012). Chemical evaluation, antioxidant capacity, and consumer acceptance of several oak infusions. *Journal of Food Science*, 77(2), pp. 162-166. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011-02524.x
- Rodríguez Navas, Hernan. (2000). Utilidad de las plantas Medicinales en Costa Rica. San Jose, Costa Rica. Editorial Universidad Nacional, Primera Edición.
- Sakagami H and Satoh K. (1997). Modulating factors of radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate (review). *Anticancer Research*, 17(5A):3513-20.
- Shahidi F., Janitha P. and Wanasundara P. (1992). *Critical Review Food Science Nutrition*, 3 (1): 67-103.
- Salamanca, G. et al. (marzo, 2010). "Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de Borojo (Borojoa patinoi Cuatrec)". Universidad del Tolima. *Rev Chil Nutr Vol. 37, N°1. Tolima-Colombia.*
- Shi H., Noguchi N. y Kiki E. (2004). Introducción a los antioxidantes naturales. En Pokorny, Yanishlieva y Gordon (Eds.), *Antioxidantes de los alimentos (141-151)*. Acribia, Zaragoza, España.

- Singleton V.L. and Rossi J.A. Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Stephen A. M. (1998), Aspectos normativos de los productos funcionales. En G. Mazza (Ed.) *Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado* (401- 439). Acribia, Zaragoza, España.
- Teijón J.M., García J. A., Jiménez Y. and Guerrero I. (2006). *La química en problemas*. Tébar, Madrid, España.
- Tsao, R. and Yang, R. (2003). "Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, Vol. 1018, pp. 29-40.
- Tsimidou M. (1998). Polyphenols and Quality of Virgin Olive Oil in Retrospect. *Italian Journal of Food Science* 10: 99-116
- Van Het Hof. H., Kivits G. A., Westrate J and Tijburg L. B: (1998). Bioavailability of catechins from tea: the effect of milk. *Eur Journal Clinic Nutrition*, 52, 356-359.
- Virgili F., C. Scaccini, L. Packer y G. Rimbach (2004). Enfermedades cardiovasculares y sustancias fenólicas nutricionales. En Pokorny, Yanishlieva y Gordon (Eds.), *Antioxidantes de los alimentos* (85-96). Acribia, Zaragoza, España.
- Wang H., Provan G., Helliwell K., Ransom W. and Son (2000). The functional benefits of flavonoids: the case of tea. En Johnson and Williamson (Eds.), *Phytochemical functional foods* (128-159). CRC Press LLC, Norte America.
- Webb Geoffrey P. (2007). *Complementos nutricionales y alimentos funcionales*. Celesa, España.
- Wildman, R. E. C. and Kelley, M. (2007). Nutraceuticals and Functional Foods. En Wildman, R. (Ed.) *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods* (1-21). CRC press, Estados Unidos.
- Wilson T. and Temple J.N. (2004). *Beverages in nutrition and health*. Nueva Jersey: Humana Press.
- Yu and Bogue (2013). Concept optimization of fermented functional cereal beverages. *British Food Journal*, 115(4), 541-563. DOI 10.1108/00070701311317838.

7.2. Fuentes hemerográficas

- Mena, A.C. (2011). "Proyecto de factibilidad para la creación de una empresa productora y comercializadora de una bebida hidratante con sabor a hierbas medicinales en la ciudad

- de quito” (tesis para optar el título de Ingeniero Comercial). Universidad Técnica Particular de Loja, Quito.
- Orozco, M. A. (2013). “Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de molle (*Schinus molle*), cola de caballo (*Equisetum arvense* L.), linaza (*Linum usitatissimum* L.) en ratones (*Mus musculus*)” (tesis para optar el título de Bioquímico farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador.
- Vargas, V. (2012). Elaboración de té aromático a base de plantas cedrón (*aloysiacitrodora*) y toronjil (*mellisofficinalis*) procesado con stevia (*stevia rebaudiana bertonii*) endulzante natural, utilizando el método de deshidratación. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga – Ecuador
- Aguilar, M. M. (2008). “Elaboración de una Bebida de Frutas y Plantas Medicinales a Base de Jugo de Noni Microfiltrado Tangencialmente para Incentivar su Consumo”. (Proyecto para optar el título de licenciado en Ciencias Agrarias). Universidad EARTH. Guácimo, Limón, Costa Rica.
- Valarezo Cruz, J. & García Ramón, D. (2008). “Adaptación tecnológica para la obtención de una bebida refrescante elaborada a partir de plantas aromáticas Loja - Ecuador”. (Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniera Química e Ingeniero en Industrias Agropecuarias). Loja – Ecuador.
- Altamirano Jacome, S. (2013) “Desarrollo de una bebida funcional elaborada a base de extracto de Muicle (*Justicia spicigera*)”. (Tesis para optar una Experiencia Recepcional). Universidad Veracruzana. Xalapa.
- Quirós Chaves, A. F. (2004). “Efectividad de la planta llamada cola de caballo en el proceso de cicatrización de los tejidos orales post-exodoncia de pacientes sin antecedentes patológicos y no patológicos, entre las edades de 18 a 40 años, del curso de exodoncia, en la Clínica de Especialidades Odontológicas ULACIT, durante el primer y segundo cuatrimestre del año 2004.” (proyecto de graduación para optar por el grado de licenciatura en odontología) .Universidad Latinoamericana de Ciencias y Tecnología. San José, Costa Rica
- Terán, E. (2010). Proyecto de inversión para la elaboración de un edulcorante natural hecho a base de stevia provincial del oro. Tesis Escuela Superior Politécnica del Litoral Espol. Guayaquil. Ecuador.

7.3. Fuentes electrónicas

- Ccatamayo, G. y Valderrama, V. (2010). Aprovechamiento del (*Ayrampu Berberi ssp.*) en el procesamiento de una bebida funcional para la seguridad alimentaria. Universidad Nacional de Huancavilca. FAO – Perú. [03.06.2013]
- FDA. (2012). Información sobre alimentos.
<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM311101.pdf>
[10.04.2013]
- García, L. y Olmo, V. Las vitaminas en los cereales Universidad Politécnica de Cataluña, Instituto de Ciencias de la Educación.
<http://s2ice.upc.es/documents/eso/aliments/HTML/cereal-3.html> [03.07.2009]
http://www.fesnad.org/publicaciones/pdf/guia_alimentos_funcionales.pdf [21.04.2013]
http://es.wikipedia.org/wiki/Alimentos_funcionales [21.04.2013]
- Naranjo, E. (2008) Directora Nacional Línea Nutricional, TECNAS S.A,
<http://www.revistaalimentos.com.co/ediciones/edicion4-2/bebidas/bebidas-funcionales-una-necesidad-saludable.htm>[16.05.2013]
- OMS (Organización Mundial de la Salud) (2013). Enfermedades no transmisibles. Disponible en:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/>[Disponible en línea: Julio, 2013]
- Olagnero, G. (2007). Alimentos funcionales, fibra, prebióticos, prebióticos y simbióticos. Argentina. www.fmed.uba.ar/depto/nutrinormal/funcional_fibra.pdf [03.04.2013]
- Roberts A.; Rubio, A. y Gerhard, E. (2003). Nutracéuticos: suplementos nutricionales, vitaminas, minerales, oligoelementos, alimentos curativos. Barcelona. RoobinBook.
<http://books.google.com.ec/books?id=gBSIfEk30MUC&pg=PA237&dq=betaglucanos&hl=es419&sa=X&ei=ItZdUdX3GoLo8gS62YG4Bg&ved=0CCwQ6AEwAA#v=onepage&q=betaglucanos&f=false> [04.04.2013]
- Pincheira, P. (2011). Revista de nutrición Nestlé profesional, Nutripro.
http://www.nestleprofessional.com/chile/es/PublishingImages/ProductosMarcas/nutripro_en_10.pdf [04.04.2013]
- United States Food and Drug Administration (USFDA) (1994). Center for food safety and applied nutrition, a food labeling guide. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov>.

ANEXOS

Anexo 1. Cuestionario de la evaluación sensorial de la bebida funcional según el atributo de sabor (Escala Hedónica).

Evaluación sensorial de la bebida funcional

Sexo:

Edad:

Fecha:

Valor	Nivel de aceptabilidad
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

Instrucciones: Por favor prueba cada una de las muestras que te han sido presentadas y de acuerdo a tu agrado o desagrado por su sabor; evalúalas colocando una cruz en el espacio correspondiente de acuerdo a la siguiente escala hedónica. Entre la prueba de cada muestra enjuaga tu boca con agua y galleta.

muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9
123									
456									
789									

OBSERVACIONES:.....

¡Muchas gracias!

Anexo 2. Cuestionario de la evaluación sensorial de la bebida funcional según sus atributos (Ranking).

Evaluación sensorial de la bebida funcional

Sexo: Edad: Fecha:

Atributo:.....

Instrucciones: Por favor prueba cada una de las muestras que te han sido presentadas y de acuerdo a tu agrado o desagrado por su sabor, olor, color y apariencia general; evalúalas colocando una cruz en el espacio correspondiente de acuerdo a tu preferencia en la siguiente escala hedónica. Entre la prueba de cada muestra enjuaga tu boca con agua y galleta.

Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9
123									
456									
789									

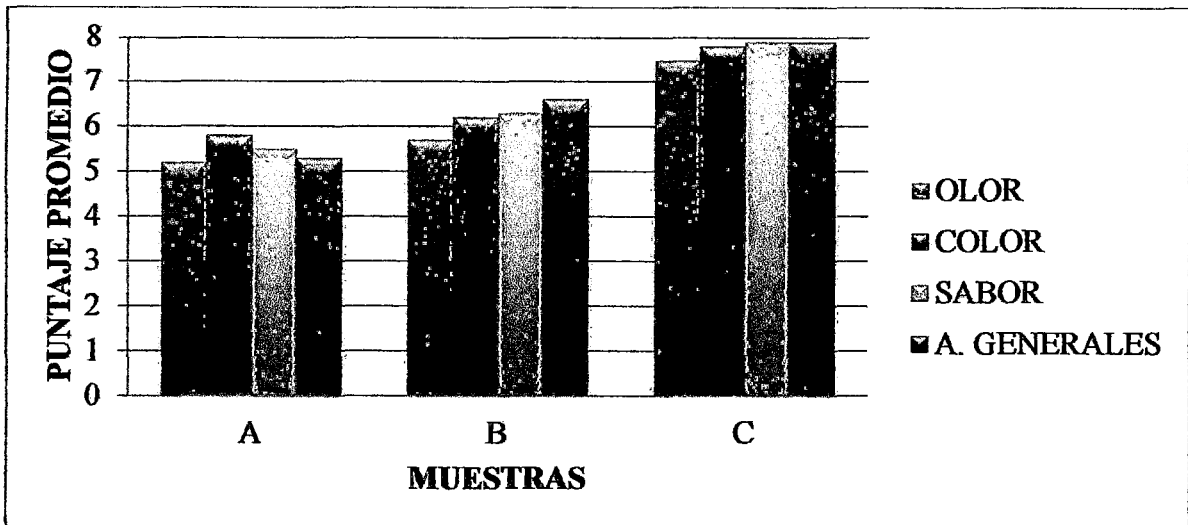
OBSERVACIONES:.....

¡Muchas gracias!

Anexo 3. Resultados de la evaluación sensorial de la bebida funcional según sus atributos.

En la figura 13 se observa que la muestra C tiene mayor puntaje en los atributos de Olor, Color, Sabor y Aspectos Generales dado que contiene 25% de extracto de cola de caballo, 30% de extracto de maíz morado y 45% de agua tratada, a comparación de la muestra B (25% de extracto de cola de caballo, 25% de extracto de maíz morado y 50% de agua tratada) y A (25% de extracto de cola de caballo, 20% de extracto de maíz morado y 55% de agua tratada).

Resultados de la evaluación sensorial de la bebida por escala hedónica



RESULTADOS DE LA ESCALA HEDONICA

ANALISIS ESTADISTICO - ATRIBUTO OLOR

PANELISTAS	TRATAMIENTOS					
	A		B		C	
1	6	(1.5)	7	(3)	6	(1.5)
2	7	(2)	6	(1)	8	(3)
3	6	(1)	7	(2)	9	(3)
4	5	(1)	6	(2)	8	(3)
5	5	(1)	6	(2)	8	(3)
6	3	(1)	6	(2)	8	(3)
7	5	(1)	6	(2)	8	(3)
8	4	(2)	3	(1)	6	(3)
9	6	(2)	5	(1)	7	(3)
10	5	(1.5)	5	(1.5)	7	(3)
TOTAL	14		17.5		28.5	

Hipótesis:

H_0 : Las muestras no presentan diferencias Significativas entre ellas. (Son igualmente preferidas)

H_1 : Al menos una de las muestras difiere significativamente de los otros. (Uno es preferido sobre otro).

Parte1:

- Hallamos R (Suma de rangos)

Si:

$$R_1=14 \quad R_2=17.5 \quad R_3=28.5$$

$$R = \frac{bk(k+1)}{2} = 60$$

$$\text{Verificación: } 14+17.5+28.5=60$$

- El coeficiente de variabilidad:

$$CV = \frac{1}{20} = 0,05$$

- Valor estadístico de la Prueba:

$$b=10(\text{panelistas})$$

$$k=3 (\text{muestras})$$

$$X^2_r = \frac{12}{bk(k+1)} \sum_{i=1}^k Ri^2 - 3b(k+1) = 11.45$$

- Hallamos el valor X^2 de tabla

$$Gl: k-1=2$$

$$X^2_t: 5,991$$

- Criterio de decisión

$$X^2_c < X^2_{t_{0,05}} \text{ Acepta } H_0$$

$$X^2_c > X^2_{t_{0,05}} \text{ se rechaza } H_0 \text{ y se acepta } H_1.$$

$$11.45 > 5,991$$

Conclusión: Las muestras si presentan diferencia significativa entre ellas en el atributo olor; por lo que la más preferida es la muestra C.

ANALISIS ESTADISTICO - ATRIBUTO COLOR

PANELISTAS	TRATAMIENTOS					
	A		B		C	
1	6	(2)	5	(1)	7	(3)
2	6	(1)	7	(2)	8	(3)
3	6	(2)	4	(1)	7	(3)
4	6	(1.5)	6	(1.5)	7	(3)
5	6	(1)	7	(2)	8	(3)
6	3	(1)	5	(2)	9	(3)
7	7	(1.5)	7	(1.5)	8	(3)
8	7	(1)	8	(2)	9	(3)
9	6	(2)	7	(3)	5	(1)
10	5	(1)	6	(2)	8	(3)
TOTAL	14		18		28	

Hipótesis:

H_0 : Las muestras no presentan diferencias Significativas entre ellas. (Son igualmente preferidas)

H_1 : Al menos una de las muestras difiere significativamente de los otros. (Uno es preferido sobre otro).

Parte1:

- Hallamos R (Suma de rangos)

Si:

$$R_1=14 \quad R_2=18 \quad R_3=28$$

$$R = \frac{bk(k+1)}{2} = 60$$

Verificación: $14+18+28=60$

- El coeficiente de variabilidad:

$$CV = \frac{1}{20} = 0,05$$

- Valor estadístico de la Prueba:

$$b=10(\text{panelistas})$$

$$k=3 (\text{muestras})$$

$$X^2_I = \frac{12}{bk(k+1)} \sum_{i=1}^k Ri^2 - 3b(k+1) = 10.4$$

- Hallamos el valor X^2 de tabla

Gl: $k-1=2$

X^2_t : 5,991

- Criterio de decisión

$X^2_c < X^2_{t_{0,05}}$ Acepta H_0

$X^2_c > X^2_{t_{0,05}}$ se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

$10.4 > 5,991$

Conclusión: Las muestras si presentan diferencia significativa entre ellas en el atributo Color; por lo que la más preferida es la muestra C.

ANALISIS ESTADISTICO - ATRIBUTO SABOR

PANELISTAS	TRATAMIENTOS					
	A		B		C	
1	7	(1)	9	(3)	8	(2)
2	5	(1)	7	(3)	6	(2)
3	3	(1.5)	3	(1.5)	8	(3)
4	5	(1)	7	(2)	9	(3)
5	7	(1)	8	(2)	9	(3)
6	3	(1)	5	(2)	6	(3)
7	7	(1)	8	(2)	9	(3)
8	7	(1.5)	7	(1.5)	8	(3)
9	5	(1)	6	(2)	8	(3)
10	5	(2)	4	(1)	7	(3)
TOTAL	12		20		28	

Hipótesis:

H_0 : Las muestras no presentan diferencias Significativas entre ellas. (Son igualmente preferidas)

H_1 : Al menos una de las muestras difiere significativamente de los otros. (Uno es preferido sobre otro).

Parte1:

- Hallamos R (Suma de rangos)

Si:

$R_1=12$

$R_2=20$

$R_3=28$

$$R = \frac{bk(k+1)}{2} = 60$$

Verificación: $12+20+28=60$

- El coeficiente de variabilidad:

$$CV = \frac{1}{20} = 0,05$$

- Valor estadístico de la Prueba:

$b=10$ (panelistas)

$k=3$ (muestras)

$$X^2_r = \frac{12}{bk(k+1)} \sum_{i=1}^k Ri^2 - 3b(k+1) = 12.8$$

- Hallamos el valor X^2 de tabla

Gl: $k-1=2$

X^2_t : 5,991

- Criterio de decisión

$X^2_c < X^2_{t_{0,05}}$ Acepta H_0

$X^2_c > X^2_{t_{0,05}}$ se rechaza H_0 y se acepta H_1 .

$12.8 > 5,991$

Conclusión: Las muestras si presentan diferencia significativa entre ellas en el atributo Sabor; por lo que la más preferida es la muestra C.

ANALISIS ESTADISTICO - ATRIBUTO A. GENERALES

PANELISTAS	TRATAMIENTOS					
	A		B		C	
1	3	(1)	4	(2)	6	(3)
2	6	(1)	7	(2)	8	(3)
3	6	(1.5)	7	(1.5)	8	(3)
4	7	(1.5)	7	(1.5)	8	(3)
5	2	(1)	6	(2)	8	(3)
6	5	(1)	7	(2)	8	(3)
7	5	(1)	8	(2)	9	(3)
8	7	(1.5)	7	(1.5)	8	(3)
9	7	(1)	8	(2)	9	(3)
10	5	(1.5)	5	(1.5)	7	(3)
TOTAL		12		18		30

Hipótesis:

H_0 : Las muestras no presentan diferencias Significativas entre ellas. (Son igualmente preferidas)

H_1 : Al menos una de las muestras difiere significativamente de los otros. (Uno es preferido sobre otro).

Parte1:

- Hallamos R (Suma de rangos)

Si:

$$R_1=12 \quad R_2=18 \quad R_3=30$$

$$R = \frac{bk(k+1)}{2} = 60$$

$$\text{Verificación: } 12+18+30=60$$

- El coeficiente de variabilidad:

$$CV = \frac{1}{20} = 0,05$$

- Valor estadístico de la Prueba:

$$b=10(\text{panelistas})$$

$$k=3 (\text{muestras})$$

$$X^2_r = \frac{12}{bk(k+1)} \sum_{i=1}^k Ri^2 - 3b(k+1) = 16.8$$

- Hallamos el valor X^2 de tabla

$$Gl: k-1=2$$

$$X^2_t: 5,991$$

- Criterio de decisión

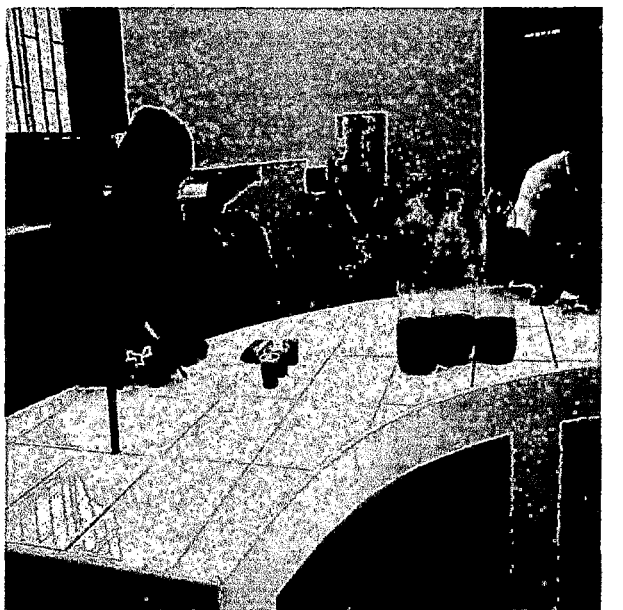
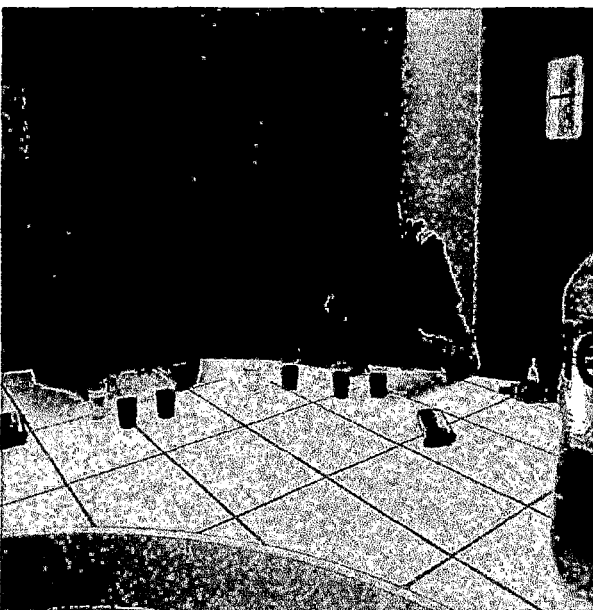
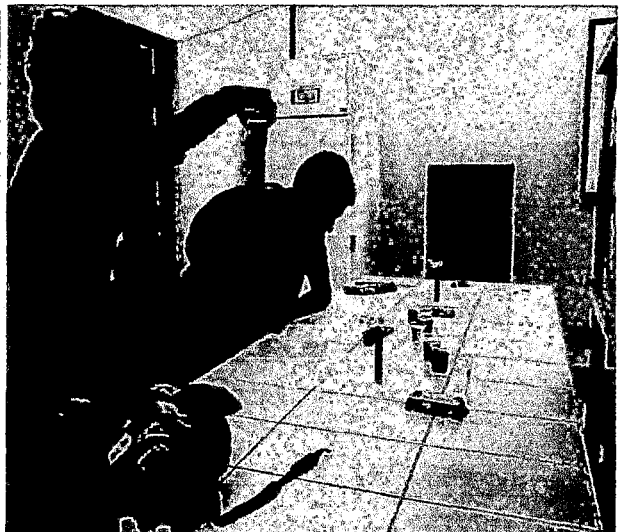
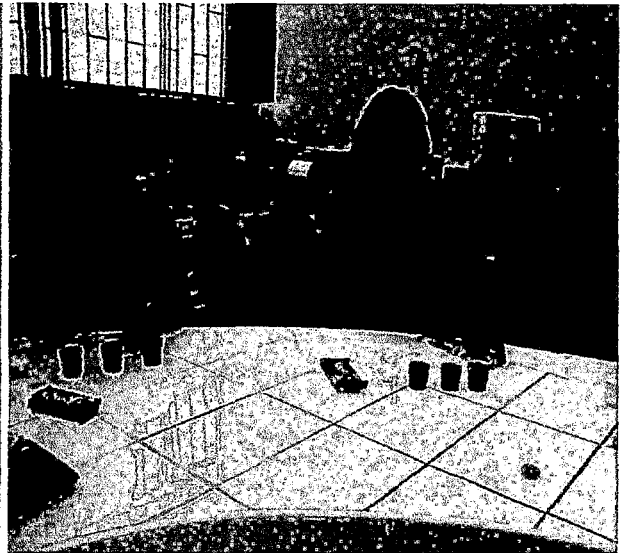
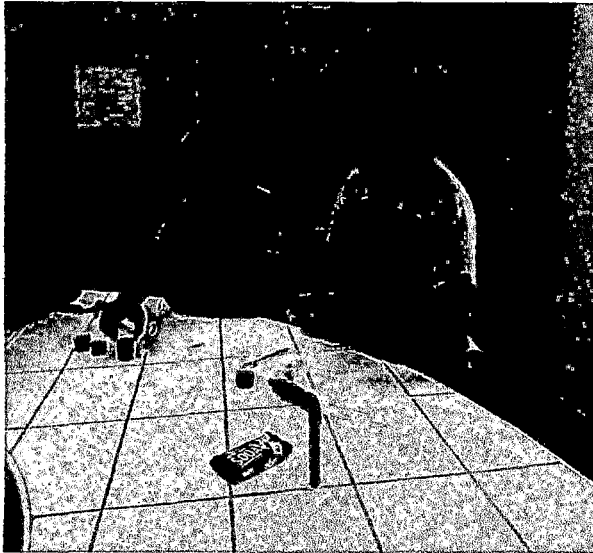
$$X^2_c < X^2_{t_{0,05}} \text{ Acepta } H_0$$

$$X^2_c > X^2_{t_{0,05}} \text{ se rechaza } H_0 \text{ y se acepta } H_1.$$

$$16.8 > 5,991$$

Conclusión: Las muestras si presentan diferencia significativa entre ellas en el atributo A. Generales; por lo que la más preferida es la muestra C.

Anexo 4. Fotografías en el momento de la evaluación sensorial de todas las muestras.



Anexo 5. Resultados de los análisis de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de la bebida funcional.



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL
LABORATORIOS**

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos

INFORME DE ENSAYOS

N° 009562 - 2014

SOLICITANTE : FELIX BUSTAMANTE BUSTAMANTE
DIRECCIÓN LEGAL : AV. IRENE SALVADOR 211 LIMA-HUAURA-HUACHO
 RUC: — Teléfono: 971061268
PRODUCTO : BEBIDA FUNCIONAL A BASE DE EXTRACTO DE COLA DE CABALLO
 EDULCORADA CON STEVIA Y SABORIZADA CON MAIZ
NÚMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA. : F.P: 18/11/2014
 F.V: 21/11/2014
CANTIDAD RECIBIDA : 2127,7 g (+ envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, la muestra ingresa en botella de vidrio sellada
SOLICITUD DE SERVICIO : S/S N°EN-005600 -2014
REFERENCIA : PERSONAL
FECHA DE RECEPCIÓN : 18/11/2014
ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO/QUÍMICO
PERÍODO DE CUSTODIA : No aplica.

RESULTADOS :

ENSAYOS FÍSICOS/QUÍMICOS :

ENSAYO	RESULTADO
1.- Compuestos Fenólicos (*)	84,8
2.- Capacidad Antioxidante (**)	4763,1

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO :

- 1.- SIVAN 8 Hoja 1559
- 2.- ARNAO, CARO & ACOSTA 2001

Observaciones: (*) mg AGE / 100 ml de muestra
 (**) µmol trolox E / 100 ml de muestra

FECHA DE EJECUCION DE ENSAYOS: Del 18/11/2014 Al 10/12/2014.

ADVERTENCIA :

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Válido sólo para la cantidad recibida. No es un Certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.
- 4.- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INDECOPI-SN.

La Molina, 10 de Diciembre de 2014



(Handwritten signature)
 M. Sc. Jorge Chávez Pérez
 Director Técnico
 2014-11-20 13:33