



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
PEDRO RUIZ GALLO**

---



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE  
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

“Obtención de un filtrante a partir de hojas de lanche (*Myrcianthes  
rhopaloides*) evaluando sus características fitoquímicas y sensoriales”

**TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**AUTORES**

Bach. Julca Fernández Marcelo  
Bach. Chamaya Huamán Esver

**ASESOR**

Ing. M.Sc. Juan Francisco Robles Ruiz

LAMBAYEQUE-PERU  
2019



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
PEDRO RUIZ GALLO**



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE  
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

“Obtención de un filtrante a partir de hojas de lanche (*Myrcianthes  
rhopaloides*) evaluando sus características fitoquímicas y sensoriales”

**TESIS**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**AUTORES**

Bach. Julca Fernández Marcelo  
Bach. Chamaya Huamán Esver

APROBADO POR:

<u>Ing. Enrique Manuel Montejo Pinillos</u>	PRESIDENTE
<u>Ing. M.Sc. Renzo Bruno Chung Cumpa</u>	SECRETARIO
<u>Ing. Julio Humberto Tirado Vásquez</u>	VOCAL
<u>Ing. M.Sc. Juan Francisco Robles Ruiz</u>	ASESOR

LAMBAYEQUE-PERÚ  
2019

## DEDICATORIA

*Dedico a mis padres, Dilberto Julca Requejo y María Neida Fernández Díaz.*

Marcelo Julca.

*Dedico a mis padres, Manuel Jesús Chamaya Cieza y Laura Huamán Coronado.*

Esver Chamaya.

## **AGRADECIMIENTOS**

Le doy gracias a Dios por permitirnos realizar este trabajo de investigación.

Agradecemos a nuestros padres por todo el apoyo brindado para culminar esta carrera profesional.

A nuestro asesor Ing. M.Sc. Juan Francisco Robles Ruiz, por brindarnos su tiempo, conocimiento y dedicación al desarrollo de este trabajo de investigación.

A nuestros docentes de la FIQIA por sus enseñanzas y consejos durante la cursada universitaria.

## ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN .....	ix
ABSTRACT .....	x
INTRODUCCIÓN .....	10
<b>I. FUNDAMENTO TEÓRICO .....</b>	<b>14</b>
1.1. Lanche ( <i>myrcianthes rhopaloides</i> ).....	14
1.1.1. Clasificación taxonómica.....	14
1.1.2. Sinónimos.....	14
1.2. Compuestos fitoquímicos.....	18
1.2.1. Los terpenos .....	18
1.2.2. Los carotenoides .....	18
1.2.3. Compuestos fenólicos.....	18
1.3. Elaboración de filtrantes.....	24
1.4. Infusión.....	28
1.5. Análisis sensorial de los Alimentos .....	30
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>45</b>
2.1. Materiales, reactivos y equipos.....	45
2.1.1. Materiales de vidrio .....	45
2.1.2. Otros materiales.....	45
2.1.3. Equipos.....	46
2.1.4. Reactivos y Equipos .....	46
2.2. Metodología experimental .....	47
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>54</b>
3.1. Caracterización fisicoquímica de las hojas de lanche .....	54
3.2. Caracterización fitoquímica de las hojas de lanche.....	55
3.3. Resultados de la evaluación sensorial .....	59
<b>IV. CONCLUSIONES.....</b>	<b>66</b>
<b>V. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>69</b>
<b>VII. SECCIÓN DE ANEXOS .....</b>	<b>76</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

<b>Tabla 1.</b> Composición nutricional del lanche ( <i>myrcianthes rhopaloides</i> ).....	17
<b>Tabla 2.</b> Composición química del aceite esencial del lanche ( <i>Myrcianthes rhopaloides</i> ).....	17
<b>Tabla 3.</b> Resumen de la Metodología y variables de estudio para lograr los objetivos del presente trabajo.....	47
<b>Tabla 4.</b> Diseño Completamente al Azar para la comparación de fenoles totales y actividad antioxidante en las hojas de lanche.....	50
<b>Tabla 5.</b> Diseño factorial 3x3, para determinar el peso de las hojas de lanche en el filtrante y estadio de mayor preferencia.....	52
<b>Tabla 6.</b> Resultados de la composición fisicoquímica de los tres estadios de hojas de lanche.....	53
<b>Tabla 7.</b> Resultado de la determinación de fenoles totales (mg/L ácido gálico) en los tres estadios de las hojas de lanche utilizadas para obtención del filtrante.....	54
<b>Tabla 8.</b> Resultado de la determinación de la actividad antioxidante (m Meq. Trolox/ml) en los tres estadios de las hojas de lanche utilizadas para obtención del filtrante .....	57
<b>Tabla 9.</b> Resultados de evaluación sensorial (sabor) de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche.....	59
<b>Tabla 10.</b> Resultados de evaluación sensorial (color) de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche.....	62
<b>Tabla 11.</b> Resultados de evaluación sensorial (olor) de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche.....	63
<b>Tabla 12.</b> Resultados de evaluación sensorial (aceptabilidad global) de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche.....	64

<b>Tabla 13.</b> Absorbancias obtenidas en la determinación de fenoles totales en las hojas de lanche.....	78
<b>Tabla 14.</b> Curva estándar de Trolox.....	82
<b>Tabla 15.</b> Absorbancias obtenidas en la determinación de la actividad antioxidante de las hojas de lanche.....	85
<b>Tabla 16.</b> Resumen estadístico para fenoles.....	87
<b>Tabla 17.</b> ANOVA para fenoles por estadio.....	87
<b>Tabla 18.</b> Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.....	88
<b>Tabla 19.</b> Resumen estadístico para actividad antioxidante.....	89
<b>Tabla 20.</b> Tabla ANOVA para actividad antioxidante por estadio.....	89
<b>Tabla 21.</b> Calificación afectiva del sabor por de 30 jueces en una escala hedónica.....	90
<b>Tabla 22.</b> Calificación afectiva del color por de 30 jueces en una escala hedónica.....	91
<b>Tabla 23.</b> Calificación afectiva del olor por de 30 jueces en una escala hedónica.....	92
<b>Tabla 24.</b> Aceptabilidad global emitida por 30 jueces en una escala hedónica.....	93
<b>Tabla 25.</b> ANOVA, evaluación sensorial del sabor de las muestras.....	94
<b>Tabla 26.</b> ANOVA, evaluación sensorial del color de las muestras.....	94
<b>Tabla 27.</b> ANOVA, evaluación sensorial del olor de las muestras.....	95
<b>Tabla 28.</b> ANOVA, aceptabilidad global de las muestras.....	95
<b>Tabla 29.</b> Método de Tukey HSD (95%), evaluación sensorial del sabor de las muestras.....	96
<b>Tabla 30.</b> Método de Tukey HSD (95%), aceptabilidad global de las muestras.....	97

## ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

<b>Figura 1.</b> Etapas para la elaboración de un filtrante, sugerido por Inostroza y Rubio (2017).....	27
<b>Figura 2.</b> Formato para la prueba hedónica de preferencia. Tomado de Aceita (2016).....	42
<b>Figura 3.</b> Formato para la prueba hedónica de preferencia. Tomado de Watss et al., (1992.) .....	44
<b>Figura 4.</b> Flujograma le elaboración de filtrantes, tomado de Vulcano Tecnología Aplicada E.I.R.L. (2016).....	49
<b>Figura 5.</b> Ilustración de las medias de fenoles totales por estadio de hojas de Lanche. Elaboración propia (2018).....	56
<b>Figura 6.</b> Ilustración de las medias de la actividad antioxidante determinadas por estadio de hojas de Lanche. Elaboración propia (2018).....	58
<b>Figura 7.</b> Curva de calibración absorbancia vs ácido gálico.....	77
<b>Figura 8.</b> Curva de calibración para actividad antioxidante.....	84
<b>Figura 9.</b> Formato para la prueba hedónica.....	86
<b>Figura 10.</b> Estadios de las hojas de lanche .....	108
<b>Figura 11.</b> Filtración del extracto de hojas de lanche.....	108
<b>Figura 12.</b> Pesado de las hojas de lanche utilizadas.....	109
<b>Figura 12.</b> Extracto obtenido a partir de las hojas de lanche con diferentes estadios. ....	109

## RESUMEN

La obtención de un filtrante a partir de las hojas de lanche (*Myrcianthes rhopaloides*) se logró realizando una recepción de las hojas, pesado, selección- clasificación, lavado- desinfección, oreado, secado, molienda y envasado. Se determinó y comparó la cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en tres estadios de las hojas de lanche (*i-hoja nueva o brote, ii-hoja semi madura y iii-hoja madura*). Observamos que existe diferencia significativa entre las medias de fenoles totales presentes en las hojas de lanche de estadio i y ii, estadio i y iii. Asimismo, que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la actividad antioxidante entre un nivel de estadio y otro. Mediante una evaluación sensorial afectiva de nueve tratamientos (T) de bebida - infusión- obtenida a partir del filtrante T<sub>1</sub> (0,9 g- hoja nueva), T<sub>2</sub> (0,9 g-hoja semi-madura) T<sub>3</sub> (0,9 g – hoja madura), T<sub>4</sub> (1g – hoja nueva), T<sub>5</sub> (1g -hoja semi-madura), T<sub>6</sub> (1g- hoja madura), T<sub>7</sub> (1,1 g – hoja nueva), T<sub>8</sub> (1,1 g – hoja semi-madura) y T<sub>9</sub> (1,1 g -hoja madura), concluimos que el tratamiento de mayor preferencia es de 1,1 g de hojas maduras de lanche, lo cual también contiene la mayor cantidad de fenoles totales (1400,833 mg de ácido gálico/L) y cuya composición fisicoquímica es: valor calórico (180,8 Kcal), humedad (52,7 %), grasa (1,5 %), proteína (4,78 %), carbohidratos (36,82 %), ceniza (0,7 %) y fibra (3, 5 %).

Palabras clave: lanche, filtrante, fenoles, antioxidante, infusión.

## ABSTRACT

Obtaining a filter from the leaves of the boat (*Myrcianthes rhopaloides*) was achieved by receiving the leaves, weighing, sorting, sorting, washing-disinfecting, drying, grinding and packaging. The amount of phenolic compounds and antioxidant activity were determined and compared in three stages of the leaves of the lanche (*new leaf or bud, ii-leaf semi-mature and leaf ii-mature*). We observed that there is a significant difference between the means of total phenols present in the leaves of stage I and II, stage I and III. Also, there is no statistically significant difference between the mean of the antioxidant activity between one stage level and another. Through an affective sensory evaluation of nine beverage (infusion) treatments (T) obtained from the T<sub>1</sub> filter (0,9 g- new leaf), T<sub>2</sub> (0,9 g-semi-mature leaf) T<sub>3</sub> (0,9 g) - mature leaf), T<sub>4</sub> (1g - new leaf), T<sub>5</sub> (1g - semi-mature leaf), T<sub>6</sub> (1g - mature leaf), T<sub>7</sub> (1,1 g - new leaf), T<sub>8</sub> (1,1 g - leaf semi-mature) and T<sub>9</sub> (1,1 g-mature leaf), we conclude that the most preferred treatment is 1,1 g of mature leaves of lanche, which also contains the highest amount of total phenols (1400,833 mg of gallic acid / L) and caloric value (180,8 Kcal), nutritional value (8,45), humidity (52,7%), fat (1,5%), protein (4,78%), carbohydrates (36,82%), ash (0,7%) and fiber (3,5%).

Key words: lanche, filter, phenols, antioxidant, infusion.

## INTRODUCCIÓN

La demanda de alimentos saludables ha venido aumentando en el transcurso de los años, debido al interés de la población por alimentos que no solo cumplan con la función nutricional, sino también por que tengan un efecto benéfico en salud reduciendo así el riesgo a padecer diversas enfermedades (De Jesús, 2016). Dentro de estos alimentos se encuentran las infusiones de hierbas, que han venido siendo muy aceptables en el mercado por proveer beneficios en el organismo (Høstmark, 2010; McKay y Blumberg, 2006).

Una infusión es una bebida que se obtiene de las partes aéreas (hojas secas, flores y frutos) de varias hierbas o plantas aromáticas a las cuales se vierte agua a punto de ebullición y se deja reposar durante un tiempo (Velázquez, 2012). En el mercado existen bolsitas filtrantes que contienen diferentes tipos de hierbas para preparar bebidas en infusión, entre estas hierbas podemos mencionar a la manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*), limón (*Cymbopogon citratus*), hierbabuena (*Mentha piperita L.*), boldo (*Peumus boldus Molina*), té (*Camellia sinensis*), entre otras.

El aumento de información y conocimiento de la población peruana respecto a las propiedades medicinales y el aporte nutricional muchas hierbas disponibles en el territorio, ha venido generando una disposición a consumir infusiones alternativas a las existentes, buscando de esta manera mantener un estilo de vida más saludable y/o prevenir enfermedades como las cardiovasculares,

diabetes, cáncer y otras que están, cada vez más, causando muchas muertes (Carou y Font, 2006; Asmat, Gutierrez, Ramos y Yurday, 2017). Cabe mencionar que la revalorización de cereales nutritivos, hierbas, especias y frutas nativas también ha venido siendo influenciado por el auge de la gastronomía peruana en los últimos años (Asmat, 2017).

En Perú son las mujeres quienes muestran mayor preferencia a consumir infusiones herbales y frutales, representando para el año 2013 un 59% de la población. Cabe mencionar que, la mayor demanda se presenta en Lima. Según Arellano (2013) existen tres tipos de consumidores basado en el consumo, los cuales son clasificados de la siguiente manera: i) *heavy* (consumen todos los días) los cuales representan el 28%; ii) *medium* (consumen de 3 a 4 veces por semana) los cuales representan el 46% y iii) *light* (consumen 1 a 2 veces por semana) los cuales representan el 26%. se puede decir que el común consumidor de infusiones en el Perú son mujeres entre 25 a 35 años de edad con un estilo de vida moderno.

En las zonas andinas de Perú, existen muchas plantas con propiedades interesantes para ser utilizadas para la elaboración de filtrantes a fin de obtener infusiones para el consumo. Entre algunos autores que han aprovechado esta oportunidad para formular filtrantes e infusiones podemos mencionar a Millones, (2014) que obtuvo un filtrante de anís de monte (*Tagetes filifolia* Lag.) edulcorado con hojas de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni); Inostroza y Rubio, (2017) formularon y caracterización de un filtrante de hojas de Moringa oleífera; Vargas

(2012) formuló un té aromático a base de plantas cedrón (*aloyiacitrodora*) y toronjil (*mellisaofficinalis*) y stevia (*steviarebaudiana bertonii*) endulzante natural.

No obstante, aún existen muchas hierbas y plantas que no están siendo aprovechadas, una de estas es la comúnmente llamada Lanche (*myrcianthes rhopaloides*). Esta planta se ha utilizado desde tiempos ancestrales para conferir aromas y sabor a bebidas. Según Lizcano *et al.*, (2008) entre uno de los principales usos de las hojas de lanche (*myrcianthes rhopaloides*) en zonas rurales, resalta la preparación de infusiones para combatir la diabetes. Asimismo, también es utilizado como tranquilizante y antidiarreico.

Es importante indicar que, la mayoría de infusiones obtenidas a partir de filtrantes de hierbas comerciales se caracterizan por contener una determinada cantidad de compuestos fenólicos extraídos de las hierbas del filtrante, lo cual generan una actividad antioxidante en el organismo que los consumen. Muños *et al.*, (2012) realizaron una comparación de fenoles totales y capacidad antioxidante de infusiones herbales comerciales (de manzanilla, limón, hierbabuena, árnica, boldo y té verde); sus resultados revelaron que, a pesar de que la capacidad antioxidante está estrechamente relacionada con los compuestos fenólicos, se observaron claras diferencias entre las diversas infusiones y sus marcas comerciales.

Las hojas de lanche (*myrcianthes rhopaloides*) no distan de contener compuestos fenólicos que pueden ser transferidos en infusión. A los compuestos fenólicos se les atribuyen propiedades para la prevención de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares e incluso de enfermedades neurodegenerativas como el alzhéimer, entre otras. Del lanche, la población peruana principalmente de la sierra acostumbra utilizar las hojas y flores para realizar bebidas en infusión (Muñoz, 2013; Soto *et al.*, 2014). Si bien en el mercado de filtrantes de hierbas hay competencia, sin embargo, la diversidad de sabores, aromas y propiedades beneficiosas que pueden aportar nuevos productos resulta relevante. En este sentido, nos planteamos los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

- Obtener un filtrante a partir de las hojas de lanche (*myrcianthes rhopaloides*) evaluando sus características fitoquímicas y sensoriales

### **Objetivos específicos**

- Caracterizar mediante análisis fisicoquímicos tres estadios de las hojas de lanche (i-hoja nueva o brote, ii-hoja semi-madura y iii-hoja madura).
- Comparar los tres estadios de hojas de lanche respecto al contenido de fenoles y actividad antioxidante.
- Determinar el estadio y el peso del filtrante de mayor preferencia, mediante evaluación sensorial de la bebida obtenida a partir del filtrante.

## **I. FUNDAMENTO TEÓRICO**

### **1.1. Lanche (*myrcianthes rhopaloides*)**

#### **1.1.1. Clasificación taxonómica.**

Según Fontenla (2006), es como sigue:

Reino: *plantae*.

Phyllum: *Magnolyophyta*

Clase: *Magnoliopsida orden myrtales*.

Familia: *myrtaceae*.

Especie: *Myrcianthes Rhopaloides (Kunth) MC Vaugh.*

#### **1.1.2. Sinónimos**

*Eugenia porphyroclada O. Berg*

*Eugenia rhopaloides (Kunth) DC.*

*Myrthus rhopaloides Kunth*

La familia *myrtaceae* comprende árboles o arbustos perennifolios, cuyas hojas contienen sustancias polifenólicas y terpenoides aromáticos, perteneciente a la orden *myrtales*. Familia con aproximadamente 40 géneros y más de 3000 especies distribuidas principalmente en las zonas tropicales y subtropicales, esta familia se divide en dos subfamilias, *myrtoideae* y *leptospermoideae*, siendo la primera de hojas opuestas y frutos carnosos, generalmente baya o drupa,

mientras que la subfamilia *leptospermoideae* tiene hojas alternadas y frutos secos, generalmente nuez o cápsula (Allerslev, 2007; Silva, 2016).

Se encuentra distribuida en Costa Rica, Colombia, Ecuador, Panamá, Perú y Venezuela desde 2300 a 2800 m.s.n.m (Lizcano et al., 2008). En el Perú, esta planta se ubica en las zonas que van desde un nivel de 2000 y los 3000 m.s.n.m. En los departamentos de Cajamarca, Huánuco, Junín, Paseo, Piura y San Martín (Fontenla, 2006).

Según el Centro de Investigación en Geografía Aplicada -CIGA (1991), esta planta se encuentra en estado silvestre, entre los 1200 y los 2500 m.s.n.m., donde la vegetación es siempre verde, donde existe disponibilidad de agua por la presencia de quebradas y pequeños puquios y la gradiente de las vertientes es más suave.

En cuanto a sus **propiedades medicinales**, el género *myrcianthes* ha sido ampliamente utilizado en la medicina popular, es el caso de *myrcianthes pseudomato* la cual es reconocida por su capacidad antimicrobiana, *Myrcianthes cisplatensis* utilizada para el lavado y cicatrización de heridas, además de ser conocidos sus efectos en las afecciones bronquiales y de pulmones (Apel et al, 2006; Demo et al, 2002 citados por Silva, (2016).

Lizcano *et al.*, (2008) menciona que las hojas, flores y raíces se utilizan para combatir la diabetes, como tranquilizante y antidiarreico. Según Fontenla (2006), se utiliza para infecciones pulmonares y bronquitis, urinarias (cistitis) e

intestinales. Este autor indica que las hojas de lanche es un poderoso antiséptico pulmonar, utilizado en numerosas especialidades farmacéuticas en forma de supositorios. En Perú se utiliza las hojas para preparar infusiones, con el objetivo de aliviar el dolor de estómago, el dolor de garganta y para el resfrío (Guffante, 2013).

En medicina tradicional, sus hojas masticadas se emplean para contrarrestar las caries (Serrano, 1996). Sus hojas son empleadas en repostería para dar sabor y como aromatizantes en bebidas (De la Torre et al, 2008). La infusión de sus hojas es utilizada para aliviar problemas del corazón, purificar la sangre, para problemas digestivos, del cabello y la piel. Además, a sus aceites esenciales se les atribuye propiedades rejuvenecedoras. Sus frutos son utilizados para elaborar vino y también son consumidos directamente (Kawasaki y Holst, 2006; Picardo, 2005).

Desde el punto de vista nutricional, el Lanche muestra un potencial de aprovechamiento, en la siguiente tabla se muestra la composición nutricional.

**Tabla 1***Composición nutricional del lanche (myrcianthes rhopaloides)*

<b>Nutriente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Contenido*</b>
Proteína	g	2,9
Grasa	g	0,3
Fibra	g	2,4
Cenizas	g	1,4
Calcio	mg	100
Fosforo	mg	38
Hierro	ppm	28

\* El contenido es en base a 100 gramos de pulpa de *myrcianthes rhopaloides*. Tomado de Lizcano et al., (2008).

En cuanto a la **composición fitoquímica**, del aceite esencial de las hojas de *myrcianthes rhopaloides*, se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 2***Composición química del aceite esencial del lanche (myrcianthes rhopaloides)*

<b>Componente.</b>	<b>Valores según varios autores</b>			
	<b>I</b>	<b>ii</b>	<b>iii</b>	<b>iv</b>
Geranial	34,00%	34,00%	29,00%	22,50%
Neral	25,00%	25,00%	11,73%	15,49%
$\alpha$ -pineno	7,00%	7,00%	8,56%	4,20%
$\beta$ -pineno	9,00%	9,00%	9,50%	4,16%
Sesquiterpenos	1,50%	-	1,20%	-
Rodinol	-	-	-	15,49%
Mirceno	-	-	-	17,70%

Tomado de i Lizcano *et al.*, (2008); ii Fontenla (2006); iii Guffantel (2013); iv Silva (2016).

## **1.2. Compuestos fitoquímicos**

Existen más de 2.000 fitoquímicos en las plantas, que se agrupan en clases de acuerdo a su función y sus características estructurales, de los cuales se considera que los terpenos, los fitoesteroles, los fenoles, los lignanos y los tioles, son los más estudiados (Lopez, 2002).

### **1.2.1. Los terpenos**

Funcionan como antioxidantes, que protegen a los lípidos, a la sangre y a otros fluidos corporales contra el ataque de radicales libres, algunas especies de oxígeno reactivo, grupos hidroxilos, peróxidos y radicales peróxidos. Los más estudiados son los carotenoides y limonoides (Chasquibol *et al.*, 2003).

### **1.2.2. Los carotenoides**

Son pigmentos de color amarillo intenso, naranja y rojo; estos incluyen alfa, beta y epsiloncaroteno, los únicos que poseen actividad como vitamina A. En cuanto a los fitoesteroles, están presentes en la mayoría de plantas. Los vegetales verdes y amarillos contienen cantidades significativas. Estos tienen la capacidad de bloquear la absorción de colesterol (Chasquibol *et al.*, 2003).

### **1.2.3. Compuestos fenólicos**

Químicamente son sustancias que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas

simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánico (Tsimidou, 1998).

Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Tsimidou, 1998 citado por Valverde *et al.*, 2000). Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con un mayor interés nutricional:

1.2.3.1. **Los flavonoides.** Constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos, siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando

lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandioli y proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos las flavonas (p.e. apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (p.e. quercitina, mirecitina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales (Harborne, 1993 y Hertog, 1993 citados por Valverde, 2000).

**1.2.3.2. Los taninos.** Son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas) y curten la piel. Químicamente se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y los taninos condensados no hidrosolubles (taninos catéquicos y los leucoantocianos; son polímeros muy difíciles de hidrolizar; los más ampliamente distribuidos en las plantas (Ali, 2012).

El tanino es un compuesto que se oxida al contacto con el aire, es inodoro y de sabor agrio, soluble en agua, alcohol y acetona; reacciona con el cloruro férrico y otras sales; es combustible con un punto de inflamación de 199°C, una temperatura de auto ignición de 528.5°C; poco tóxico por ingestión o inhalación. Teniendo en cuenta la naturaleza química, los taninos de las plantas superiores

se han distribuido principalmente en dos grandes grupos: los “taninos hidrolizables” y los “taninos condensados”. Los taninos hidrolizables son ésteres de glúcidos y ácidos fenólicos y como su propio nombre indica, son fácilmente hidrolizables en condiciones ácidas o básicas o por la acción de enzimas, (esterasas), mientras que los taninos condensados son oligómeros y polímeros de flavonoides unidos por enlaces C-C, y no son susceptibles de hidrólisis (Cadahia, 1995 citado por Ali, 2012).

**1.2.3.3. Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles.** Los ácidos cinámicos (cafeíco, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se hallan presentes en forma de derivados. Así, por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido químico como ácidos clorogénicos, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido, mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianinas ante incrementos del pH del medio (Belitz y Grosch, 1998; Tsimidou, 1998 citados por Valverde, 2000).

**1.2.3.4. Lignanos y neolignanos.** Son metabolitos de las plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de phidroxilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto

está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano (Chesson, 1997).

En cuanto a los **beneficios de los compuestos fenólicos** en el organismo, Los estudios epidemiológicos han relacionado la ingesta dietética de alimentos ricos en fenólicos con una menor incidencia en la aparición de varias enfermedades crónicas. Los compuestos fenólicos están recibiendo mucha atención debido a sus propiedades antioxidantes (Rein, 2013; Sharma, 2014; Gutiérrez, 2016).

Lo cierto es que los compuestos fenólicos de nuestra dieta han demostrado tener un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares y sus propiedades antioxidantes han sido probadas en estudios en animales y en humanos.

Todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza y dentro de ellos, los flavonoles son los que poseen una mayor actividad antioxidante. Estudios epidemiológicos han demostrado que una ingestión rica en flavonoides se correlaciona con **un menor riesgo de enfermedad cardiovascular** y se ha observado que actúan a diferentes niveles. Por un lado, disminuyen las tasas de colesterol y de LDL oxidada debido a sus propiedades antioxidantes como fuertes quelantes de metales y como donadores de hidrógeno (a través de los grupos hidroxilo). Así, en general, el grado de actividad antioxidante se correlaciona con el número de grupos hidroxilo. Por ello,

los ortodifenoles son buenos antioxidantes, mientras que compuestos monofenol, como el tirosol, no lo son tanto (Gimeno, 2004).

Los mecanismos de los compuestos fenólicos que a través pueden prevenir el cáncer no están aun definitivamente establecidos. Estudios de laboratorio en animales de experimentación han puesto de manifiesto efectos y actividades biológicas muy variadas. Por otro lado, Steinmetz y Potter (1996) recogieron datos procedentes de 206 estudios epidemiológicos, lo que puso de manifiesto que consumos elevados de frutas y hortalizas están relacionados con una baja incidencia de distintos tipos de cáncer, como los de estómago, pulmón, cavidad oral, faringe, endometrio, páncreas y colon. Sin embargo, en estos estudios es muy difícil discernir si el efecto es debido a un compuesto en concreto o si, lo más probable, es debido a un efecto sinérgico de distintos fitoquímicos presentes en estos alimentos como son, además de los polifenoles, las vitaminas C y E, los carotenos, el ácido fólico, la fibra, etc.

A pesar de todo esto, los fenoles pueden tener **efectos anti nutricionales** debido a que pueden interaccionar con algunos elementos de la dieta. Por ejemplo, una ingestión muy elevada y crónica de estos compuestos puede interferir en la absorción del hierro de la dieta y provocar anemia. Sin embargo, en general, la toxicidad de los fenoles en una ingestión moderada es muy poca debido a su baja absorción, rápido metabolismo y a la presencia de un sistema muy eficaz de detoxificación. El problema es que la mayoría de estudios están hechos in vitro o en animales de experimentación, lo que limita la extrapolación de resultados en

el hombre. Se ha visto que los polifenoles pueden ser tóxicos si su ingestión está entre el 1 y el 5% del total de la dieta, cosa imposible en condiciones normales, ya que lo habitual es ingerir, aproximadamente, entre 25 mg-1 g/día. Aun así, conviene ser prudentes y no recomendar un consumo muy elevado de compuestos fenólicos hasta que su bioactividad no esté mejor entendida (Gimeno, 2004).

En resumen, como los antioxidantes podrían desempeñar un papel destacado en la prevención de distintas enfermedades, la recomendación para la población general (prevención primaria) es enriquecer la dieta en antioxidantes naturales (frutas y verduras frescas, frutos secos, aceite de oliva virgen, etc.). El uso profiláctico de antioxidantes a dosis elevadas está aún en discusión y requiere de más estudios, aunque, en algunos casos de alto riesgo de enfermedad cardiovascular (prevención secundaria), se puede utilizar suplementos, fundamentalmente de vitamina E, ya que una dieta equilibrada difícilmente aportará más de 30 mg/día (Acaso, 2000 citado por Gimeno, 2004).

### **1.3. Elaboración de filtrantes**

Millones *et al.*, (2014) sugiere el siguiente procedimiento para la elaboración de un filtrante: *recepción de la materia prima*, que puede ser hojas y flores; *selección* lo cual consiste en separar aquellas hojas o flores en mal estado; *lavado y desinfección*, utilizando abundante agua y solución de hipoclorito de sodio al 5% por alrededor de 30 minutos; el *enjuague* con abundante agua corriente; *oreado*

durante aproximadamente 3 horas; *secado* hasta que las hojas alcancen una humedad de 6%; posteriormente *una molienda y tamizado* para eliminar las partículas grandes empleando un tamiz # 90; envasado – empacado y almacenamiento.

Por otra parte, Inostroza y Rubio (2017) sugieren las siguientes etapas para la elaboración de un filtrante:

*Recolección de las hojas:* realizarla en las primeras horas de la mañana para evitar dañar las hojas. Evitar demorar más de 1 hora entre la recolección y la siguiente operación.

*Selección y clasificación:* las hojas deben ser recibidas en las mejores condiciones. El material que venga quemado por largas horas de envasado luego de la cosecha o que no reúna las condiciones técnicas requeridas, con olores diferentes deber ser rechazado.

*Desinfección:* las hojas deben ser colocadas en un colador de acero inoxidable, la misma que es llevado luego a una olla con agua hirviendo con la finalidad de que las hojas sean tratadas con vapor de agua el cual elimina su toxicidad, (tiempo de desinfección 30 segundos).

*Oreado:* se realiza para eliminar el exceso de agua y facilitar el secado de las hojas.

*Secado:* Las hojas ya oreadas y desinfectadas se colocan en un secador solar a una temperatura de 25°C, por un período de 15 días.

Pesado: operación que permitirá evaluar el rendimiento del proceso.

Molienda: Para reducir el tamaño de partícula.

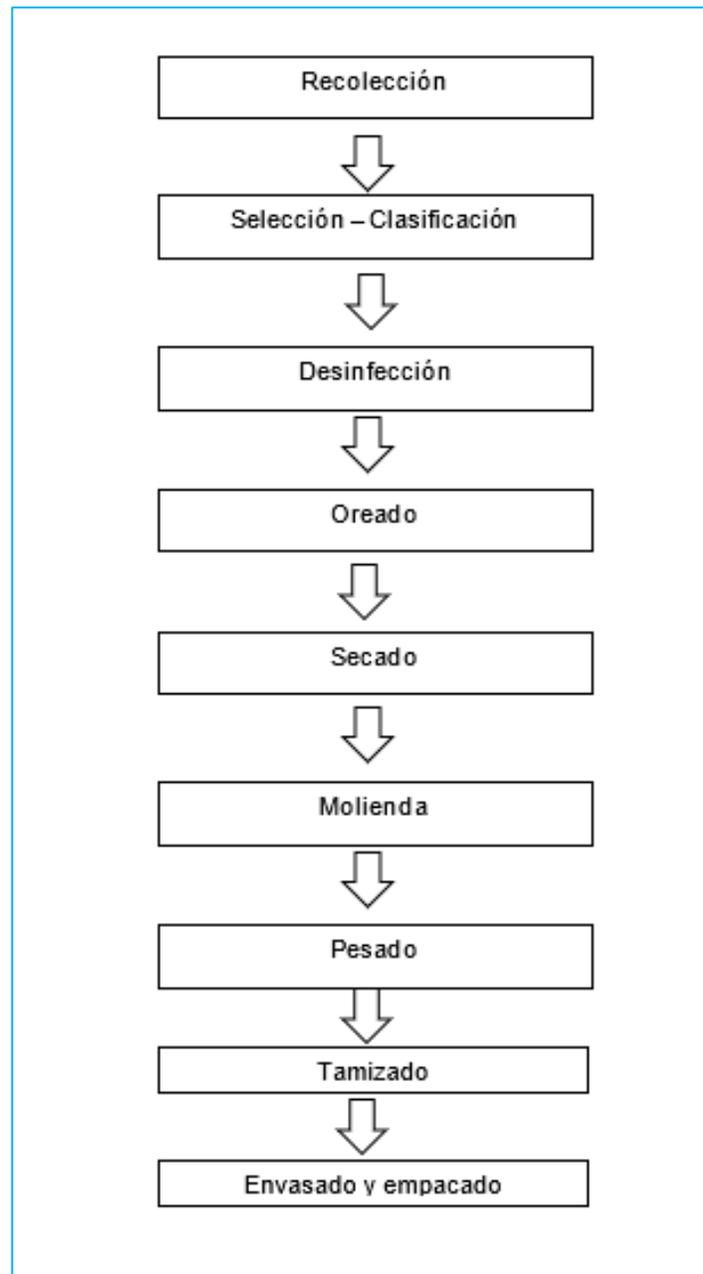
Tamizado: para uniformizar el tamaño de partícula que se colocara en el filtrante y mejorar la calidad del producto.

Envasado: previa evaluación de la dosificación. Uso de papel filtro y el sellado manual.

Empacado: en papel con su respectiva información y forma de preparación.

Almacenamiento: a temperatura ambiente y en un lugar fresco.

Todas estas etapas son ilustradas en la siguiente figura.



**Figura 1.** Etapas para la elaboración de un filtrante, sugerido por Inostroza y Rubio (2017).

#### **1.4. Infusión**

Las infusiones son productos líquidos que se obtienen introduciendo una sustancia orgánica, por lo general, de origen herbal, en agua caliente para que queden en ésta sus partes solubles. El consumo de infusiones tiene su origen hace miles de años en diversas partes del mundo. Preparados calientes con ingredientes herbales han sido utilizados como instrumentos contra el frío y dolencias de la más diversa índole. En el Perú se producen a nivel artesanal diversas bebidas calientes, las cuales por lo general se usan con fines medicinales. Bebidas tales como la uña de gato, la emoliente, el naranjo, el boldo, el anís, la manzanilla, la hierba luisa, etc., son comercializadas en la actualidad a nivel nacional. Sin embargo, el uso que le da el consumidor a estos productos tiene dos características principales: son consumidos calientes- son utilizados con fines medicinales (Vera, 2013).

En el Perú, las infusiones han sido tradicionalmente percibidas como bebidas funcionales. Según Carou y Fontela (2006) definieron que las bebidas funcionales son aquellas a las cuales se les atribuyen efectos saludables positivos más allá de su valor nutritivo. Además, el Perú es un país con altos niveles de automedicación; los consumidores con poco o nulo acceso a servicios de salud tratan sus enfermedades directamente usando productos e ingredientes naturales. Por ello, los tés herbales medicados son bien percibidos y tienen un alto nivel de consumo. La diversidad botánica del Perú es muy amplia y un alto porcentaje de ésta tiene uso en la medicina tradicional.

Según Vera (2013) en Perú existe una serie de infusiones calientes que son consumidas, tales como:

- Uña de gato (*uncaria tomentosa*): artritis, úlceras, cáncer, circulación y diversas aplicaciones.
- Manzanilla (*matricaria chamomilla*): digestivo y relajante.
- Anís (*pimpinella anisum*): digestivo y para cólicos uterinos o menstruaciones dolorosas.
- Hoja de naranjo (*citrus sp.*): Relajante.
- Boldo (*peumus boldus*): digestivo y desinflamante. - Chanca piedra (*phyllanthus niruri*): Riñones y cálculos renales. - Valeriana (*valeriana officinalis*): Tranquilizante.
- Hierba luisa (*cymbopogon citratus*): digestivo, antigripal y antifatulento.
- Orégano (*origanum vulgare*): para dolores estomacales y cólicos de ovarios.
- Menta (*mentha spicata*): digestivo y saborizante. - Toronjil (*melissa officinalis*): Digestivo y calmante.
- Emoliente (Preparado de diversas hierbas): problemas renales y biliales.
- Té (*camellia sinensis*): propiedades antioxidantes.

Infusión es el proceso de extracción de compuestos químicos o sabores de material vegetal en un disolvente tal como agua, aceite o alcohol, al permitir que el material permanezca suspendido en el disolvente en el tiempo (a menudo

llamado un proceso de remojo). Una infusión es un proceso químico muy simple que se usa con plantas que son volátiles y se disuelven fácilmente, o liberan sus ingredientes activos fácilmente, en agua, aceite o alcohol. Los botánicos se secan típicamente hierbas, flores o bayas. El líquido se hierve típicamente (o presentada a otra temperatura adecuada) y después se vierte sobre la hierba, que después se deja reposar en el líquido durante un período de tiempo. El líquido puede después ser filtrado o las hiervas eliminadas del líquido, a menos que la infusión se va a consumir de inmediato, entonces puede ser embotellado y refrigerado para su uso futuro (Inostroza y Rubio, 2017).

### **1.5. Análisis sensorial de los Alimentos**

El análisis sensorial es 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 (Hernández, 2005).

El análisis sensorial es una ciencia multidisciplinaria en la que se utilizan panelistas humanos que utilizan los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído para medir las características sensoriales y la aceptabilidad de los productos alimenticios, y de muchos otros materiales. No existe ningún otro instrumento que pueda reproducir o reemplazar la respuesta humana; por lo tanto, la evaluación sensorial resulta un factor esencial en cualquier estudio sobre alimentos. El análisis sensorial es aplicable en muchos sectores, tales como desarrollo y

mejoramiento de productos, control de calidad, estudios sobre almacenamiento y desarrollo de procesos (watts *et al.*, 1992; Acierta, 2016).

La evaluación sensorial se ha definido como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar esas respuestas a los productos percibidos a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído (Stone y Sidel, 2004). Esta definición ha sido aceptada y respaldada por comités de evaluación sensorial dentro de varias organizaciones profesionales como el Instituto de Tecnólogos de Alimentos y la Sociedad Estadounidense de Pruebas y Materiales. Los principios y prácticas de la evaluación sensorial involucran cada una de las cuatro actividades mencionadas en esta definición. Considere las palabras "evocar". La evaluación sensorial proporciona pautas para la preparación y el servicio de muestras bajo condiciones controladas, de modo que se minimicen los factores de predisposición (Lawless y Heymann, 2010).

Luego, considere las palabras "medir". La evaluación sensorial es una ciencia cuantitativa en la que se recopilan datos numéricos para establecer relaciones lícitas y específicas entre las características del producto y la percepción humana. Los métodos sensoriales se basan en gran medida en las técnicas de investigación del comportamiento para observar y cuantificar las respuestas humanas. Por ejemplo, podemos evaluar la proporción de veces que las personas pueden discriminar los pequeños cambios de productos o la proporción de un grupo que expresa una preferencia por un producto sobre otro. Otro ejemplo es hacer que las personas generen respuestas numéricas que reflejen

su percepción de cuán fuerte puede saborear u oler un producto (Lawless y Heymann, 2010).

El tercer proceso en la evaluación sensorial es el análisis. El análisis apropiado de los datos es una parte crítica de las pruebas sensoriales. Los datos generados por los observadores humanos a menudo son muy variables. Existen muchas fuentes de variación en las respuestas humanas que no se pueden controlar por completo en una prueba sensorial. Los ejemplos incluyen el estado de ánimo y la motivación de los participantes, su sensibilidad fisiológica innata a la estimulación sensorial, y su historial y familiaridad con productos similares. Si bien es posible que se realicen algunas pruebas de detección de estos factores, es posible que solo estén parcialmente controladas, y los paneles de humanos son, por naturaleza, instrumentos heterogéneos para la generación de datos (Lawless y Heymann, 2010).

Para evaluar si las relaciones observadas entre las características del producto y las respuestas sensoriales son probablemente reales, y no simplemente el resultado de una variación descontrolada de las respuestas, los métodos de las estadísticas se utilizan para analizar los datos de evaluación. De la mano con el uso de análisis estadísticos apropiados, se trata de utilizar un buen diseño experimental, de modo que las variables de interés se investiguen de forma tal que permitan sacar conclusiones sensatas (Lawless y Heymann, 2010).

El cuarto proceso en la evaluación sensorial es la interpretación de los resultados. Un ejercicio de evaluación sensorial es necesariamente un experimento. En los experimentos, los datos y la información estadística solo son útiles cuando se los interpreta en el contexto de hipótesis, conocimientos previos e implicaciones para las decisiones y acciones que deben tomarse. Deben sacarse conclusiones que son juicios razonados basados en datos, análisis y resultados. Las conclusiones involucran la consideración del método, las limitaciones del experimento y el contexto y el marco contextual del estudio (Lawless y Heymann, 2010)

Los especialistas en evaluación sensorial se convierten en algo más que simples conductos para los resultados experimentales, pero deben contribuir con interpretaciones y sugerir cursos razonables de acción a la luz de los números. Deben ser socios plenos con sus clientes, los usuarios finales de los resultados de las pruebas, para guiar futuras investigaciones. El profesional de la evaluación sensorial se encuentra en la mejor situación para comprender la interpretación adecuada de los resultados de las pruebas y las implicaciones para la percepción de los productos por parte del grupo más amplio de consumidores, para quienes los resultados pueden generalizarse. El especialista sensorial comprende mejor las limitaciones del procedimiento de prueba y cuáles son sus riesgos y responsabilidades (Lawless y Heymann, 2010).

**1.5.1. Sabor y el sentido del gusto.** El sabor se percibe mediante el sentido del gusto, el cual posee la función de identificar las diferentes sustancias químicas que se encuentran en los alimentos. El gusto se define como las sensaciones percibidas por los receptores de la boca, específicamente concentrados en la lengua, aunque también se presentan en el velo del paladar, mucosa de la epiglotis, en la faringe, laringe y en la garganta. Los Órganos receptores para la sensación del sabor, son los llamados botones gustativos que se encuentran en las papilas gustativas de la lengua, aunque también existen algunos en la superficie del paladar suave, amígdalas, faringe y laringe (Espinosa, 2007).

A partir de estudios fisiológicos se piensa que existen cuatro sensaciones sápidas primarias: **dulce, salado, ácido y amargo**, constituyendo estos los cuatro sabores básicos. El sabor dulce se percibe con mayor intensidad en la punta de la lengua, zona donde se encuentran las células receptoras que detectan los azúcares, glicoles, aldehídos, cetonas, aminas, esterres, alcoholes o sustancias de naturaleza orgánica que están presentes en los alimentos; el sabor salado y ácido se percibe en los bordes anteriores y posteriores respectivamente, donde los receptores son estimulados por sales ionizadas o por los hidrogeniones de las sustancias ácidas. El sabor amargo se detecta fundamentalmente en la parte posterior o base de la lengua, donde se encuentran los receptores de las sustancias orgánicas de cadena larga que contienen nitrógeno en su molécula y alcaloides como la quinina (Acieta, 2016; Espinosa, 2007).

Se ha demostrado que existen diversos factores que inciden en la detección de los sabores, entre los que se encuentran: la edad debido a su asociación con los gustos y preferencias de ciertos alimentos y a que las papilas gustativas se generan y degeneran con el tiempo, por lo que el umbral de detección e identificación puede variar. Los regionalismos en cuanto a los alimentos y su forma de consumo también son causantes de preferir unos sabores a otros, influyendo ello en la sensibilidad del gusto, además el hábito de fumar y la ingestión de productos que contienen cafeína pueden ocasionar una disminución marcada en la percepción de algunos sabores, como el amargo. El sexo según criterio de especialistas en la temática influye en la percepción del sabor dulce, provocando que las personas del sexo femenino posean un umbral más bajo (Acieta, 2016; Espinosa, 2007).

**1.5.2. Olor y el sentido del olfato.** El olor desempeña un papel muy importante en la evaluación sensorial de los alimentos, sin embargo, su identificación y las fuentes de las que provienen son muy complejas y aún se desconocen muchos aspectos de este campo. El olor de los alimentos se origina por las sustancias volátiles que cuando se desprenden de ellos pasan por las ventanas de la nariz y son percibidos por los receptores olfatorios. Los seres humanos disponen de unos 1,000 receptores conocidos que parece ser que distinguen unos 10,000 olores distintos, sin embargo, a veces el mecanismo olfatorio no funciona adecuadamente y se produce una significativa pérdida de la capacidad olfativa o ausencia total de la facultad de oler, debido a varios factores como son: edad,

infecciones virales, alergias, consumo de ciertos fármacos, entre otros. Dicha anomalía se conoce con el nombre de anosmia (Acieta, 2016; Espinosa, 2007).

**1.5.3. Color y el sentido de la vista.** La importancia del color en la evaluación sensorial se debe fundamentalmente a la asociación que el consumidor realiza entre este y otras propiedades de los alimentos, por ejemplo, el color rojo se asocia al sabor fresa, el verde a la menta, etc., demostrándose además que en ocasiones s por la apariencia y color del alimento un consumidor puede aceptarlo o rechazarlo. El mecanismo de percepción sensorial del color tiene su origen en el ojo humano, el cual se encuentra situado en una cavidad ósea del cráneo llamado órbita y posee tres capas distintas la capa exterior protectora llamada ESCLERÓTICA, la capa media nutritiva es la COROIDEA y la capa más interna sensible a la luz denominada RETINA, que contiene los elementos nerviosos cuyas fibras se transmiten finalmente al nervio óptico, siendo esta la porción receptiva del ojo (Acieta, 2016; Espinosa, 2007).

Los receptores sensitivos que se encuentran en la retina son los bastones y los conos, los primeros funcionan con luz tenue sin detectar diferencias en la longitud de onda; por lo que no poseen percepción para los colores cromáticos, teniendo solamente percepción para los colores neutros o acromáticos (blanco, gris, negro), además son los responsables de la forma y tamaño de los objetos Los conos funcionan con luz intensa y son calificados de rojo, verde y azul, debido a que las proteínas que contienen responden selectivamente a diferentes longitudes de onda de la luz. Las adsorciones de los pigmentos en las tres

variedades de este con un color determinado. Al igual que en el resto de las características organolépticas existen una serie de factores que inciden en la percepción de los colores, como son: la edad de los observadores como un aspecto fundamental, y las alteraciones fisiológicas que afectan la retina del ojo humano, existen individuos que pierden la percepción en la proporción adecuada de los colores primarios, por lo que presentan ceguera para uno o varios de estos (Acieta, 2016; Espinosa, 2007).de conos, se producen a valores máximos a 430, 535 y 575 nm respectivamente (Espinosa, 2007).

La evaluación del color en los alimentos es de vital importancia, tanto es así que, en la mayoría de las evaluaciones de un producto, el consumidor asocia el sabor.

**1.5.4. Los Jueces en la evaluación sensorial.** Según Espinosa (2007) se distinguen dos tipos de jueces: jueces analíticos y jueces afectivos. El **Juez analítico** es el individuo que entre un grupo de candidatos ha demostrado una sensibilidad sensorial específica para uno o varios productos. Es necesario tener en cuenta algunos aspectos personales de los jueces analíticos entre los que se encuentran los siguientes:

- *Edad.* Como representante de la población en general se consideran las personas entre 18 y 50 años de edad, pues se supone que sus organismos han logrado un desarrollo Optimo, tanto desde el punto de vista fisiológico como cultural.

- *Sexo.* Es aconsejable que las comisiones de evaluación sensorial estén formadas por individuos de ambos sexos, evitando así las variables debidas a este factor.
- *Estado de salud.* Los jueces analíticos no deben presentar ninguna enfermedad, bien sea esta de tipo orgánica o psíquica, pues se altera su capacidad perceptiva y su atención. Las personas que padecen afecciones respiratorias o visuales crónicas no pueden ser utilizadas.
- *Carácter y responsabilidad.* El juez tiene que ser honesto, confiable y cuando trabaja en grupo; no ser ni demasiado pasivo ni muy dominante en su actitud. Debe mostrar preocupación e interés en la prueba que está realizando, siendo puntual, receptor y fiel al procedimiento solicitado.
- *Afinidad con el material objeto de prueba.* Los jueces analíticos no pueden emplearse cuando presenten un franco rechazo al material que se estudia, por ejemplo, no podrá participar en una prueba con chocolate, la persona a quien este producto cause alergia o una sensación de malestar físico. No es fundamental que cada juez considere cada muestra agradable lo decisivo es que evalúe las muestras con cuidado y objetividad. Tampoco deben considerarse las personas que sienten una preferencia excesiva sobre el producto a evaluar.
- *Disponibilidad.* Las personas que no disponen del tiempo necesario para participar en las actividades que requiere la evaluación sensorial no deben ser

catadores, ya que la habilidad y destreza de los mismos solo puede lograrse con una participación constante en las diferentes sesiones de cata. Además, una vez conformada la Comisión de Evaluación Sensorial el grupo acta como un instrumento de medición, por lo que la presencia de todos los integrantes de la misma es de vital importancia.

En cuanto al **juez afectivo**, es el individuo que no tiene que ser seleccionado ni adiestrado, son consumidores escogidos al azar representativo de la población a la cual se estima esté dirigido el producto que se evalúa. El objetivo que se persigue al aplicar una prueba de evaluación sensorial con este tipo de juez, es conocer la aceptación, preferencia o nivel de agrado que estas personas tienen con relación al alimento evaluado. Las pruebas con consumidores pueden realizarse en un supermercado, una escuela, centro de trabajo, etc. Si se decide hacerla a los vecinos en su casa, debe consultarse cuál es la hora más conveniente para efectuar la visita, teniendo en cuenta además el criterio de cuál es el horario más adecuado para realizar dichas evaluaciones. El número de participantes en cada prueba debe ser grande para minimizar la variación propia de la subjetividad de las respuestas y solo aparezcan las diferencias más importantes del producto sujeto al estudio.

Por lo general, los jueces afectivos son personas tomadas al azar, ya sea en una calle, en una tienda, escuela, etc. El jurado puede estar conformado por no menos de 80 (IFT, 1964), de 30 según Ellis (1961) y ASTM (1968) citados por

Anzaldúa-Morales (1994), y de 40 según Anzaldúa-Morales (1994). Sin embargo, un número de 30 parece ser el mínimo necesario para que la evaluación de sus apreciaciones tenga validez estadística (Ureña *et al.*, 1999).

**1.5.5. Pruebas afectivas.** Una prueba afectiva surge debido a la alta variabilidad de las preferencias individuales y, por lo tanto, a la necesidad de compensar con un mayor número de personas para asegurar el poder estadístico y la sensibilidad de la prueba. Esto también brinda la oportunidad de buscar segmentos de personas a quienes les gusten diferentes estilos de un producto, por ejemplo, diferentes colores o sabores. También puede brindar la oportunidad de buscar información de diagnóstico sobre las razones por las que le gusta o no le gusta un producto (Lawless y Heymann, 2010).

Las pruebas afectivas se realizan con personas no seleccionadas ni entrenadas, las que constituyen los denominados **jueces afectivos**. Los mismos en la mayoría de los casos se escogen atendiendo a que sean consumidores reales o potenciales del producto que se evalúa, pudiendo tener en cuenta situaciones económicas, demográficas, entre otros aspectos. Las pruebas afectivas se emplean en condiciones similares a las que normalmente se utilizan al consumir el producto, de ahí que puedan llevarse a cabo en supermercados, escuelas, plazas, etc. Los resultados que de las mismas se obtienen siempre permitirán conocer la aceptación, rechazo, preferencia o nivel de agrado de uno o varios productos por lo que es importante que las personas entiendan la necesidad de

emitir respuestas lo más reales posibles. El cuestionario a emplear es otro elemento que debe ser analizado con rigor, para evitar que este introduzca errores en los resultados obtenidos. El mismo no debe ser muy extenso para evitar fatiga en los jueces o rechazo a realizar la prueba, además debe ser fácil de responder, redactarse de manera clara con preguntas de fácil comprensión y con impresión legible (espinosa, 2007).

Según espinosa las pruebas afectivas se clasifican en *pruebas afectivas de aceptación, preferencia y escalares*. En la primera se encuentra la prueba de muestra simple; en la segunda se encuentra la prueba pareada y de ordenamiento y; por último, dentro de las escalares, se encuentra la escala hedónica y escala de actitud.

En cuanto a la prueba **de ordenamiento- ranking**, las muestras son presentadas a la vez que sean ordenadas por el juez de acuerdo, en este caso, al grado de preferencia que asigne a cada muestra según el análisis de un determinado atributo, (color, sabor, etc), pudiéndose hacer a continuación, con la misma muestra como ejemplo, otro análisis utilizando diferente atributo (acidez, viscosidad, etc.), exigiéndosele que necesariamente otorgue una posición para cada muestra. El número total de muestras ensayadas depende de la capacidad de atención y memoria del sujeto, así como de sus condiciones filosóficas, el formato de calificación es como se muestra en la siguiente figura.

Nombre del juez: .....

Fecha: .....

Ordene las cuatro muestras presentadas, de acuerdo a su preferencia, para lo cual deberá poner el código de cada muestra secuencialmente de izquierda a derecha conforme aumente su preferencia.

<i>Ensayo</i>	<i>Muestras ordenadas de menor a mayor preferencia</i>
De sabor	—, —, —
De color	—, —, —
De aroma	—, —, —

Comentario:

.....

.....

.....

**Figura 2.** Formato de evaluación de ordenamiento según preferencia. Tomado de Aceita (2016).

Para el **análisis estadístico** de la prueba de ordenamiento, se aplica un ANOVA para el análisis de varias muestras relacionadas. Generalmente esta prueba es usada en problemas donde se presenta varias muestras relacionadas que provienen de un experimento diseñado para detectar diferencias entre tratamientos ( $k > 2$ ), especialmente cuyo diseño experimental es un DBCA (Ureña et al., 1999)

Las  $k$  unidades experimentales dentro de un bloque se comparan aleatoriamente con los  $k$  tratamientos administrados por una sola vez dentro de cada bloque. De esta manera los tratamientos pueden compararse uno con otro sin obtener

grandes efectos no deseables que pueden confundir los resultados de la experimentación. El número total de bloques usados es denotado por  $n$ , siendo  $n > 1$ .

Muchas veces se asocia el concepto de lo que se es un diseño de bloque completo aleatorizado (DBCA) con los métodos paramétricos ya conocidos, donde se prueba la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas entre tratamientos mediante un Análisis de Varianza. Sin embargo, también este diseño experimental tiene una gran aplicación cuando se desarrolla métodos no paramétricos donde se estudia una gama de rangos o valores provenientes de análisis como los obtenidos de pruebas de ordenamiento.

En cuanto a las **pruebas hedónicas**, están destinadas a medir cuánto agrada o desagradar un producto. Para estas pruebas se utilizan escalas categorizadas, que pueden tener diferente número de categorías y que comúnmente van desde "me gusta muchísimo", pasando por "no me gusta ni me disgusta", hasta "me disgusta muchísimo".

A los panelistas se les pide evaluar muestras codificadas de varios productos, indicando cuánto les agrada cada muestra, en una escala de 9 puntos. Para ello los panelistas marcan una categoría en la escala, que va desde "me gusta muchísimo" hasta "me disgusta muchísimo". En esta escala permitido asignar la misma categoría a más de una muestra.

Para el **análisis estadístico** de los datos recolectado en una prueba hedónica, las categorías se convierten en puntajes numéricos del 1 al 9, donde 1 representa "disgusta muchísimo" y 9 representa "gusta muchísimo". No obstante, Watss *et al.*, (1992) sugiere una escala de 7 puntos, donde 1 representa "disgusta muchísimo" y 7 representa "gusta muchísimo" (ver figura 3). Los puntajes numéricos para cada muestra, se tabulan y analizan utilizando análisis de varianza (ANOVA), para determinar si existen diferencias significativas en el promedio de los puntajes asignados a las muestras.

Nombre.....	
Fecha.....	
Edad.....	
Para la muestra recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su aceptación.	
Me gusta muchísimo	_____
Me gusta mucho	_____
Me gusta ligeramente	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____
Me disgusta ligeramente	_____
Me disgusta mucho	_____
Me disgusta muchísimo	_____

**Figura 3.** Formato para la prueba hedónica de preferencia. Tomado de Watss *et al.*, (1992).

## **II. MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo se desarrolló en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en las instalaciones de los Laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias, Lambayeque- Perú.

### **2.1. Materiales, reactivos y equipos**

#### **2.1.1. Materiales de vidrio**

- Matraces aforados de 250 ml.
- Matraz Kjeldahl.
- Bureta fina.
- Probetas de 10 ml, 25 ml y 50 ml.
- Vasos de precipitación 100, 200 ml.
- Baguetas.
- Balones de vidrio.
- Embudos de vidrio
- Micro Pipeta

#### **2.1.2. Otros materiales**

- Bolsitas Filtrantes.
- Cuchillo.
- Morteros de porcelana y pilones.
- Crisoles de porcelana.
- Bolsas flexibles.
- Gradillas.

- Espátulas.
- Agitadores magnéticos.
- Marcador indeleble.
- Cuchara de palo.
- Papel aluminio

### **2.1.3. Equipos**

- Baño maría, Tom's Tech Group, provisto de un termostato, USA.
- Mufra.
- Balanza analítica.
- Cocina a gas.
- Horno.
- Espectrofotómetro

### **2.1.4. Reactivos y Equipos**

- Folin-Ciocalteu
- carbonato de sodio
- agua desionizada
- ácido gálico
- Reactivo DPPH
- Metanol al 80%
- Trolox.

## 2.2. Metodología experimental

En la siguiente tabla se muestra un resumen de la metodología experimental, variables de estudio y técnicas de recolección de datos para lograr los objetivos del presente trabajo.

**Tabla 3**

*Resumen de la Metodología y variables de estudio para lograr los objetivos del presente trabajo*

Objetivos	Variables de estudio	Diseño experimental y técnicas de recolección de datos
<p><b>OE1:</b> Caracterizar mediante análisis fisicoquímicos los tres estadios de las hojas de lanche (i-hoja nueva o brote, ii-hoja semi-madura y iii-hoja madura).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Valor calórico (Kcal)</li> <li>• Humedad (%)</li> <li>• Grasa (%)</li> <li>• Proteína (%)</li> <li>• Carbohidratos (%)</li> <li>• Ceniza (%)</li> <li>• Fibra (%)</li> </ul>	<p>Métodos oficiales de la AOAC internacional</p>
<p><b>OE2:</b> Comparar los tres estadios de hojas de lanche respecto al contenido de fenoles y actividad antioxidante.</p>	<p><b>Variable de entrada:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Estadios de las hojas de lanche.</i></li> </ul> <p><b>Variables respuesta:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Cantidad de fenoles totales.</i></li> <li>• <i>Nivel de actividad antioxidante.</i></li> </ul>	<p>Diseño Completamente al Azar (DCA).</p>

**Continuación de tabla 3**

---

<b>OE3:</b> Determinar el estadio y el peso del filtrante de mayor preferencia, mediante evaluación sensorial de la bebida obtenida a partir del filtrante.	<b>Variables de entrada</b>	
	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Estadios de las hojas de lanche.</i></li><li>• <i>Peso de las hojas de lanche en el filtrante (g).</i></li></ul>	Diseño Factorial 3x3. Evaluación por 30 jueces afectivos utilizando una escala hedónica
	<b>Variables respuesta</b>	
	<ul style="list-style-type: none"><li>• <i>Aceptabilidad global</i></li></ul>	

---

Elaboración propia (2018).

Para obtener el filtrante a partir de las hojas de lanche se siguió el diagrama de flujo que se muestra en la figura 4.

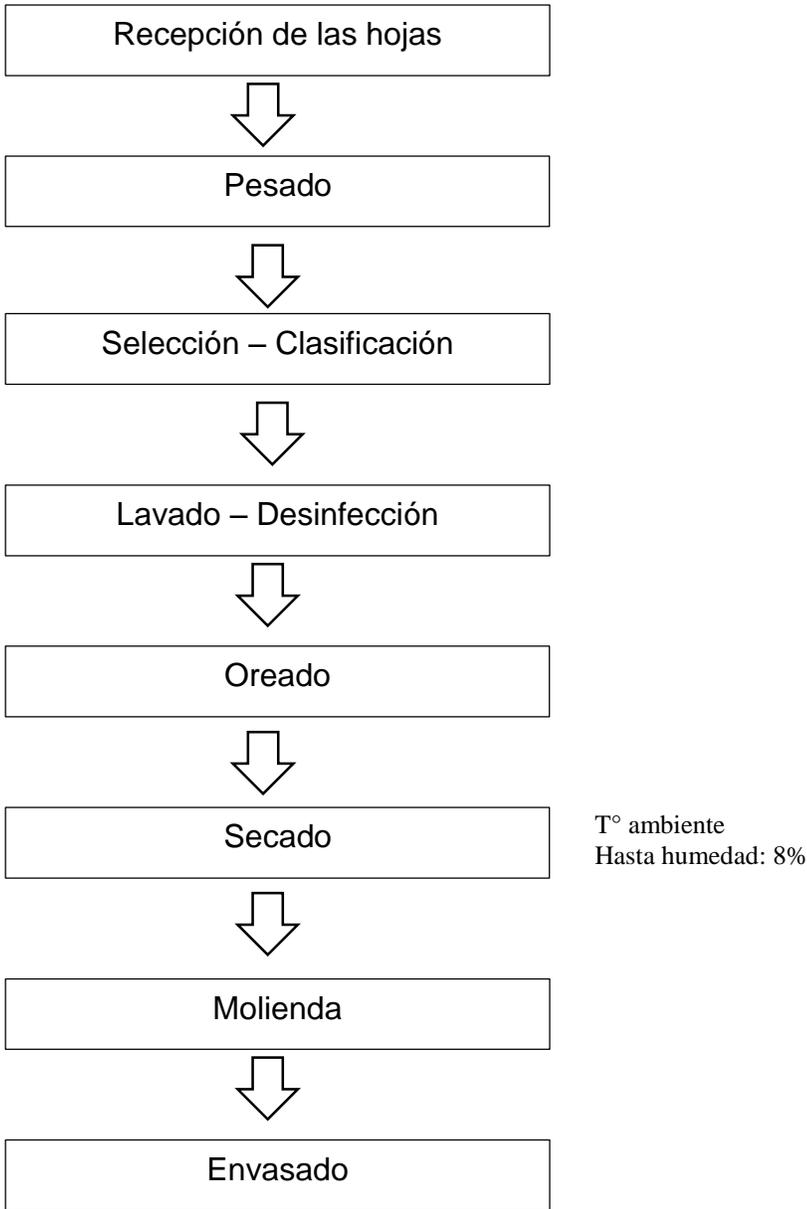
En cuanto a la **descripción del proceso**, la recolección de las hojas de lanche, consiste en extraer las hojas del lanche considerando los indicadores de calidad. *Recepción de las hojas*, consiste en el ingreso y control de las hojas al lugar de elaboración.

**El pesado** se realizó con el fin de evaluar el rendimiento del proceso. En la **selección – clasificación**, se buscó seleccionar las partículas extrañas (palos, otras hierbas, etc.) y clasificar las hojas q se encuentran en buen estado para el proceso.

El **Lavado y Desinfección**, se realizó con agua potable y la desinfección a 50ppm con hipoclorito de sodio. **El oreado**, consistió en eliminar el agua que se encuentra en las hojas. **El secado**, es el deshidratado de las hojas, se realizó en un secador solar a temperatura ambiente, hasta obtener una humedad del 8%.

**La molienda**, consistió en triturar las hojas desecas. Finalmente, **el envasado**,

consistió en pasar las hojas secas-trituradas en papeles filtros con sus envolturas y en sus respectivas cajas.



**Figura 4.** Flujograma de elaboración de filtrantes, tomado de Vulcano Tecnología Aplicada E.I.R.L. (2016).

Para determinar el contenido de Humedad, Grasa, Proteína, Carbohidratos, Ceniza y Fibra se utilizaron los métodos de ensayo oficiales de la AOAC Internacional. Asimismo, a partir de estos datos se calculó el valor calórico y nutritivo de los tres estadios de las hojas de lanche.

Para determinar y comparar el nivel de fenoles totales y actividad antioxidante en tres estadios de las hojas de lanche, se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) como se muestra en la siguiente tabla 4. Cabe indicar que, los tres estadios son: i) hoja nueva o brote, ii) hoja semi-madura y iii) hoja madura. En cuanto a los métodos de ensayo utilizados para determinar el nivel de fenoles totales y actividad antioxidante se detallan en los anexos 1 y 3 respectivamente.

**Tabla 4**

*Diseño Completamente al Azar para la comparación de fenoles totales y actividad antioxidante en las hojas de lanche*

<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>			
	<b>Estadio i (T1)</b>	<b>Estadio ii (T2)</b>	<b>Estadio iii (T2)</b>
	R1,1	R2,1	R3,1
<b>Repeticiones</b>	R1,2	R2,2	R3,2
	R1,3	R2,3	R3,3

T: tratamiento. R: repetición. Elaboración propia (2018).

En la tabla precedente se muestra el DCA utilizado, donde las **variables de estudio** son:

**Variable de entrada:**

Estadios de las hojas de lanche.

**Variables respuesta:**

Cantidad de fenoles totales.

Nivel de actividad antioxidante.

La medición de cada variable respuesta, fue por triplicado, se determinó el promedio y la desviación estándar respectivamente. Los datos fueron interpretados mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) y prueba de Tukey.

Por otra parte, para determinar el peso de las hojas de lanche en el filtrante y estadio de mayor preferencia, se elaboró nueve tratamientos de bebida- infusión obtenida a partir de distintos filtrantes respecto al peso y estadio de las hojas de lanche. Los nueve tratamientos fueron obtenidos utilizando el mismo tiempo de inmersión (5 minutos) de los distintos filtrantes en agua a temperatura de 93 °C.

Se utilizó un diseño factorial 3x3 como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 5**

*Diseño factorial 3x3, para determinar el peso de las hojas de lanche en el filtrante y estadio de mayor preferencia*

		<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>		
		Estadio i	Estadio ii	Estadio iii
<b>Cantidad de hojas de lanche en el filtrante (g)</b>	Peso 1: 0,9g	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
	Peso 2: 1 g	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>
	Peso 3: 1,1 g	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>	T <sub>9</sub>

T: tratamientos. Elaboración propia (2018)

Las variables estudiadas en este caso fueron las siguientes:

*Variables de entrada*

- Estadios de las hojas de lanche.
- Peso de las hojas de lanche en el filtrante (g).

*Variable respuesta*

- Sabor
- Color
- Olor
- Aceptabilidad global.

Los 9 tratamientos indicados en la tabla 5, fueron evaluados por 30 jueces afectivos utilizando una escala hedónica que se muestra en el Anexo 5. A los resultados se aplicó un ANOVA y una prueba de Tukey para observar las diferencias significativas entre los tratamientos y determinar el de mayor preferencia.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 3.1. Caracterización fisicoquímica de las hojas de lanche

En la siguiente tabla se muestra los resultados promedios de Valor calórico, humedad, grasa, proteína, carbohidratos, ceniza y fibra en los tres estadios de las hojas de lanche recolectadas para elaborar el filtrante. Cabe mencionar que los métodos de ensayo utilizados se detallan en Anexo 12.

**Tabla 6**

*Resultados de la composición fisicoquímica de los tres estadios de hojas de lanche*

<b>Componente</b>	<b>Estadio i</b>	<b>Estadio ii</b>	<b>Estadio iii</b>
Valor calórico (Kcal)	103,88	128,00	180,80
Humedad (%)	72,25	66,15	52,70
Grasa (%)	1,30	1,50	1,50
Proteína (%)	3,19	3,99	4,78
Carbohidratos (%)	21,66	27,66	39,87
Ceniza (%)	0,60	0,70	0,70
Fibra (%)	3,00	3,25	3,50

Estadio i: hojas nuevas, Estadio ii: hojas semimaduras y Estadio iii: hojas maduras.  
Elaboración propia (2018).

Analizando los resultados de la tabla precedente, se observa diferencias principalmente de los tres estadios en lo que respecta al valor calórico, proteína, carbohidratos y fibra, siendo las hojas de estadio i de mayor cantidad. No obstante, es importante observar que las hojas de estadio iii tienen menor humedad.

### 3.2. Caracterización fitoquímica de las hojas de lanche

En la siguiente tabla se muestran los resultados del contenido de fenoles totales en los tres estadios de hojas de lanche utilizadas para la obtención del filtrante. Se muestran las tres repeticiones, el promedio de los datos y su respectiva desviación estándar.

**Tabla 7**

*Resultado de la determinación de fenoles totales (mg/L ácido gálico) en los tres estadios de las hojas de lanche utilizadas para obtención del filtrante*

<b>Hojas de lanche</b>	<b>Repeticiones</b>			<b>Promedio</b>
<b>Estadio i</b>	1016,250	992,500	1003,750	1004,167 ±11,880
<b>Estadio ii</b>	1290,000	1308,750	1385,000	1327,917 ±50,317
<b>Estadio iii</b>	1302,500	1381,250	1518,750	1400,833 ±109,447

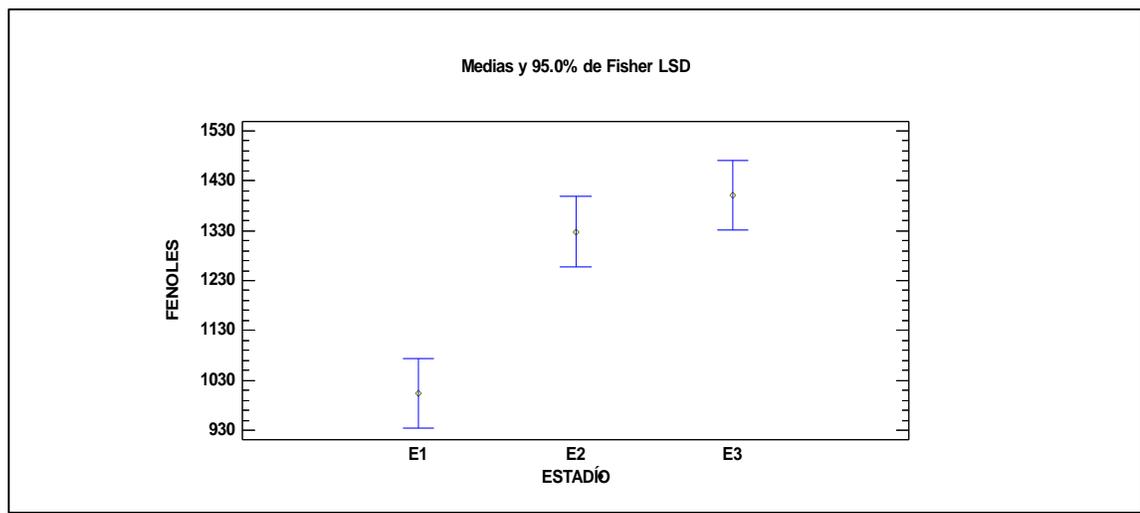
Elaboración propia (2018).

Según el ANOVA realizado a los datos de la tabla precedente, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de fenoles de un nivel de estadio y otro, con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles del ANOVA se muestran en el Anexo 6.

Por otra parte, de acuerdo a la prueba de Tukey, existe diferencia significativa entre las medias de fenoles totales presentes en las hojas de lanche de estadio i (brotes) y estadio ii (hojas seme-maduras), con un nivel del 95.0% de confianza. Asimismo, existen diferencias significativas entre las hojas de estadio i (brotes) y

estadio iii (hojas maduras). Los detalles de la prueba de Tukey se muestran en el Anexo 7.

La siguiente figura de medias, ilustra las diferencias significativas de contenido de fenoles totales presentes en las hojas de lanche del estadio i y estadio ii. Asimismo, entre el estadio i y estadio ii, ya que en estos pares de tratamientos no se presenta una superposición horizontal de las cajas que representan las medias. También se observa que, las hojas de estadio ii (hojas maduras) presentan mayor promedio en cuanto al contenido de fenoles totales. No obstante, la cantidad promedio de fenoles totales en las hojas del estadio iii, no es estadísticamente diferente a la cantidad determinada en las hojas del estadio ii (hojas semi-maduras).



**Figura 5.** Ilustración de las medias de fenoles totales por estadio de hojas de Lanche. Elaboración propia (2018).

La cantidad de fenoles totales determinados (en este estudio) en las hojas de lanche (Tabla 7) es similar a la cantidad de fenoles totales presentes otras hierbas utilizadas comúnmente para filtrantes comerciales. Mercado *et al.*, (2013) obtuvo los siguientes resultados en la determinación de fenoles totales en función de ácido gálico (AG): en anís (450 – 4190 mg de AG), té verde (1300- 1800 mg AG). Por otra parte, comparado con otras hierbas la cantidad resulta similar, menor y mayor: romero (1300 – 1377 mg AG), Orégano (912 mg de AG), Laurel (9200 mg de AG), tomillo (23-285 mg de).

En la siguiente tabla se muestran los resultados de la actividad antioxidante en los tres estadios de hojas de lanche utilizadas para la obtención del filtrante. Se muestran las tres repeticiones, el promedio de los datos y su respectiva desviación estándar.

**Tabla 8**

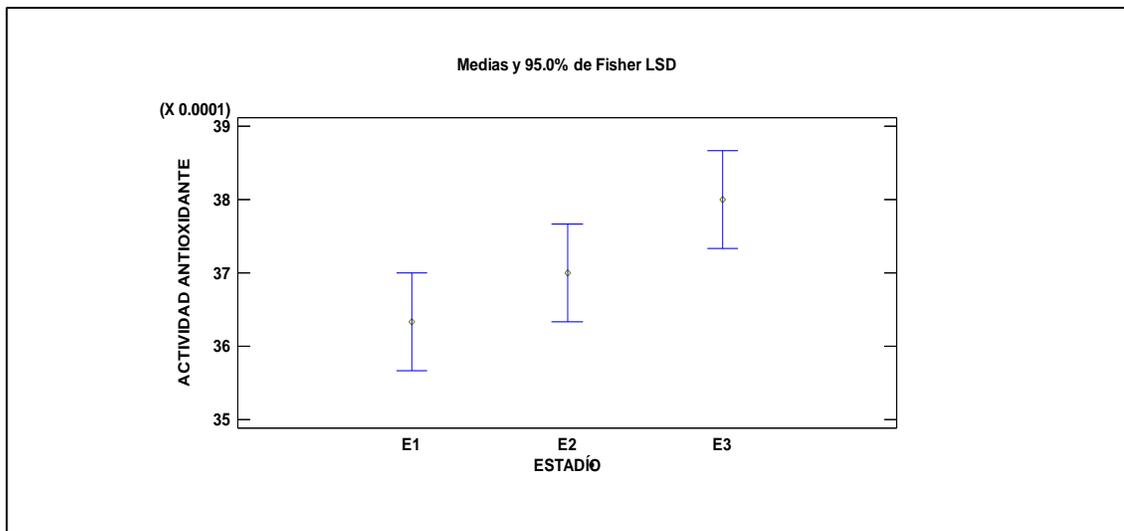
*Resultado de la determinación de la actividad antioxidante (m Meq. Trolox/ml) en los tres estadios de las hojas de lanche utilizadas para obtención del filtrante*

Hojas de lanche	Repeticiones			Promedio
<b>Estadio i</b>	0,00364	0,00356	0,00366	0,00362 ±0,0001
<b>Estadio ii</b>	0,00368	0,00368	0,00367	0,00368 ±0,0000
<b>Estadio iii</b>	0,00386	0,00372	0,00378	0,00379 ±0,0001

Elaboración propia (2018).

Según el ANOVA realizado a los datos de la tabla precedente, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la actividad antioxidante de un nivel de estadio y otro, con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles del ANOVA se muestran en el Anexo 8.

La siguiente figura de medias, ilustra la no existencia de diferencias significativas de la actividad antioxidante presentes entre los estadios de hojas de lanche. En la figura se observa una superposición horizontal entre las cajas que representan las medias de cada estadio.



**Figura 6.** Ilustración de las medias de la actividad antioxidante determinadas por estadio de hojas de Lanche. Elaboración propia (2018).

Si bien no se cuenta con información de la actividad antioxidante de las hierbas utilizadas en filtrantes comerciales, podemos comparar nuestros resultados con la actividad antioxidante del zumo de pomelo rosa (0,003 m Meq. Trolox/ml) determinado por Toh et al., (2012), lo cual resulta similar. No obstante, resultan

menores si comparamos con la actividad antioxidante del café como bebida. Naranjo *et al.*, (2011) determinaron la actividad antioxidante de bebidas obtenidas de varias muestras de café, reportando valores que van desde 0,01878 – 0,02133 mMeq. Trolox/ml.

### 3.3. Resultados de la evaluación sensorial

**Tabla 9**

*Resultados de evaluación sensorial del sabor de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche*

		<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>		
		Estadio i: <i>Hojas nuevas o brotes</i>	Estadio ii: <i>Hojas semi- maduras</i>	Estadio iii: <i>Hojas maduras</i>
<b>Peso de hojas de lanche en el filtrante (g)</b>	Peso 1: 0,9 g	3,2 ±0,85 <sup>(1)</sup>	4,0 ±0,56 <sup>(2)</sup>	5,4 ±1,19 <sup>(3)</sup>
	Peso 2: 1 g	4,0 ±1,61 <sup>(4)</sup>	5,2 ±0,96 <sup>(5)</sup>	5,1 ±1,26 <sup>(6)</sup>
	Peso 3: 1,1 g	4,6 ±0,66 <sup>(7)</sup>	6,2 ±0,62 <sup>(8)</sup>	6,4 ±0,50 <sup>(9)</sup>

Elaboración propia (2018). (1): Tratamiento 1.

Lo resultados de la tabla precedente son el promedio de las calificaciones de 30 jueces afectivos a los 9 tratamientos ensayados (ver Anexo 9) respecto al atributo sensorial del sabor. Como se mencionó en la parte metodológica de este trabajo,

se utilizó una escala hedónica, donde los valores se ubican de la siguiente manera:

- *Me gusta extremadamente:* 7
- *Me gusta mucho:* 6
- *Me gusta ligeramente:* 5
- *Ni me gusta ni me disgusta:* 4
- *Me disgusta ligeramente:* 3
- *Me disgusta mucho:* 2
- *Me disgusta extremadamente:* 1

Según el análisis estadístico realizado a los datos de la evaluación sensorial del sabor, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos (peso de las hojas de lanche en el filtrante - estadio de hojas de lanche) con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles de análisis estadístico se muestran en el Anexo 10.

Mediante la prueba de Tukey se determinó que solamente no hay diferencias significativas entre los siguientes pares de tratamientos: T1-T2, T1-T4, T2-T4, T3-T5, T3-T6, T3-T7, T4-T7, T5-T6 y T5 - T7. En el resto de los posibles pares comparativos de tratamientos, existen diferencias significativas, los detalles de la prueba de Tukey se muestran en el Anexo 11.

Es la tabla 9 observamos que el T9 (Peso: 1.1 g – Estadio iii: hoja madura) presenta mayor puntaje promedio por parte de jueces afectivos. Teniendo en

cuenta que análisis estadístico indica que este tratamiento presenta diferencias significativas respecto a los 8 tratamientos restantes, podemos afirmar que es el tratamiento de mayor preferencia respecto al atributo del SABOR. El puntaje promedio que presenta en tratamiento nueve (T9) es de 6,4; ubicándose entre - me gusta mucho y me gusta extremadamente- en la escala hedónica utilizada. Cabe recordar que las hojas de lanche en estadio iii (hojas maduras) contienen la mayor cantidad de fenoles totales y actividad antioxidante, lo cual hace que T9 sea más relevante.

En cuanto al peso de hojas (maduras) de lanche en el filtrante, de mayor preferencia (1,1g), podemos decir que se encuentra dentro del rango de pesos de la mayoría de filtrantes comerciales conocidos: filtrante de manzanilla (1g); boldo (1 – 1,5 g); tilo (1g); anís (1g); árnica (1 g); hierba buena (0,75 g); té verde (1,5 – 2 g);mate (3 g).

**Tabla 10**

*Resultados de evaluación sensorial del **color** de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche*

		<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>		
		Estadio 1: <i>Hojas nuevas o brotes</i>	Estadio 2: <i>Hojas semi- maduras</i>	Estadio 3: <i>Hojas maduras</i>
<b>Peso de hojas de lanche en el filtrante (g)</b>	Peso 1: 0,9 g	5,3 ±1,37 <sup>(1)</sup>	4,9 ±1,42 <sup>(2)</sup>	5,4 ±1,19 <sup>(3)</sup>
	Peso 2: 1 g	5,0 ±1,47 <sup>(4)</sup>	5,2 ±1,61 <sup>(5)</sup>	5,1 ±1,26 <sup>(6)</sup>
	Peso 3: 1,1 g	4,8 ±1,52 <sup>(7)</sup>	4,9 ±1,44 <sup>(8)</sup>	5,5 ±1,41 <sup>(9)</sup>

Elaboración propia (2018). (1): Tratamiento 1.

Los resultados de la tabla precedente son el promedio de las calificaciones de 30 jueces afectivos a los 9 tratamientos ensayados (ver Anexo 9) respecto al atributo del color. Como se mencionó en la parte metodológica de este trabajo, se utilizó una escala hedónica de 7 puntos.

Según el análisis estadístico realizado a los datos de la evaluación sensorial, NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos (peso de las hojas de lanche en el filtrante - estadio de hojas de

lanche) con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles de análisis estadístico se muestran en el Anexo 10.

**Tabla 11**

*Resultados de evaluación sensorial del **olor** de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche*

		<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>		
		Estadio 1: <i>Hojas nuevas o brotes</i>	Estadio 2: <i>Hojas semi- maduras</i>	Estadio 3: <i>Hojas maduras</i>
<b>Peso de hojas de lanche en el filtrante (g)</b>	Peso 1: 0,9 g	5,6 ±1,27 <sup>(1)</sup>	5,3 ±1,11 <sup>(2)</sup>	5,4 ±1,10 <sup>(3)</sup>
	Peso 2: 1 g	5,7 ±1,05 <sup>(4)</sup>	5,2 ±1,00 <sup>(5)</sup>	5,6 ±1,10 <sup>(6)</sup>
	Peso 3: 1,1 g	5,2 ±0,94 <sup>(7)</sup>	5,6 ±1,25 <sup>(8)</sup>	5,8 ±1,05 <sup>(9)</sup>

Elaboración propia (2018). (1): Tratamiento 1.

Los resultados de la tabla precedente son el promedio de las calificaciones de 30 jueces afectivos a los 9 tratamientos ensayados (ver Anexo 9) respecto al atributo sensorial del olor. Como se mencionó en la parte metodológica de este trabajo, se utilizó una escala hedónica de 7 puntos.

Según el análisis estadístico realizado a los datos de la evaluación sensorial del olor, NO existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 9 tratamientos (peso de las hojas de lanche en el filtrante - estadio de hojas

de lanche) con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles de análisis estadístico se muestran en el Anexo 10.

**Tabla 12**

*Resultados de evaluación sensorial (aceptabilidad global) de la bebida obtenida a partir de diferentes pesos y estadios de hojas de lanche*

		<b>Estado fisiológico de las hojas de lanche</b>		
		Estadio 1: <i>Hojas nuevas o brotes</i>	Estadio 2: <i>Hojas semi- maduras</i>	Estadio 3: <i>Hojas maduras</i>
<b>Peso de hojas de lanche en el filtrante (g)</b>	Peso 1: 0,9 g	2,3 ±0,77 <sup>(1)</sup>	3,6 ±0,56 <sup>(2)</sup>	4,7 ±0,55 <sup>(3)</sup>
	Peso 2: 1 g	3,3 ±0,66 <sup>(4)</sup>	4,7 ±0,96 <sup>(5)</sup>	5,9 ±0,67 <sup>(6)</sup>
	Peso 3: 1,1 g	3,7 ±0,67 <sup>(7)</sup>	5,9 ±0,62 <sup>(8)</sup>	6,6 ±0,63 <sup>(9)</sup>

Elaboración propia (2018). (1): Tratamiento 1.

Los resultados de la tabla precedente son el promedio de las calificaciones de 30 jueces afectivos a los 9 tratamientos ensayados (ver Anexo 9), expresando su aceptabilidad global. Como se mencionó en la parte metodológica de este trabajo, se utilizó una escala hedónica de 7 puntos.

Según el análisis estadístico realizado a los datos de la evaluación sensorial, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los 9 tratamientos (peso de las hojas de lanche en el filtrante - estadio de hojas de

lanche) con un nivel del 95 % de confianza. Los detalles de análisis estadístico se muestran en el Anexo 10.

Mediante la prueba de Tukey se determinó que solamente no hay diferencias significativas entre los siguientes pares de tratamientos: T2-T4, T2-T7, T3-T5, T4-T7 Y T6-T8. En el resto de los posibles pares comparativos de tratamientos, existen diferencias significativas. Los detalles de la prueba de Tukey se muestran en el Anexo 11.

Es la tabla 9 observamos que el T9 (Peso: 1.1 g – Estadio: hoja madura) presenta mayor puntaje promedio por parte de jueces afectivos. Teniendo en cuenta que análisis estadístico indica que este tratamiento presenta diferencias significativas respecto a los 8 tratamientos restantes, podemos afirmar que es el tratamiento de mayor preferencia. El puntaje promedio que presenta en tratamiento nueve (T9) es de 6,6; ubicándose entre - me gusta mucho y me gusta extremadamente- en la escala hedónica utilizada. Cabe recordar que las hojas de lanche en estadio iii (hojas maduras) contienen la mayor cantidad de fenoles totales y actividad antioxidante, lo cual hace que T9 sea más relevante.

En cuanto al peso de hojas (maduras) de lanche en el filtrante, de mayor preferencia (1,1g), podemos decir que se encuentra dentro del rango de pesos de la mayoría de filtrantes comerciales conocidos: filtrante de manzanilla (1g); boldo (1 – 1,5 g); tilo (1g); anís (1g); árnica (1 g); hierba buena (0,75 g); té verde (1,5 – 2 g);mate (3 g).

#### **IV. CONCLUSIONES.**

- 4.1. Se logró obtener un filtrante a partir de las hojas de lanche (*myrcianthes rhopaloides*) evaluando sus características fitoquímicas y sensoriales, siguiendo las siguientes etapas: recepción de las hojas de lanche, pesado, selección- clasificación, lavado- desinfección, oreado, secado (a temperatura ambiente hasta una humedad de 8%), molienda y envasado.
- 4.2. Se logró caracterizar a tres estadios de las hojas de lanche (i-hoja nueva o brote, ii-hoja semi-madura y iii-hoja madura), midiendo el valor calórico, humedad, proteína, carbohidratos, ceniza y fibra.
- 4.3. Se logró comparar los tres estadios de hojas de lanche respecto al contenido de fenoles y actividad antioxidante, utilizando un DCA, lo que podemos decir que existe diferencia significativa entre las medias de fenoles totales presentes en las hojas de lanche de estadio i (brotes) y estadio ii (hojas seme-maduras), con un nivel del 95.0% de confianza. Asimismo, existen diferencias significativas entre las hojas de estadio i (brotes) y estadio iii (hojas maduras). No existen diferencias significativas entre las medias de fenoles totales de las hojas del Estadio ii y iii. Respecto a la actividad antioxidante, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la actividad antioxidante entre un nivel de Estadio y otro.

4.4. Se logró determinar el peso de hojas de lanche (en el filtrante) y el estadio de mayor preferencia, mediante una evaluación sensorial afectiva de nueve tratamientos (T) de bebida - infusión- obtenida a partir del filtrante: T1 (0,9 g- hoja nueva), T2 (0,9 g- hoja semi-madura) T3 (0,9 g – hoja madura), T4 (1g – hoja nueva), T5 (1g -hoja semi-madura), T6 (1g- hoja madura), T7 (1,1 g – hoja nueva), T8 (1,1 g – hoja semi-madura) y T9 (1,1 g -hoja madura). Se determinó que el tratamiento de mayor preferencia es el T9 (1,1 g -hoja madura), que además las hojas de lanche contienen la mayor cantidad de fenoles totales.

## **V. RECOMENDACIONES**

- 5.1. Para futuros estudios, recomendamos realizar ensayos fitoquímicos complementarios a las hojas de lanche. Además, ensayar combinando las hojas de lanche con otras hierbas nuevas o conocidas comercialmente en filtrantes.
- 5.2. Se debe tener mucho cuidado en el secado de las hojas, el lugar donde se realiza, el clima, etc. Se debe ejecutar las Buenas Prácticas de Manufactura en esta etapa y en todas las etapas complementarias para obtener el filtrante.
- 5.3. Recomendamos diseñar y evaluar un proyecto de inversión a partir de este trabajo.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

Andrés Illanes. (2015). Alimentos funcionales y biotecnología. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol 17, Iss 1, Pp 5-8 (2015), (1), 5. Disponible en <https://revistas.unal.edu.co/>, accedido el 15/09/2018.

Arellano, M. (2013). Estudio del consumidor peruano 2013. Lima, Perú.

Belitz y Grosch (1998). Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza.

Carou, M. V., y Font, A. M. (2006). ¿Cuándo deben recomendarse los alimentos funcionales? *Jano: Medicina y humanidades*, (1617), 30.

Chasquibol, et al., (2003). Alimentos funcionales. Clasificación e importancia. *Rev. Per. Quim. Ing. Quim.* 5(2):9-20. Disponible en <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/>, accedido el 15/08/2018.

Chesson A, Russell WR y Provan GJ. (1997). Metabolites of the phenylpropanoid pathway - common origin, common properties? In: *Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific worksh*, Aberdeen, Scotland: 17-23.

De Jesús, A. (2016). Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos. *Mutis*, Vol 6, Iss 1, Pp 28-40 (2016), (1), 28. Disponible en <https://revistas.utadeo.edu.co/>, accedido el 05/07/2018.

De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel P., Macía., M and H, Balslev. (2008). Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador. Herbario QCA de la

Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador and Herbario AAU del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Aarhus. Quito and Aarhus. 949 p.

Espinosa, J. E. (2007). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Habana. Editorial Universitaria.

Fontenla, G. (2006). Caracterización del aceite esencial de "Lanche" (*Myrcianthes rhopaloides* (H.B.K) Me Vaugh) proveniente del distrito de Chalaco, provincia de Morropón-Piura, obtenido por dos métodos de destilación (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima – Perú.

Gimeno, E. (2004). Compuestos fenólicos Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico Nutrición*, 23 (6).

Guffante, I. (2013). Screening de actividad antioxidante y citotóxica en Artemia salina DE: *Arcytophyllum thymifolium*, *Salvia squalens*, *Justicia chlorostachya*, *Myrcianthes rhopaloides*, *Dalea mutisii* (Tesis de grado). Escuela superior politécnica de Chimborazo, Ecuador.

Gutiérrez-Grijalva, E. P., Ambriz-Pérez, D. L., Leyva-López, N., Castillo-López, R. I., y Heredia, J. B. (2016). Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility / Review: compuestos fenólicos dietéticos, beneficios a la salud y bioaccesibilidad. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, (2), 87.

- Harborne, J. B. (1993). The flavonoids: Advances in Research Since 1986. Chapman y Hall Ed., London.
- Hernández, E. 2005. Análisis sensorial, Universidad Nacional Abierta y Distancia – UNAD. Bogotá – Colombia.
- Hertog MGL, Hollman PCH, Van de Putte B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. J Agric Food Chem, 41:1242-1246. Disponible en <https://scielo.conicyt.cl/>, accedido el 03/07/2018.
- Høstmark, A. T. 2010. The oslo health study: a dietary index estimating high intake of soft drinks and low intake of fruits and vegetables was positively associated with components of the metabolic syndrome. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 35:816-825. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, accedido el 06/05/2018.
- Inostroza, C. k., Rubio, A. B. (2017). Barrientos. Formulación y caracterización de un filtrante de hojas de Moringa oleífera (Tesis de grado). Universidad Nacional Pedro Ruiz gallo, Lambayeque.
- Kawasaki, L., Holst, B. (2006). Myrtaceae endémicas del Perú. Rev Peru Biol, (2): p. 463-468. Disponible en <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/>, accedido el 11/05/2018.

- Lawless, H. T., Heymann, H., (2010). Evaluación sensorial de los principios y prácticas alimentarias. Springer, Nueva York Dordrecht Heidelberg Londres.
- Lizcano A. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeria pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *pasiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia.
- López, T. (2002). Flavonoides. OFFARMAN, 21(4). Recuperado de <http://www.elsevier.es/>
- Millones, C., Mori, G., Bacalla, J., Vásquez, E., Tafur, R. (2014). Obtención de un filtrante de anís de monte (*Tagetes filifolia* Lag.) edulcorado con hojas de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) *Scientia Agropecuaria* 5 (45) – 51.
- McKay, D. L. and Blumberg, J. B. 2006. A review of the bioactivity and potential benefits of chamomile tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytother. Res.* 20:519-530. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>, accedido el 17/09/2018.
- Mercado, G., Carrillo. L. R. Medrano, A. W., López, J. A., Álvarez, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr Hosp*, 28 (1):36-46. Disponible en <http://scielo.isciii.es/>, accedido el 21/07/2018.

- Muñoz, D. A. (2013). Especies forestales con potencial agroforestal para las zonas altas en el departamento de Nariño. *Revista de Ciencias Agrícolas*. Pasto, Colombia.
- Muñoz-Velázquez, Erika Elizabeth, Rivas-Díaz, Karla, Loarca-Piña, Ma. Guadalupe Flavia, Mendoza-Díaz, Sandra, Reynoso-Camacho, Rosalía, y Ramos-Gómez, Minerva. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(3), 481-495. Recuperado en 20 de septiembre de 2018.
- Naranjo, M., Vélez, L.T, y Rojano, B.A. (2011). Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(2), 164-173. Disponible en <http://scielo.sld.cu/>, accedido el 15/08/2018.
- Picardo, P. (2005). Estudio de la estructura vegetacional y del uso etnomedicinal de las plantas en las Lomas de Atiquipa (Tesis de grado. Arequipa). Universidad Nacional de San Agustín, Departamento de Biología.
- Rein Mj, Renouf M, Cruz Hernandez C, Actis Goretta L, Thakkar SK, da Silva Pinto M. (2013). Bioavailability of bioactive food compounds: a challenging journey to bioefficacy. *Br j Clin Pharmacol*;75(3):588-602.
- Serrano, F. (1996). Árboles y arbustos del bosque de Mazán, Tomo I. Cuenca: ETAPA. 160 p.

- Sharma R. (2014). Polyphenols in health and disease: practice and mechanisms of benefits. Polyphenols in human health and disease, Academic, San Diego. p. 757-78. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/>, accedido el 13/06/2018.
- Silva, A. (2016). Composición Química del aceite esencial de hojas de Myrcianthes Rhopaloides (Tesis de grado). Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia.
- Soto, B. (2014). Estudio de mercado para instalación línea de filtrantes de Hierbas nativas del Perú. Universidad de Piura – Perú.
- Toh, J.J., 1Khoo, H.E., Azrina, A. (2012). Comparison of antioxidant properties of pomelo [Citrus Grandis (L) Osbeck varieties. Toh et al./IFRJ 20(4):1661-1668. Disponible en <https://www.researchgate.net/>, accedido el 23/05/2018.
- Tsimidou, M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Ital J Food Sci; 2, (10): 99-116. Disponible en <https://www.researchgate.net/>, accedido el 18/06/2018.
- Ureña, M.; D`Arrigo, M.; Giron, O. 1999. Evaluación Sensorial de los Alimentos. 1ra Edición. Editorial Agraria. Lima. Perú.
- Valverde, M., eriago, I., Jesús, M., Gaspar, R. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de

Nutrición, 50(1), 5-18. Disponible en [www.scielo.org.ve/](http://www.scielo.org.ve/), accedido el 01/07/2018.

Vera, A. R. (2013). Infusiones heladas como bebidas alternativas en el mercado nacional. Universidad de Piura, Piura.

Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., Elías, L. G. (1992). Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. International Development Research Centre, Canadá.

## **VII. SECCIÓN DE ANEXOS**

### **Anexo 1. Determinación de fenoles totales**

Se aplicó el método de Folin-Ciocalteu para determinar el contenido de fenoles totales en las muestras de lanche (tres estadios).

#### *Fundamento del método*

La concentración de fenoles totales se determinará por espectrofotometría, por el método de Folin–Ciocalteu, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción, resultando la formación de un complejo de color azul (Makkar et al., 1993; Yildirin et al., 2001).

#### *Materiales*

- Matraz aforado
- Espectrofotómetro UV-visible
- Micro Pipeta
- Papel aluminio

#### *Reactivos*

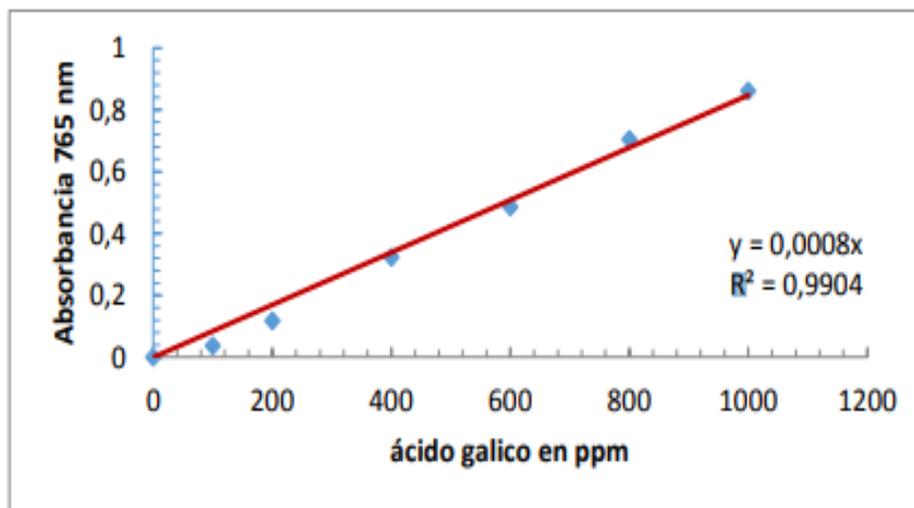
- Folin-Ciocalteu
- carbonato de sodio
- agua desionizada
- ácido gálico

#### *Procedimiento según Quiñones, (2017).*

- Se coloca 0,2 ml de muestra en estudio en un matraz aforado y se añade 2,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu.

- Se mezcla y se deja reaccionar por un lapso de tiempo de tres minutos en ausencia de luz a temperatura ambiente.
- Se agrega 5 ml de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% p/v) y se afora con agua desionizada a 50 ml.
- La mezcla se deja reposar por 30 minutos en ausencia de luz a temperatura ambiente, una vez transcurrido este tiempo se mide su absorbancia a 765 nm con un espectrómetro UV-Visible.
- El contenido de compuestos fenólicos se expresa como mg/L de ácido gálico en la muestra. La determinación se llevará a cabo por triplicado

Cuantificación e interpretación de los resultados



**Figura 7.** Curva de calibración absorbancia vs ácido gálico. Tomado de "Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de Jugo de Murtilla (*Ugni molinae* Turcz) Obtenido por Condensación de Vapor", por Cofré A., (2015). Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fac675d/doc/fac675d.pdf>

**Anexo 2. Absorbancias obtenidas en la cuantificación de fenoles totales de las hojas de lanche.**

**Tabla 13**

*Absorbancias obtenidas en la determinación de fenoles totales en las hojas de lanche*

N° ensayo	Absorbancias a 765 nm		
	Estadio i	Estadio ii	Estadio iii
Ensayo 1	0,813	1,032	1,042
Ensayo 2	0,794	1,047	1,105
Ensayo 3	0,803	1,108	1,215
Promedio	0,803	1,062	1,121
Desviación estándar	±0,0095	±0,0403	±0,0876

*Elaboración propia (2018).*

*Ejemplo de los Cálculos:*

- *Ensayo 1, estadio i*

$$x = \frac{0,813}{0,0008}$$

$$x = 1,016.25 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 2, estadio i*

$$x = \frac{0,794}{0,0008}$$

$$x = 992,50 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 3, estadio i*

$$x = \frac{0,803}{0,0008}$$

$$x = 1\,003,75 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 1, estadio ii*

$$x = \frac{1,032}{0,0008}$$

$$x = 1\,290,00 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 2, estadio i*

$$x = \frac{1,047}{0,0008}$$

$$x = 1\,308,75 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 3, estadio i*

$$x = \frac{1,108}{0,0008}$$

$$x = 1\,385,00 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 1, estadio iii*

$$x = \frac{1,042}{0,0008}$$

$$x = 1\,302,50 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 2, estadio iii*

$$x = \frac{1,105}{0,0008}$$

$$x = 1\,381,25 \text{ mg/L ácido gálico}$$

- *Ensayo 3, estadio iii*

$$x = \frac{1,215}{0,0008}$$

$$x = 1\,518,75 \text{ mg/L ácido gálico}$$

### **Anexo 3. Determinación de actividad antioxidante por el método DPPH**

Este método principalmente establecido por Brand-Williams y colaboradores (1995), es un método colorimétrico simple, que reacciona directamente con el compuesto, por lo cual la reacción depende de la conformación estructural del compuesto (Fukumoto y Mazza, 2000). El fundamento de ésta prueba consiste en que el radical libre presenta un electrón de nitrógeno desapareado, y se muestra de color azul-violeta, y cuando este radical libre se reduce por acción del antioxidante y se estabiliza su acción oxidativa, su color se va decolorando hasta quedar de color amarillo pálido (Cheng et al., 2006). Según los estudios de Brand-Williams y colaboradores (1995), el DPPH es un radical estable donde la reacción es:



AH hace referencia al antioxidante que va a donarle electrones al radical. Según los estudios de Rao y colaboradores (2009), el DPPH funciona a temperatura

ambiente, acepta electrones de los antioxidantes para volverse estable, y hasta el momento, es el mejor método para evaluar la actividad antioxidante de los polifenoles. Los resultados se pueden observar entre 515 y 517nm, pasados unos 30 minutos aproximadamente, siendo que el cambio del color del radical se puede observar en el pico de absorbancia de DPPH (Huang et al., 2005). La eficiencia del antioxidante es medida a temperatura ambiente, de tal manera que se elimina el riesgo de degradación térmica de las moléculas (Bondet et al., 1997).

#### Materiales

- Matraz aforado
- Espectrofotómetro UV-visible
- Micro Pipeta
- Papel aluminio
- Picetas
- Pipeta
- Vaso de precipitación
- Balanza

#### Reactivos

- Reactivo DPPH
- Metanol al 80%
- Agua desionizada
- Trolox

### Preparación de la muestra

Se colocó en un vaso de precipitación de 500 ml, 50 gr de la muestra previamente seleccionada y lavada, seguidamente se adicionó 300 ml de agua de destilada y llevo a temperatura de ebullición por 15 minutos, esto se realizó para cada uno de los estadios (i, ii y iii).

### Preparación de la curva de calibración

se realizaron las diluciones correspondientes. Se preparó una solución patrón, disolviendo 2 mg de Trolox en 10 ml de metanol al 80 %. En la tabla 10 se muestra las soluciones que se emplearon para la curva estándar.

**Tabla 14**

#### *Curva estándar de Trolox*

Concentración ( $\mu\text{m}$ )	Solución patrón (mL)	Metanol 80 % (mL)
800	3	0
700	2.625	0.375
600	2.25	0.75
500	1.875	0.125
400	1.5	1.5
300	1.125	1.875
100	0.375	2.625

Elaboración propia (2018).

### Preparación del radical DPPH

Se pesó 3.9 mg de DPPH en un matraz aforado previamente tarado y se disolvió en 100 ml de metanol al 80 % la solución se colocó en un sonicador para asegurar

una buena disolución. El matraz se cubrió con papel aluminio como protección contra la luz.

#### Método de DPPH

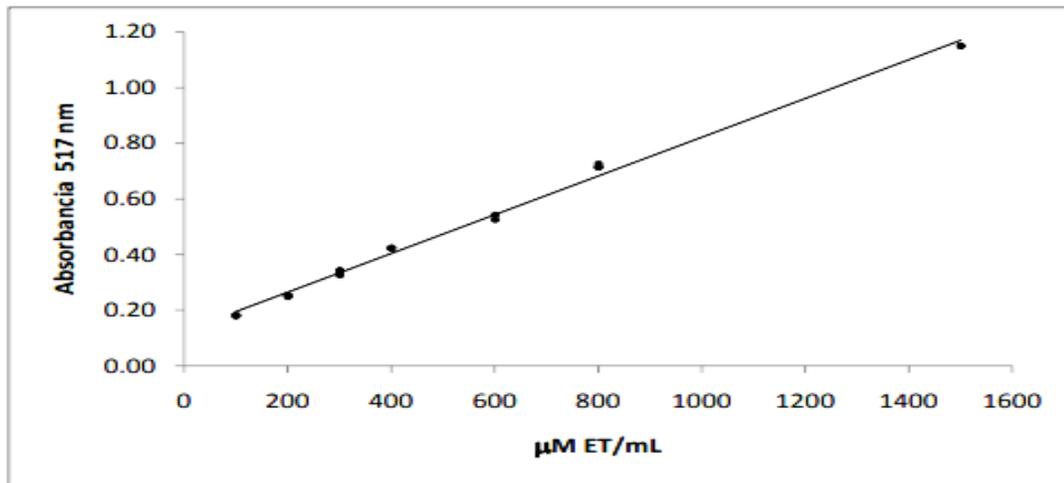
La muestra del estadio (i, ii y iii) previamente diluido, 0.1 ml, se les adicionó 2,9 ml de la solución DPPH, se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad por 2 horas a temperatura ambiente, se realizó una lectura a los 30 minutos en un espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm. El blanco contuvo metanol en lugar de la solución antioxidante.

#### Cálculo de la actividad antioxidante.

Se restaron las absorbancias del blanco y de la muestra (X) y se calcularon los mM equivalentes Trolox/ml muestra con la siguiente fórmula:

$$mMEq. Trolox/ml muestra = \frac{x}{(m \times mL muestra \times 1000)}$$

donde, m: pendiente de la ecuación de la curva de calibración



$$Y = 0.000694X + 0.127$$

$$R^2 = 0.996$$

**Figura 8.** Curva de calibración para actividad antioxidante.

Cálculo:

se calculó como porcentaje de decoloración del radical 2,2-difenil-1- picrilhidracilo (DPPH•), usando la ecuación siguiente:

$$\%Inhibición = \frac{A-\alpha}{A} \times 100$$

Donde, A = Absorbancia del blanco, α = Absorbancia de la muestra.

**Anexo 4.** Absorbancias obtenidas en la determinación de la actividad antioxidante de las hojas de lanche.

**Tabla 15**

*Absorbancias obtenidas en la determinación de la actividad antioxidante de las hojas de lanche*

<b>N° Ensayo</b>	<b>Absorbancias obtenidas a 517 nm</b>			<b>Absorbancia del blanco</b>
	<b>Estadio i</b>	<b>Estadio ii</b>	<b>Estadio iii</b>	
Ensayo 1	0,363	0,367	0,384	
Ensayo 2	0,355	0,367	0,371	
Ensayo 3	0,365	0,366	0,376	0,314
Promedio	0,361	0,366	0,377	
Desviación Estándar	0,005	0,001	0,007	

Elaboración propia (2018).

**Anexo 5. Escala hedónica de análisis afectivo.**

Nombre.....	
Fecha.....	
Edad.....	
Para la muestra recibida de bebida marque con una (x) sobre la escala según su preferencia.	
Me gusta extremadamente	_____
Me gusta mucho	_____
Me gusta ligeramente	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____
Me disgusta ligeramente	_____
Me disgusta mucho	_____
Me disgusta extremadamente	_____

**Figura 9.** Formato para la prueba hedónica de preferencia. Tomado de Watss et al., (1992).

**Anexo 6. Análisis estadístico del contenido de fenoles en las hojas de lanche.**

**Tabla 16**

*Resumen estadístico para fenoles*

<i>ESTADÍO</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
E1	3	1004,17	11,8805	1,18312%	992,5	1016,25
E2	3	1327,92	50,3167	3,78915%	1290,0	1385,0
E3	3	1400,83	109,447	7,81299%	1302,5	1518,75
Total	9	1244,31	192,607	15,479%	992,5	1518,75

Elaboración propia (2018).

**Tabla 17**

*ANOVA para fenoles por estadio*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	267475.	2	133737,67	<b>27,38</b>	<b>0,010</b>
Intra grupos	29303,1	6	4883,85		
Total	296778	8			

Elaboración propia (2018).

## Anexo 7. Pruebas de Múltiple Rangos para fenoles por estadio

**Tabla 18**

*Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD*

<i>ESTADÍO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E1	3	1004,17	X
E2	3	1327,92	X
E3	3	1400,83	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
E1 - E2	*	<b>-323,75</b>	175,079
E1 - E3	*	<b>-396,67</b>	175,079
E2 - E3		-72,917	175,079

\* **indica una diferencia significativa.**

Elaboración propia (2018).

**Anexo 8. Análisis estadístico de los datos de actividad antioxidante determinada en la hoja de lanche**

**Tabla 19**

*Resumen estadístico para actividad antioxidante*

<i>ESTADÍO</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
E1	3	0,003633	0,0000577	1.58904%	0,0036	0,0037
E2	3	0,0037	0	0%	0,0037	0,0037
E3	3	0,0038	0,0001	2,63158%	0,0037	0,0039
Total	9	0,003711	0,0000927	2,50049%	0,0036	0,0039

Elaboración propia (2018).

**Tabla 20**

*Tabla ANOVA para actividad antioxidante por estadio*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4,22222E-8	2	2,11111E-8	<b>4,75</b>	<b>0,0580</b>
Intra grupos	2,66667E-8	6	4,44444E-9		
Total	6,88889E-8	8			

Elaboración propia (2018).

## Anexo 9. Resultados de la evaluación sensorial afectiva.

**Tabla 21**

*Calificación afectiva del sabor por de 30 jueces en una escala hedónica.*

JUECES	TRATAMIENTOS								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	5	3	7	4	3	6	5	6	7
2	2	4	5	4	3	5	4	6	6
3	3	5	5	3	4	3	5	6	7
4	2	5	7	3	6	7	6	6	7
5	2	5	6	4	3	5	6	7	7
6	4	4	4	4	5	6	3	7	6
7	4	3	7	3	3	4	5	6	6
8	5	3	4	5	6	6	5	7	6
9	3	4	6	4	7	4	6	6	7
10	5	3	4	3	7	7	6	6	6
11	2	5	7	5	4	5	4	6	7
12	4	4	5	3	3	5	3	7	7
13	3	5	4	5	3	3	4	7	6
14	3	5	5	5	6	5	5	7	6
15	5	3	7	3	6	6	5	6	6
16	2	3	5	5	7	6	3	6	6
17	2	4	3	3	7	4	4	6	7
18	2	4	6	5	7	4	4	6	6
19	2	3	5	3	6	4	4	7	7
20	2	4	4	4	3	3	4	5	6
21	5	5	7	3	6	6	3	6	6
22	3	5	6	5	4	6	6	7	6
23	3	4	4	3	3	5	5	5	7
24	2	4	6	5	6	5	4	6	6
25	5	5	7	5	7	6	6	7	6
26	2	3	5	5	6	7	4	5	6
27	5	3	7	4	5	4	5	6	7
28	4	5	5	5	6	3	5	6	7
29	3	5	5	3	7	5	5	7	6
30	2	3	5	3	7	7	4	5	6
Promedio	3,2	4,0	5,4	4,0	5,2	5,1	4,6	6,2	6,4
Desviación	1,21	0,85	1,19	0,89	1,61	1,26	0,97	0,66	0,50

Elaboración propia (2018).

**Tabla 22***Calificación afectiva del color por de 30 jueces en una escala hedónica.*

JUECES	TRATAMIENTOS								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	5	7	7	7	3	6	5	4	6
2	7	4	5	6	3	5	3	6	6
3	6	4	5	3	4	3	4	3	4
4	7	5	7	7	6	7	4	7	7
5	5	4	6	6	3	5	4	5	6
6	4	5	4	7	5	6	3	3	5
7	6	6	7	4	3	4	5	6	7
8	7	5	4	5	6	6	6	4	5
9	6	4	6	5	7	4	4	6	4
10	5	6	4	5	7	7	3	4	6
11	6	4	7	5	4	5	5	7	6
12	4	3	5	5	3	5	7	3	7
13	6	6	4	5	3	3	4	3	6
14	4	4	5	7	6	5	4	4	6
15	7	5	7	3	6	6	4	3	4
16	7	3	5	3	7	6	7	5	4
17	6	4	3	5	7	4	3	3	4
18	5	6	6	6	7	4	4	3	7
19	5	3	5	3	6	4	3	6	7
20	4	6	4	5	3	3	7	5	4
21	3	3	7	3	6	6	7	5	7
22	3	7	6	3	4	6	7	6	5
23	4	7	4	6	3	5	3	7	3
24	6	6	6	4	6	5	4	5	7
25	3	4	7	3	7	6	7	7	6
26	3	3	5	7	6	7	3	7	3
27	5	3	7	6	5	4	7	6	7
28	7	7	5	5	6	3	6	6	7
29	6	6	5	3	7	5	6	5	7
30	7	7	5	7	7	7	4	4	3
Promedio	5,3	4,9	5,4	5,0	5,2	5,1	4,8	4,9	5,5
Desviación	1,37	1,42	1,19	1,47	1,61	1,26	1,52	1,44	1,41

Elaboración propia (2018).

**Tabla 23***Calificación afectiva del olor por de 30 jueces en una escala hedónica.*

JUECES	TRATAMIENTOS								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	4	5	7	6	6	4	7	6	4
2	7	6	4	5	5	5	5	6	4
3	5	4	6	5	7	5	6	7	5
4	6	6	5	7	6	6	4	6	6
5	7	7	4	7	5	5	6	4	7
6	6	4	5	5	4	4	5	4	7
7	5	4	4	6	7	7	4	7	7
8	4	6	4	7	4	7	5	4	5
9	7	7	6	5	6	6	5	4	6
10	5	4	5	4	5	7	5	5	7
11	7	5	6	5	6	6	5	5	6
12	5	6	4	5	6	6	4	5	6
13	7	4	5	7	7	5	5	5	4
14	7	5	6	6	4	7	7	7	6
15	5	4	5	6	5	6	6	5	6
16	7	4	4	7	6	7	4	4	7
17	4	4	5	6	6	5	6	7	7
18	7	4	5	4	5	5	5	7	4
19	5	6	7	4	4	7	5	4	6
20	4	5	6	6	6	5	6	7	6
21	7	7	7	5	5	5	6	7	6
22	7	7	6	5	5	4	5	5	7
23	4	4	6	7	4	4	4	7	6
24	4	5	7	7	4	6	5	7	4
25	4	5	5	7	4	7	4	4	6
26	7	5	4	6	5	4	4	7	5
27	5	6	4	7	4	7	7	6	5
28	4	6	6	6	5	5	5	5	6
29	6	7	7	4	4	6	6	7	7
30	7	6	7	5	6	4	6	4	7
Promedio	5,6	5,3	5,4	5,7	5,2	5,6	5,2	5,6	5,8
Desviación	1,27	1,11	1,10	1,05	1,00	1,10	0,94	1,25	1,05

Elaboración propia (2018).

**Tabla 21***Aceptabilidad global emitida por 30 jueces en una escala hedónica*

JUECES	TRATAMIENTOS (Peso - Estadio de las hojas)								
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	3	4	5	3	5	7	4	6	7
2	2	3	5	4	5	6	4	6	7
3	2	4	6	2	4	6	5	7	6
4	3	3	5	4	3	6	4	5	7
5	2	4	4	3	4	5	5	6	7
6	2	3	5	3	5	6	4	6	7
7	2	4	5	3	4	7	4	6	6
8	2	4	5	4	5	6	5	5	7
9	3	4	5	4	4	5	4	7	6
10	3	4	4	3	5	6	3	7	7
11	1	3	5	3	4	6	3	6	6
12	2	4	5	4	5	5	4	6	7
13	4	3	5	3	4	6	3	6	7
14	2	3	4	4	2	5	4	5	7
15	3	4	4	3	4	6	4	6	6
16	2	4	4	2	4	6	3	6	7
17	2	4	5	4	6	5	3	5	6
18	4	3	5	4	4	6	3	6	7
19	2	3	4	3	5	6	4	5	7
20	3	3	5	3	6	7	3	6	6
21	1	4	4	3	5	6	4	6	7
22	3	4	5	3	5	5	3	6	5
23	2	4	4	4	6	7	3	6	7
24	2	4	5	2	6	7	3	7	7
25	3	3	5	3	6	6	3	6	7
26	2	3	4	4	5	6	4	5	7
27	3	5	4	4	6	6	3	5	6
28	2	3	4	3	5	5	3	6	7
29	1	4	5	4	5	5	4	6	5
30	2	3	5	3	5	6	4	6	7
Promedio	2,3	3,6	4,7	3,3	4,7	5,9	3,7	5,9	6,6
Desviación	0,77	0,56	0,55	0,66	0,96	0,67	0,67	0,62	0,63

Elaboración propia (2018).

## Anexo 10. Análisis de varianza de los resultados de evaluación sensorial

**Tabla 25**

*ANOVA, evaluación sensorial del sabor de las muestras*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	268,333	8	33,5417	29,58	0,0000
Intra grupos	295,967	261	1,13397		
Total (Corr.)	564,3	269			

Elaboración propia (2018).

**Tabla 26**

*ANOVA, evaluación sensorial del color de las muestras*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	16,2667	8	2,03333	1,02	0,4247
Intra grupos	522,7	261	2,00268		
Total (Corr.)	538,967	269			

Elaboración propia (2018).

**Tabla 27***ANOVA, evaluación sensorial del olor de las muestras*

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	12,6963	8	1,58704	1,31	0,2398
Intra grupos	316,8	261	1,21379		
Total (Corr.)	329,496	269			

**Tabla 28***ANOVA, aceptabilidad global de las muestras*

<b><i>Fuente</i></b>	<b><i>Suma de Cuadrados</i></b>	<b><i>Gl</i></b>	<b><i>Cuadrado Medio</i></b>	<b><i>Razón-F</i></b>	<b><i>Valor-P</i></b>
Entre grupos	481,4	8	60,175	<b>130,92</b>	<b>0,0000</b>
Intra grupos	119,967	261	0,459642		
Total	601,367	269			

Elaboración propia (2018).

## Anexo 11. Prueba de Tukey para resultados de evaluación sensorial

**Tabla 26**

*Método de Tukey HSD (95%), evaluación sensorial del sabor de las muestras*

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2		-0.833333	0.859993
T1 - T3	*	-2.233333	0.859993
T1 - T4		-0.766667	0.859993
T1 - T5	*	-2.0	0.859993
T1 - T6	*	-1.86667	0.859993
T1 - T7	*	-1.4	0.859993
T1 - T8	*	-3.0	0.859993
T1 - T9	*	-3.2	0.859993
T2 - T3	*	-1.4	0.859993
T2 - T4		0.066667	0.859993
T2 - T5	*	-1.16667	0.859993
T2 - T6	*	-1.03333	0.859993
T2 - T7		-0.566667	0.859993
T2 - T8	*	-2.16667	0.859993
T2 - T9	*	-2.36667	0.859993
T3 - T4	*	1.46667	0.859993
T3 - T5		0.233333	0.859993
T3 - T6		0.366667	0.859993
T3 - T7		0.833333	0.859993
T3 - T8		-0.766667	0.859993
T3 - T9	*	-0.966667	0.859993
T4 - T5	*	-1.23333	0.859993
T4 - T6	*	-1.1	0.859993
T4 - T7		-0.633333	0.859993
T4 - T8	*	-2.23333	0.859993
T4 - T9	*	-2.43333	0.859993
T5 - T6		0.133333	0.859993
T5 - T7		0.6	0.859993
T5 - T8	*	-1.0	0.859993
T5 - T9	*	-1.2	0.859993
T6 - T7		0.466667	0.859993
T6 - T8	*	-1.13333	0.859993
T6 - T9	*	-1.33333	0.859993
T7 - T8	*	-1.6	0.859993
T7 - T9	*	-1.8	0.859993
T8 - T9		-0.2	0.859993

\* indica una diferencia significativa.

Elaboración propia (2018).

**Tabla 30***Método de Tukey HSD (95%), aceptabilidad global de las muestras*

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
T1 - T2	*	<b>-1,26667</b>	0,547525
T1 - T3	*	<b>-2,33333</b>	0,547525
T1 - T4	*	<b>-0,966667</b>	0,547525
T1 - T5	*	<b>-2,4</b>	0,547525
T1 - T6	*	<b>-3,56667</b>	0,547525
T1 - T7	*	<b>-1,33333</b>	0,547525
T1 - T8	*	<b>-3,56667</b>	0,547525
T1 - T9	*	<b>-4,26667</b>	0,547525
T2 - T3	*	<b>-1,06667</b>	0,547525
T2 - T4		0,3	0,547525
T2 - T5	*	<b>-1,13333</b>	0,547525
T2 - T6	*	<b>-2,3</b>	0,547525
T2 - T7		-0,0666667	0,547525
T2 - T8	*	<b>-2,3</b>	0,547525
T2 - T9	*	<b>-3,0</b>	0,547525
T3 - T4	*	<b>1,36667</b>	0,547525
T3 - T5		-0,0666667	0,547525
T3 - T6	*	<b>-1,23333</b>	0,547525
T3 - T7	*	<b>1,0</b>	0,547525
T3 - T8	*	<b>-1,23333</b>	0,547525
T3 - T9	*	<b>-1,93333</b>	0,547525
T4 - T5	*	<b>-1,43333</b>	0,547525
T4 - T6	*	<b>-2,6</b>	0,547525
T4 - T7		-0,366667	0,547525
T4 - T8	*	<b>-2,6</b>	0,547525
T4 - T9	*	<b>-3,3</b>	0,547525
T5 - T6	*	<b>-1,16667</b>	0,547525
T5 - T7	*	<b>1,06667</b>	0,547525
T5 - T8	*	<b>-1,16667</b>	0,547525
T5 - T9	*	<b>-1,86667</b>	0,547525
T6 - T7	*	<b>2,23333</b>	0,547525
T6 - T8		0	0,547525
T6 - T9	*	<b>-0,7</b>	0,547525
T7 - T8	*	<b>-2,23333</b>	0,547525
T7 - T9	*	<b>-2,93333</b>	0,547525
T8 - T9	*	<b>-0,7</b>	0,547525

\* indica una diferencia significativa.

Elaboración propia (2018).

## **Anexo 12. Descripción de los métodos de ensayo de la AOAC utilizados**

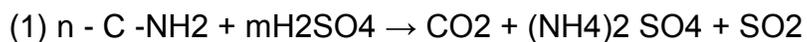
**Determinación de humedad.** Método gravimétrico, estufa a presión atmosférica a 105°C por 14 a 16 horas hasta obtener un peso constante (Método AOAC – 950,46). La humedad de las hojas se determina por secado y diferencia de pesos. El contenido de humedad en la muestra se expresa como porcentaje en base humedad.

**Determinación de proteína.** Método semi-micro Kjeldhal, utilizando el factor N x 6.25 para llevar el nitrógeno a proteína total (Método AOAC – 928.08).

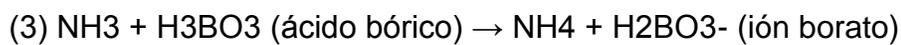
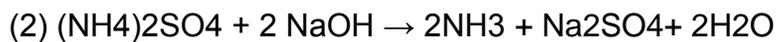
El método Kjeldahl es el método estándar de determinación del contenido en nitrógeno desde finales del siglo XIX. El método consiste básicamente en tres grandes pasos (AOAC, 1990):

Digestión: Se produce la descomposición del nitrógeno que contienen las muestras orgánicas utilizando una solución de ácido concentrado. Esto se obtiene haciendo hervir la muestra en una concentración de ácido sulfúrico. El resultado es una solución de sulfato de amonio.

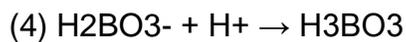
Catalizadores → proteína → calor



Destilación: Se libera amoníaco, el cual es retenido en una solución con una cantidad conocida de ácido bórico. Inicialmente se realiza una destilación con vapor por el método de arrastre de vapor de agua, mediante la cual acelera la obtención del destilado.



Titulación: Cuantificación del amoníaco por valoración con una solución estándar.



Una vez conocido el contenido en nitrógeno de la muestra, la multiplicación de aquel por el factor de conversión 5.70 (para cereales y derivados de soya) nos aproxima al conocimiento del contenido en PBS. Existe una alternativa al método Kjeldhal de determinación del nitrógeno que consiste en la combustión en una atmósfera de oxígeno puro y a alta temperatura (950 °C) de la muestra para detectar, por conductividad térmica, el nitrógeno presente en la misma.

Procedimiento:

- Realizar la muestra en duplicado.
- Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos.

- Pesar al 0.1 mg. alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión Kjeldahl.
- Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico conc.
- Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Cuando la solución de hidróxido de sodio al 15 % adicionada de fenolftaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora debe ser cambiada (aprox. 3 análisis).
- Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. más. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.
- Enfriar y agregar 200 mL de agua.
- Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 ml de NaOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave.
- Destilar no menos de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en:
  - a) 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.1 N, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Asegurar un exceso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para que se pueda

realizar la retrotitulación. Titular el exceso de ácido con NaOH 0.1 N hasta color amarillo.

b) 50 ml de ácido bórico al 3 %. Titular con ácido clorhídrico 0.1 N hasta pH 4.6 mediante un medidor de pH calibrado con soluciones tampón pH 4 y pH 7, o en presencia del indicador de Tashiro hasta pH 4.6 Cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 ml de una solución de sulfato de amonio 0.1 N (6.6077 g/L), 100 ml de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de L(-)-Tirosina. El contenido teórico en nitrógeno de este producto es de 7.73 %. Debe recuperarse un 99.7 %.

Cálculo:

$$N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 100}$$

$$\%proteína = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times Factor}{m \times 100}$$

Donde:

V: 50 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N - gasto NaOH 0,1 N o gasto de HCl 0,1 N

m: masa de la muestra, en gramos

factor: 5,7 (para cereales y derivados de soya)

**Determinación de grasa.** Método Soxhlet, empleando diversos solventes orgánicos (hexano) (AOAC – 960.39).

Una cantidad previamente homogeneizada y seca, medida o pesada del alimento se somete a una extracción con éter de petróleo o éter etílico, libre de peróxidos o mezcla de ambos. Posteriormente, se realiza la extracción total de la materia grasa libre por soxhlet.

Procedimiento:

- Preparación de la muestra: En muestras con mucha humedad homogeneizar y secar a 103+ °C en estufa de aire considerando el tipo de muestra.
- Moler y pasar por tamiz de malla de 1 mm
- Pesar en duplicado 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Registrar m
- Secar el matraz de extracción por 30 min a 103+ 2°C.
- Pesar el matraz de extracción Registrar m<sub>1</sub>.
- Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz.
- Extraer la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/seg.
- Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en rotavapor o baño María bajo campana. Hasta que no se detecte olor a éter.

- Secar el matraz con la grasa en estufa a 103+ 2°C por 10 min, enfriar en desecados y pesar. Registrar m<sub>2</sub>.

Cálculo:

$$\%Grasa = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

$$\%Grasa Base Seca = \%Grasa \times \frac{100}{100 - \%Humedad}$$

Dónde:

m peso de la muestra

m<sub>1</sub> tara del matraz solo

m<sub>2</sub> peso matraz con grasa.

**Determinación de Fibra Bruta.** Se determinó mediante digestión ácida y alcalina (AOAC – 962,09). Fibra cruda es la pérdida de masa que corresponde a la incineración del residuo orgánico que queda después de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.

Procedimiento:

- Homogeneizar, secar 103 + 2 °C en estufa de aire o a 70 °C al vacío, de acuerdo a las técnicas indicadas en la referencia, considerando el tipo de muestra. Moler la muestra.
- Pasar por un tamiz de malla de 1 mm.
- Extraer con éter de petróleo sí el contenido de grasa es superior al 1.
- Realizar el análisis en duplicado.
- Pesar a 0,1 mg alrededor de 2 g de muestra preparada y transferir en al matraz del aparato de calentamiento a reflujo. Registrar s
- Agregar 1,5 a 2,0 g de fibra cerámica preparada.
- Agregar 200 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,255 N, hirviendo, gotas de antiespumante y perlas de vidrio.
- Conectar el aparato de calentamiento a reflujo y hervir exactamente durante 30 minutos, rotando el matraz periódicamente.
- Desmontar el equipo y filtrar a través del embudo Büchner tipo California o sus alternativas.
- Lavar con 50 a 75 ml de agua hirviendo, repetir el lavado con 3 porciones de 50 ml de agua o hasta que cese la reacción ácida.
- Retornar el residuo al aparato de calentamiento a reflujo y hervir exactamente durante 30 minutos, rotando el matraz periódicamente.
- Lavar con 25 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,255 N, hirviendo, con 3 porciones de 50 ml de agua hirviendo y con 25 ml de etanol al 95%.

- Remover el residuo y transferir al crisol.
- Secar en estufa a 130 + 2 °C por 2 horas, enfriar en desecador y pesar.
- Incinerar 30 minutos a 600 + 15 °C, enfriar en desecador y pesar.
- Determinar un blanco en las mismas condiciones que la muestra.

Cálculo:

$$\%Fibra Cruda = C = \frac{(Pérdida de peso en la incineración - Pérdida de peso del blanco de fibra cerámica) \times 100}{Peso de la muestra}$$

**Determinación de cenizas.** Por incineración de la muestra en mufla a 600°C por 6 horas (AOAC – 923.03). La determinación de cenizas es referida como el análisis de residuos inorgánicos que quedan después de la ignición u oxidación completa de la materia orgánica de un alimento. Es esencial el conocimiento básico de las características de varios métodos para analizar cenizas, así como el equipo para llevarlo a cabo para garantizar resultados confiables. Existen tres tipos de análisis de cenizas: cenizas en seco para la mayoría de las muestras de alimentos; cenizas húmedas (por oxidación) para muestras con alto contenido de grasa (carne y productos cárnicos) como método de preparación de la muestra para análisis elemental y análisis simple de cenizas de plasma en seco a baja temperatura para la preparación de muestras cuando se llevan a cabo análisis de volátiles elementales.

La técnica que se utilizará en esta sesión de laboratorio será la de cenizas en seco, la cual consiste en quemar la muestra al aire y posteriormente en una mufla para eliminar todo el material orgánico. La ceniza remanente es el residuo inorgánico y la medición de la ceniza total es útil en el análisis de alimentos, ya que se pueden determinar diversos minerales contenidos en la muestra. Algunos errores y dificultades involucrados en la determinación de las cenizas en seco son: la pérdida de ceniza debido a la intensidad con que arde la flama en el momento de quemar la muestra al aire y el cambio gradual en las sales minerales con el calor, como el cambio de carbonatos a óxidos; adhesión de las muestras con un contenido alto de azúcares, lo cual puede ocasionar pérdida de la muestra y fusión del carbón a partes no oxidadas atrapadas de la muestra.

*Procedimiento:*

- Ponga a peso constante un crisol o cápsula de porcelana por cada muestra que se va a analizar, lo cual significa dejarlo durante 15 minutos en la mufla a una temperatura de 550° a 600°C.
- Deje enfriar el crisol en un desecador durante 15 a 20 minutos. Procure no cerrar el desecador totalmente, ya que el calor de los crisoles puede provocar que la tapa se proyecte y se rompa.
- Pese el crisol en balanza analítica e identifíquelo con el número que tiene marcado en la parte inferior. Anote el peso.

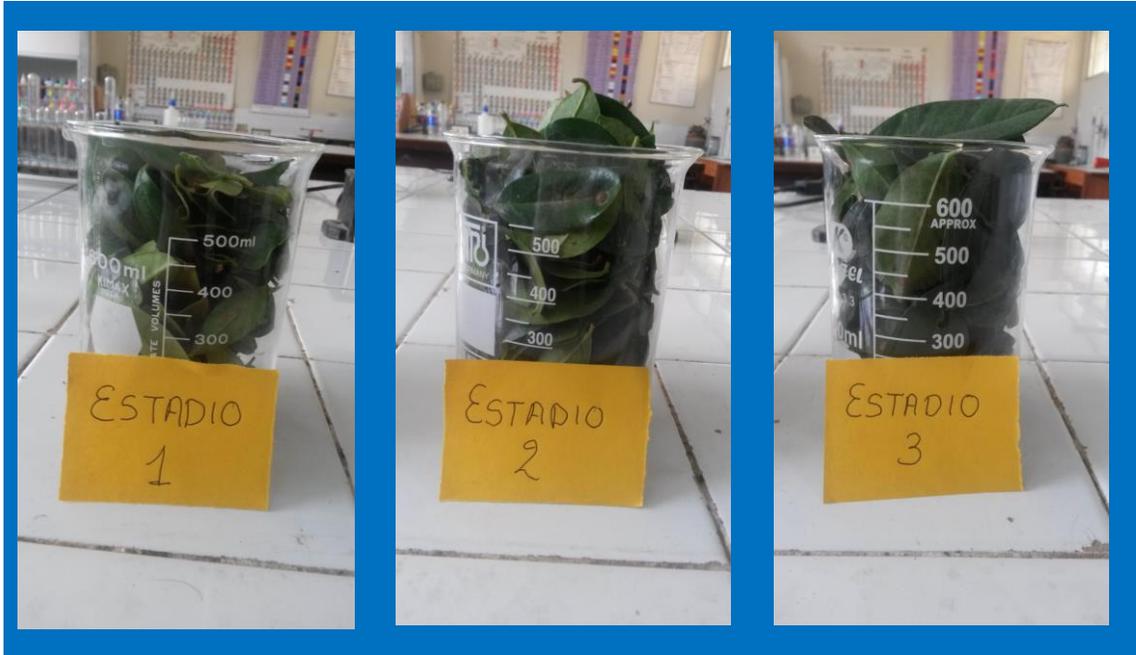
- Pese en el crisol 1-2 gramos de la muestra (sobre todo si va a determinar Ca y P) de la muestra seca. Registre el peso exacto.
- Pre incinere la muestra exponiéndola a la flama del mechero de Bunsen
- Incinere la muestra en la mufla precalentada entre 550° y 600°C durante 2 horas.
- Pese el crisol con cenizas (ya no deben estar negras, si lo están incinere otra media hora) en la misma balanza que utilizó inicialmente. Anote el peso.

Cálculo:

$$\%Ceniza\ en\ base\ seca = \frac{Peso\ de\ ceniza \times 100}{Peso\ de\ muestra}$$

**Determinación de Carbohidratos.** Se determinó por diferencia entre los componentes encontrados.

### Anexo 13. Imágenes



**Figura 10.** Estadios de las hojas de lanche. Elaboración propia (2018).



**Figura 11.** Filtración del extracto de hojas de lanche. Elaboración propia (2018).



**Figura 12.** Pesado de las hojas de lanche utilizadas. Elaboración propia (2018).



**Figura 13.** Extracto obtenido a partir de las hojas de lanche con diferentes estadios. Elaboración propia (2018).