

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA
REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Punica granatum*)
Y MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON
ESTEVIÁ (*Stevia Rebaudiana B.*)”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

AUTORES:

Bach. PILCO LAUREANO, Alessandro Del Piero
Bach. PISCOCHE CHINCHAY, Richerson Harol

ASESORA:

Dra. AGUIRRE VARGAS, Elza Berta

COASESOR:

Mg. PANTOJA TIRADO, Lucia Ruth

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ
2022



UNS
UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL SANTA

**TESIS PARA OPTAR POR EL TITULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA
REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Púnica granatum*) Y
MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON
ESTEVA (*Stevia Rebaudiana B.*)”**

REVISADO POR:

ASESOR: Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
DNI: 19096335



HOJA DE AVAL DE JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Púnica granatum*) Y MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana B.*)", para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, presentado por el bachiller: Br. Pilco Laureano Alessandro Del Piero y Br. Piscoche Chinchay Richerson Harold, teniendo como asesora a la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas y coasesor a la Mg. Lucia Ruth Pantoja Tirado, designadas mediante la resolución decanal N°167-2022-UNS-FI.

Dra. Luz María Paucar Menacho
Presidente

Dr. Victor Augusto Castro Zavaleta
Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante

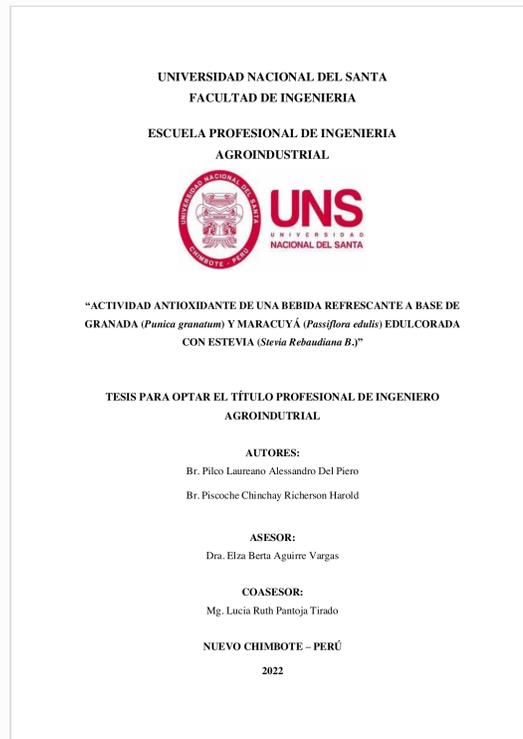


Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por **Turnitin**. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega: Lucia Ruth PANTOJA TIRADO
Título del ejercicio: POSGRADO
Título de la entrega: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA REFRESCANTE A ...
Nombre del archivo: ssiflora_edulis_EDULCORADA_CON_ESTEVIA_Stevia_Rebaudia...
Tamaño del archivo: 2.24M
Total páginas: 106
Total de palabras: 22,598
Total de caracteres: 125,043
Fecha de entrega: 30-jul.-2022 04:02p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega... 1704704219





ACTA DE SUSTENTACIÓN INFORME FINAL DE TESIS

Siendo las 11:00 horas del día veinte de julio del dos mil veintidós, se instalaron en el aula multimedia de la EPIA – 1er piso, el Jurado Evaluador, designado mediante T/Resolución N° 244-2021-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dra. Luz María Paucar Menacho** (Presidente)
- **Dr. Víctor Augusto Castro Zavaleta** (Secretario)
- **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** (Integrante)
- **Dr. César Moreno Rojo** (Accesitario)

Para dar inicio a la Sustentación del Informe Final de Tesis:

“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Punica granatum*) Y MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana B.*)”, elaborado por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **PILCO LAUREANO ALESSANDRO DEL PIERO**
- **PISCOCHE CHINCHAY RICHERSON HAROLD**

Asimismo, tiene como Asesor a la docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** y como Coasesora a la **Mg. Lucía Ruth Pantoja Tirado**.

Finalizada la sustentación, el Tesista respondió las preguntas formuladas por los miembros del Jurado Evaluador.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Artículo 103° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
PILCO LAUREANO ALESSANDRO DEL PIERO	16	BUENO

Siendo las 12:30 horas del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el Jurado Evaluador.

Nuevo Chimbote, 20 de julio del 2022.

Dra. Luz María Paucar Menacho
Presidente

Dr. Víctor Augusto Castro Zavaleta
Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN INFORME FINAL DE TESIS

Siendo las 11:00 horas del día veinte de julio del dos mil veintidós, se instalaron en el aula multimedia de la EPIA – 1er piso, el Jurado Evaluador, designado mediante T/Resolución N° 244-2021-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dra. Luz María Paucar Menacho** (Presidente)
- **Dr. Víctor Augusto Castro Zavaleta** (Secretario)
- **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** (Integrante)
- **Dr. César Moreno Rojo** (Accesitario)

Para dar inicio a la Sustentación del Informe Final de Tesis:

“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Punica granatum*) Y MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana B.*)”, elaborado por los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **PILCO LAUREANO ALESSANDRO PIERO**
- **PISCOCHE CHINCHAY RICHERSON HAROLD**

Asimismo, tiene como Asesor a la docente: **Dra. Elza Berta Aguirre Vargas** y como Coasesora a la **Mg. Lucía Ruth Pantoja Tirado**.

Finalizada la sustentación, el Tesista respondió las preguntas formuladas por los miembros del Jurado Evaluador.

El Jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes en concordancia con el Artículo 103° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
PISCOCHE CHINCHAY RICHERSON HAROLD	16	BUENO

Siendo las 12:30 horas del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el Jurado Evaluador.

Nuevo Chimbote, 20 de julio del 2022.

Dra. Luz María Paucar Menacho
Presidente

Dr. Víctor Augusto Castro Zavaleta
Secretario

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Integrante

DEDICATORIA

*A Dios por el amor y la fortaleza que me da en la vida
y por permitirme llegar a esta etapa profesional*

*A mis padres por su apoyo emocional e
incondicional a lo largo de la carrera.*

*A mi familia y compañero de tesis por el apoyo que me
dieron para poder seguir avanzando con más presteza.*

*A mis profesores de carrera por los conocimientos
brindados y el abrirme las puertas en tiempos
difíciles.*

Alessandro Del Piero Pilco Laureano

DEDICATORIA

A Dios por guiarme y darme fuerzas para lidiar desafíos y cumplir mis metas trazadas.

A mi familia Chinchay, en especial a mi mamá Sara y a mi mamita Irma, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores y por ser mi mayor motivación para lograr mis metas y objetivos en mi formación profesional y sobre todo por su amor y comprensión. A mis tíos por sus consejos y apoyo incondicional.

A la memoria de mi querido Papá Justo, mi ángel protector; desde el cielo me guías y proteges. Te amo y te recordaré siempre.

A mi pareja por ser una persona muy especial en mi vida, por su amor, cariño, paciencia, preocupación y sobre todo por su apoyo incondicional.

Richerson Harold Piscoche Chinchay

AGRADECIMIENTO

Agradecido con Dios por su amor infinito, por guíarnos en cada paso que damos en la vida y por permitirnos culminar satisfactoriamente este trabajo de investigación.

A nuestros familiares, por su gran apoyo y por ser nuestra motivación constante para alcanzar nuestras metas trazadas, por buscar lo mejor para nosotros y por formarnos con valores y principios para toda la vida.

A las enseñanzas de todos nuestros docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por sus conocimientos y apoyo brindado y de manera muy especial a nuestra asesora y Coasesora la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas y la Mg. Lucia Ruth Pantoja Tirado por brindarnos su apoyo y orientación para llevar a cabo la ejecución exitosa de nuestro trabajo de investigación.

A los ingenieros Lenin Palacios y Jhon Gonzales, por su apoyo y orientación durante el desarrollo de nuestra tesis.

Autores

INDICE GENERAL		Pág.
RESUMEN		ix
ABSTRAC		x
I. INTRODUCCIÓN		1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA		3
2.1. Granada (<i>Punica Granatum</i>).....		3
2.1.1. Generalidades.....		3
2.1.2. Variedades.....		5
2.1.3. Composición química		6
2.1.4. Componentes funcionales de la granada.....		8
2.2. Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>).....		14
2.2.1. Generalidades.....		14
2.2.2. Composición fisicoquímica		15
2.2.3. Composición Nutricional		17
2.2.4. Variedades.....		17
2.2.5. Propiedades antioxidantes.....		18
2.2.6. Contenido de Vitamina C.....		18
2.2.7. Polifenoles totales y Actividad antioxidante del maracuyá.....		19
2.3. Estevia (<i>Stevia rebaudiana</i>)		20
2.3.1. Aspectos generales.....		20
2.3.2. Composición química y nutricional		21
2.3.3. Compuestos fenólicos de la Estevia.....		22
2.3.4. Usos y beneficios		23
2.4. Bebida refrescante		24
2.4.1. Generalidades.....		24
2.4.2. Compuestos fenólicos de bebida de frutas.....		25
2.5. Métodos para Determinación de Compuestos fenólicos		26
2.5.1. Método FRAP (poder antioxidante reductor férrico).....		26
2.5.2. Método Folin Ciocalteu		27
2.5.3. Ensayo TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox).....		28
2.5.4. Ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)		28
2.6. Actividad Antioxidante		29

III.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1.	MATERIALES.....	33
3.1.1.	Materia Prima.....	33
3.1.2.	Insumos:.....	33
3.1.3.	Reactivos:.....	33
3.1.4.	Materiales:.....	34
3.1.5.	Materiales de Vidrio:	34
3.1.6.	Equipos:	34
3.2.	MÉTODOS.....	35
3.2.1.	Diagrama de flujo para la Elaboración de bebida refrescante	35
3.2.2.	Descripción del procesamiento de la bebida refrescante:	36
3.2.3.	Métodos de Caracterización Físicoquímico:.....	38
3.2.4.	Diseño Experimental.....	42
3.2.5.	Diseño Estadístico.....	43
3.2.6.	Modelo Estadístico.....	43
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1.	Composición fisicoquímica del maracuyá y de la granada	44
4.2.	Análisis fisicoquímico de las formulaciones.....	45
4.3.	Análisis de DPPH.....	47
4.4.	Determinación de polifenoles totales de los diferentes tratamientos	52
4.5.	Análisis Sensorial.....	56
4.5.1.	Color	56
4.5.2.	Olor	57
4.5.3.	Sabor	59
4.5.4.	Aceptación general.....	60
V.	CONCLUSIONES	63
VI.	RECOMENDACIONES	63
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y VIRTUALES	64
VIII.	ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Taxonomía de la granada	4
Tabla 2. Composición nutricional de la granada.....	7
Tabla 3. Composición de antioxidantes en diversos genotipos.....	8
Tabla 4. Clasificación taxonómica del maracuyá	15
Tabla 5. Composición Fisicoquímica del maracuyá	16
Tabla 6. Composición Química del maracuyá	16
Tabla 7. Compuesto nutricional de 100 g de maracuyá.....	17
Tabla 8. Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante	19
Tabla 9. Taxonomía de la estevia.....	21
Tabla 10. Composición química de la estevia.....	22
Tabla 11. Actividad antioxidante de extracto de maracuyá	29
Tabla 12. Matriz de diseño del experimento	42
Tabla 13. Características fisicoquímicas del maracuyá y granada.....	44
Tabla 14. Composición fisicoquímica de la bebida refrescante.....	45
<i>Tabla 15. Cuantificación de actividad antioxidante para los diferentes tratamientos.</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 16. Análisis de Varianza para la Actividad Antioxidante de la bebida refrescante.....</i>	<i>48</i>
Tabla 17. Cuantificación de Polifenoles totales para cada tratamiento.....	52
<i>Tabla 18. Análisis de Varianza para los Polifenoles totales contenidos en la bebida refrescante</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 19. Análisis de varianza para color de la bebida refrescante.....</i>	<i>56</i>
Tabla 20. Análisis de varianza para olor de la bebida refrescante	58
<i>Tabla 21. Análisis de varianza para sabor de la bebida refrescante edulcorada.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabla 22. Análisis de varianza para aceptación de la bebida refrescante</i>	<i>61</i>
<i>Tabla 23. Datos para elaborar la curva patrón para Vitamina C</i>	<i>91</i>
<i>Tabla 24. Datos de curva de calibrado para Polifenoles totales</i>	<i>92</i>
<i>Tabla 25. Datos de curva de calibración para Actividad antioxidante</i>	<i>93</i>

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1. Reacción ocurrida durante el ensayo FRAP.....	26
Figura 2. Reacción del ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.	27
Figura 3. Oxidación de un fenol por un radical libre formando estructuras estables.	30
Figura 4. DPPH · reacción de decoloración radical en presencia del antioxidante (AO).....	32
Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de bebida refrescante edulcorada a base de granada y maracuyá.....	35
Figura 6. Diagrama de Pareto para Actividad Antioxidante de zumo de granada y maracuyá.	49
Figura 7. Gráfica de efectos principales para actividad antioxidante de zumo de granada y maracuyá.....	50
Figura 8. Gráfica de interacción para Actividad antioxidante de zumo de granada y maracuyá.....	50
Figura 9. Superficie de respuesta para la Actividad Antioxidante de zumo de granada y maracuyá.....	51
Figura 10. Diagrama de Pareto estandarizado para polifenoles contenidos en zumos de granada y maracuyá.	53
Figura 11. Gráfica de efectos principales para Polifenoles totales contenidos en zumos de granada y maracuyá.	54
Figura 12. Gráfica de efectos principales para polifenoles totales de zumo de granada y maracuyá.....	54
Figura 13. Superficie de respuesta para Polifenoles totales contenidos en zumos de granada y maracuyá.....	55
Figura 14. Gráfico de medias del atributo Color contenido en zumos de granada y maracuyá.	57
Figura 15. Gráfico de medias del atributo Olor de los zumos de granada y maracuyá.....	58
Figura 16. Gráfico de medias del atributo Sabor de los zumos de granada y maracuyá.....	60
Figura 17. Gráfico de medias del atributo de aceptación de los zumos de granada y maracuyá.	61
Figura 18. Determinación de solidos solubles (°BRIX).....	76
Figura 19. Determinación de pH.....	76
Figura 20. Determinación de densidad.....	77
Figura 21. Determinación de Acidez titulable.	77
Figura 22. Preparación de ácido oxálico.....	79
Figura 23. Preparación de blancos y muestras.....	79
Figura 24. Lectura de absorbancia en espectrofotómetro.....	79
Figura 25. Preparando el área de trabajo.....	82
Figura 26. Preparación de reactivos.....	82
Figura 27. Preparación de la curva patrón.....	82
Figura 28. Lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 726nm.....	83
Figura 29. Preparación de reactivos.....	88
Figura 30. Preparación de la curva patrón.....	88
Figura 31. Centrifugando las muestras.....	88

<i>Figura 32. Sonificando las muestras en el Ultrasonido.....</i>	89
<i>Figura 33. Lectura de absorbancia a 517nm.....</i>	89
<i>Figura 34. Curva de calibración para Vitamina C.....</i>	91
<i>Figura 35. Curva de calibración para Actividad antioxidante.....</i>	93

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como propósito la elaboración y evaluación de una bebida refrescante a base de granada (*Punica granatum*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) edulcorado con estevia. En la primera etapa se realizó la caracterización fisicoquímica de la materia prima (maracuyá y granada), obteniendo valores para el maracuyá de: 82.7% de humedad, 0.7% de cenizas, 3.6% de acidez, 3.21 de pH, 13.2 de °Brix y 25.3mg/100g de vitamina C. Para el caso de la granada fue: 77.8% de humedad, 0.5% de cenizas, 2.65% de acidez, 3.49 de pH, 16.2 de °Brix y 4mg/100 g de vitamina C. En la segunda etapa se realizó un flujograma, donde las operaciones comprendidas en el procesamiento de elaboración de la bebida refrescante fueron: recepción; pesado y selección; lavado y desinfección; pelado y cortado; extracción; formulación; homogenización; filtración; pasteurización; envasado/sellado; enfriamiento y almacenamiento.

Luego del proceso de elaboración de la bebida refrescante se hizo un análisis fisicoquímico de los 10 tratamientos, se determinó pH con valores de 3.46 y 3.98, acidez de 0.07% y 1.97%, y densidad con valores de 1.000g/ml y 1.073 g/ml. Posteriormente se realizó el análisis de Actividad antioxidante para los 10 tratamientos, obteniendo valores de 188.15 $\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$ y 8952.49 $\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$, asimismo se realizó la determinación de Polifenoles totales para los 10 tratamientos obteniendo valores de 1.292 mg A.G/100ml y 49.334 mg A.G/100ml, y una determinación de Vitamina C para los 10 tratamientos obteniendo valores de 0.0214 mg/100ml y 14.0892 mg/100ml.

Se realizó la determinación de parámetros sensoriales como atributos (olor, color, sabor y aceptación general), empleando 30 panelistas con una ficha de evaluación sensorial, de la cual se obtuvo que el tratamiento 9 fue la bebida de mejor aceptación por los panelistas.

La mejor formulación de la bebida refrescante y de mayor preferencia fue el T9 (12.5% zumo de granada y 12.5% zumo de maracuyá); 0,04% de sorbato de potasio y 500mg de estevia. Los resultados de la mejor formulación fueron de actividad antioxidante de $8952.49 \pm 115.110 \mu\text{mol ET}/100\text{ml}$ y polifenoles totales con valores de $49.334\text{mg} \pm 0.01 \text{ mg A.G}/100\text{ml}$, además se obtuvo: 1,073 g/cm³ de densidad; 1,97% de acidez; 3,5 de pH; 6,5°Brix y $14.0892 \pm 0.39 \text{ mg}/100 \text{ g}$ de vitamina C.

Palabra clave: Bebida refrescante, actividad antioxidante, polifenoles totales.

ABSTRAC

The purpose of this research work was the elaboration and evaluation of a refreshing beverage based on pomegranate (*Punica granatum*) and passion fruit (*Passiflora edulis*) sweetened with stevia. In the first stage, the physicochemical characterization of the raw material (passion fruit and pomegranate) was carried out, obtaining values for passion fruit of: 82.7% moisture, 0.7% ash, 3.6% acidity, 3.21 pH, 13.2 °Brix and 25.3mg/100g of vitamin C. In the case of pomegranate it was: 77.8% moisture, 0.5% ash, 2.65% acidity, 3.49 pH, 16.2 °Brix and 4mg/100 g vitamin C. In the second stage, a flow chart was made, where the operations involved in the processing of the soft drink were: reception; weighing and selection; washing and disinfection; peeling and cutting; extraction; formulation; homogenization; filtration; pasteurization; packaging/sealing; cooling and storage.

After the process of elaboration of the soft drink, a physicochemical analysis of the 10 treatments was made, determining pH with values of 3.46 and 3.98, acidity of 0.07% and 1.97%, and density with values of 1.000g/ml and 1.073 g/ml. Subsequently, the analysis of antioxidant activity was carried out for the 10 treatments, obtaining values of 188.15 $\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$ and 8952.49 $\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$, as well as the determination of total polyphenols for the 10 treatments, obtaining values of 1.292 mg A.G/100ml and 49.334 mg A.G/100ml, and a determination of Vitamin C for the 10 treatments, obtaining values of 0.0214 mg/100ml and 14.0892 mg/100ml.

The determination of sensory parameters such as attributes (odor, color, flavor and general acceptance) was carried out, using 30 panelists with a sensory evaluation card, from which it was obtained that treatment 9 was the beverage with the best acceptance by the panelists.

The best and most preferred soft drink formulation was 12.5% pomegranate juice and 12.5% passion fruit juice and juice: 1:1 water, 0.04% potassium sorbate and 500mg stevia. The results of the best formulation were: antioxidant activity of $8952.49 \pm 115.110 \mu\text{mol ET}/100\text{ml}$ and total polyphenols with values of $49.334\text{mg} \pm 0.01 \text{ mg A.G}/100\text{ml}$, also obtained: 1.073 g/cm³ density; 1.97% acidity; 3.5 pH; 6.5°Brix and $14.0892 \pm 0.39 \text{ mg}/100\text{g}$ of vitamin C.

Keyword: refreshing beverage, antiodixant activity, total polyphenols.

I. INTRODUCCIÓN

El sector de bebidas ha visto en los últimos tiempos un tremendo desarrollo de nuevos productos. Varias de las nuevas innovaciones contienen versiones ligeras de bebidas bajas en calorías y carbohidratos y un incremento en la variedad de bebidas que se utilizan. Los sabores más exóticos (p. ej., naranja, maracuyá y granada) se han vuelto comunes en las mezclas de bebidas.

Actualmente, nuevos batidos de frutas están ingresando al mercado como un complemento saludable y nutritivo o una alternativa a los bocadillos. La fortificación con vitaminas y minerales también se utiliza para atraer a consumidores con problemas de salud específicos. Las bebidas de esta línea de productos están dirigidos a personas de diversas edades. Los jugos de maracuyá para la salud del corazón y algunas variedades con antioxidantes para aumentar la inmunidad son algunos de los nuevos ejemplos de productos que llegan al mercado.

La fruta es un ingrediente de una bebida, este aporta la experiencia refrescante y espesa del líquido, además contribuye con las características funcionales y nutricionales de la bebida; estos atributos de refrescante y espeso son buenos ejemplos de las características de los alimentos que deben estandarizarse para ayudar a la automatización del producto. El 28% de la población ha sustituido el azúcar común por edulcorantes no calóricos para controlar la obesidad y la diabetes mellitus. Los edulcorantes pueden ser de origen natural (estevia) o sintético (aspartamo, acesulfamo, ciclamato de sodio, sucralosa). Las hojas de estevia contienen glucósidos de esteviol, incluidos esteviósido, rebaudiósido (A a F), esteviolbiósido e isosteviol, que son responsables del sabor dulce de la planta y tienen valor comercial en todo el mundo como sustituto del azúcar en alimentos, bebidas y medicamentos.

La demanda de los consumidores por un producto seguro, natural y fresco, como la bebida de frutas, ha ido en aumento como consecuencia de la investigación por una vida más saludable. Muchas sustancias en las frutas, especialmente frutas como la vitamina C, la vitamina E, el betacaroteno y los compuestos fenólicos son excelentes antioxidantes que pueden estabilizar los radicales libres. La importancia de estos antioxidantes para mantener la salud y prevenir enfermedades patológicas graves, incluidos diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurológicas y trastornos relacionados con el envejecimiento, ha sido descrita por varios trabajadores.

Entre las principales clases de antioxidantes naturales en frutas y bebidas se encuentran los compuestos polifenólicos. Así, en las últimas tendencias, los consumidores buscan bebidas que ayuden a mejorar su estado de salud debido al aumento en el índice de enfermedades y dolencias, por lo que la mayoría de las bebidas de frutas en el mercado tienen un valor adicional de beneficios para la salud. Por lo tanto, en la ola actual de preocupación por las bebidas de frutas naturales, se está poniendo un esfuerzo considerable en las fuentes de fruta “verde”, que tiene una alta actividad antioxidante y con menos pardeamiento enzimático.

El diseño que se utilizó para el trabajo de investigación fue el diseño Factorial de 3 niveles: 3^2 el cual estudiará los efectos de 2 factores en 10 corridas. Se consideró como variables independientes a: a) la concentración de maracuyá y concentración de granada asimismo se evaluaron las variables respuestas: i) Análisis sensorial (sabor, olor, color y apariencia general), ii) determinación de actividad antioxidante y iii) determinación de polifenoles totales. Para este trabajo se utilizó el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XV, con la finalidad de determinar el efecto de las variables independientes sobre las dependientes, todo esto se comprobará con un análisis estadístico de la varianza (ANOVA), evaluar las variables respuestas con un nivel de significancia del 5% y confianza del 95%.

Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo general determinar la actividad antioxidante de las formulaciones de la bebida refrescante elaborada a base de granada (*Púnica granatum*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) edulcorada con estevia (*stevia rebaudiana* b.) y como objetivos específicos: determinar las características fisicoquímicas de la granada y maracuyá; determinar las características fisicoquímicas de las formulaciones de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia; determinar la calidad sensorial de las formulaciones de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia; determinar los polifenoles totales de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia; y determinar la actividad antioxidante de las formulaciones de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Granada (*Punica Granatum*)

2.1.1. Generalidades

La granada (*Punica granatum*), es comúnmente conocida como granada, es un árbol tropical cultivado por sus deliciosos frutos, propiedades medicinales, valor ornamental, etc. La fruta es originaria de Afganistán, Irán, China y el subcontinente indio, pero el cultivo de la granada se ha extendido por toda la región mediterránea, América Central y del Sur, es una fruta antigua ampliamente consumida en todo el mundo y hoy en día se cultiva y se consume como fruta fresca, jugo, mermelada, infusión, también se utiliza ampliamente en fórmulas terapéuticas, cosméticos y condimentos alimentario (Gosset-Erard et al., 2021).

Si bien la planta de la granada se considera un árbol pequeño o un arbusto grande, a menudo se piensa que su fruto es una baya grande. El fruto se puede dividir en tres partes anatómicas principales: los arilos, sacos translúcidos que contienen jugo que rodean las semillas, el mesocarpio, el tejido blanco al que se adhieren los arilos dentro del fruto, y el exocarpio o pericarpio, la capa fibrosa externa. de la fruta. Las partes comestibles de la granada (llamadas arilos) constituyen el 50% del peso de la fruta aproximadamente y están compuestas por un 76–85% de jugo y un 15–24% de semillas (Varasteh, et al., 2012).

El mercado de la granada ha crecido constantemente, presumiblemente debido a la creciente demanda de los consumidores preocupados por la salud de productos con posibles efectos beneficiosos para la salud humana. Este creciente interés en las propiedades promotoras de la salud de la granada está plenamente justificado por los hallazgos más recientes, según los cuales la fruta puede ser un agente útil para la prevención y el tratamiento de una amplia gama de trastornos y enfermedades humanas, incluidas las enfermedades infecciosas y cardiovasculares, la diabetes y cáncer (Brighenti et al., 2017).

La granada (*Punica granatum*) es muy famosa por su alto contenido de compuestos polifenólicos y por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, el jugo de la granada se utiliza en cosméticos y alimentos por su conocida actividad antioxidante. La demanda mundial de sus productos procesados se ha disparado en los últimos años, lo que ha provocado la expansión de la industria en todo el mundo; los consumidores de todo el mundo consideran el sabor agradable y los importantes beneficios terapéuticos y para la salud; la granada es una de las frutas ricas en compuestos fenólicos ganando popularidad en las últimas tres décadas, debido a sus propiedades saludables (Gosset-Erard et al., 2021).

La granada (*Punica granatum*) es un árbol de 6 o 10 m de altura, las ramas del árbol se caracterizan por ser espinosas y duras. Las flores son hermosas, el fruto mide entre 6,25 y 12,5 cm. de diámetro, su cascara es dura, su corteza es amarillenta, el fruto es rojo ovalado de color rosa claro o intenso (Ampex, 2006).

Clasificación taxonómica de la granada (*Punica granatum*):

Tabla 1. Taxonomía de la granada

CLASIFICACION TAXONOMICA	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Myrtales
Familia	Lythraceae
Subfamilia	Punicoideae
Género	Púnica
Especies	<i>Punica granatum</i>

Fuente: Minagri, 2019

2.1.2. Variedades

Las variedades más conocidas comercialmente en el mundo son las siguientes (MINAGRI, 2019):

- a) **Wonderful:** Es una de las variedades más comerciales en el mundo con gran aceptación en países desarrollados en cultivo. Es un fruto fuera de lo normal de gran tamaño, tiene un sabor bien agradable, su pulpa es de color roja, es jugosa de sabor fuerte. Esta variedad se le considera como tardía, ya que inicia a dar frutos desde septiembre, pudiendo alcanzar un rendimiento de 40 Toneladas/ Hectárea.

- b) **Granada:** Es una variedad de maduración muy temprana, corresponde a una transformación de la 'Wonderful', aunque su tamaño es más pequeño que de la variedad 'Wonderful' y obtiene buenos precios en los mercados ya que su maduración es más prematura que la Wonderful (aproximadamente 1 mes antes).

- c) **Mollar de Elche:** Es un árbol fornido de crecimiento temprano, su fruto es de gran tamaño, grano grueso, rojizo oscuro, blandas y pocas semillas. La maduración del fruto comienza desde octubre y su producción se alarga hasta enero y muchas veces hasta febrero.

- d) **Mollar valenciana:** Es un árbol fornido, con frutos de gran tamaño, es de forma redonda y plana, granado de buen grosor con pocas semillas. Se identifica por ser de recaudación temprana debido a su cosecha temprana, su fruta es de menor calidad.

- e) **116:** Es un árbol de media estación, el fruto tiene cáscara no tan gruesa y de color rojizo sombrío, es muy resistente y homogénea que surge prematuramente en su proceso. Sus semillas son medianamente suaves, roja y agrídulce.

- f) **Emek:** La cáscara es rosada oscura en forma homogénea y medianamente gruesa. Las semillas tienen una dureza mediana y dulce. Sus arilos son de color rojo.

- g) **Acco:** La cáscara se caracteriza por ser delgada que varía de rojo a rosado de manera uniforme y medianamente gruesa. Sus semillas son suaves y dulces, no ácidas y arilos de color rojo.

- h) **Shani:** Es de cáscara delgada, con un color que varía de rojo a rosado de manera uniforme. Las características son similares a la variedad Acco, sus semillas son suaves, dulce, no ácidas y los arilos son rojo oscuro.

- i) **Parfianka:** Es una variedad de fruto dulce que va de tamaño medio a grande, corteza de color rojo, arilos rojo opaco y semillas blandas. Su cosecha inicia desde la última semana del mes de octubre.

- j) **Dholka:** Es un fruto de gran tamaño, de piel amarillo rojizo con partes rosado oscuro y en la base color púrpura; tiene piel delgadita, pulposa, es dulce y sus semillas son de color blanco y duras.

2.1.3. Composición química

La granada (*Punica granatum*) es una fruta comestible con un valioso contenido de moléculas bioactivas. La fruta es una rica fuente de fenólicos, taninos hidrolizables, antocianinas, flavonoides y micronutrientes esenciales como la vitamina C. La granada es muy rica en minerales, en potasio, en fósforo, manganeso, calcio, hierro y magnesio, vitaminas C, B1 y B2, y en antioxidantes, este compuesto se encuentra un 70% en la cáscara y membranas de la granada (Chiroque et al., 2019). Se presenta la siguiente tabla de composición química de la granada:

Tabla 2. Composición nutricional de la granada

	USDA, (2015)	Hernández. (2017)	Infoagro, (2010)
Nutriente	Valor por 100 gramos	Valor por 100 gramos	Valor por 100 gramos
PROXIMAL			
Agua	77,93 g	78 g	63-78 g
Energía	83,167 kcal	83,00 kcal	72,6-86,4 kcal
Proteína	1,17 g	1.7 g	0,05-1,6 g
Lípidos totales	18,7 g	1.2 g	-
Fibra	4 g	4 g	3,4-5,0 g
Azúcares totales	13,67 g	14.0 g	18,8-21,2g
MINERAL			
Calcio	10 mg	60,3 mg/L	3-12 mg
Hierro	0.3 mg	1,0 mg/L	0,3-1,2 mg
Magnesio	12 mg	35,2 mg/L	-
Fósforo	36 mg	-	8-37 mg
Potasio	236 mg	708 mg/L	259 mg
Sodio	3 mg	0,3 mg/L	3 mg
Zinc	0.35 mg	0 mg/L	-
Manganeso	-	0,3 mg/L	-
Cobre	-	0,0 mg/L	-
VITAMINAS			
Tiamina	10,2 mg	-	0,003 mg
Riboflavina	0,067 mg	-	0,012-0,03 mg
Niacina	0,053 mg	-	0,180-0,3 mg
Vitamina B6	0,075 mg	-	-
Folato total	38 mg	-	-
Vitamina E	0,6 mg	-	-
Vitamina K	16,4 mg	-	-
Ácido cítrico	-	-	4-4,2 mg
Ácido ascórbico	-	-	0,46-3,6 mg
Ácido bórico	-	-	0,005 mg
LIPIDOS			
Ácidos grasos saturados	0,120 g	-	-
Ácidos grasos monoinsaturados	0,093 g	-	-
Ácidos grasos poliinsaturados	0,079 g	-	-
Grasas trans	0,000 g	-	-
Colesterol	0 mg	-	-

Fuente: USDA,2015; Hernández,2017; Infoagro,2010.

Tabla 3. Composición de antioxidantes en diversos genotipos

Genotipo	Polifenoles Totales (PT)	Actividad Antioxidante (Valores ORAC)	Antocianinas Totales (AT)	TP/TA
	mg galic acid L-1	mmol Trolox L-1	mg cyanidin-3- glucoside L-1	
PG2	1236	24,4	984	1,25
PG3	1055	21,2	749	1,4
PG4	1215	22,7	1328	0,91
PG5	1280	23,3	915	1,39
PG6	1195	22,1	588	2,03
PG7	720	12,7	168	4,28
PG8	1075	16,8	219	4,91
PG9	676	13,1	204	3,31

Fuente: Begoña et al.,2010.

Por consiguiente, la cantidad de componentes bioactivos del zumo de la granada, varía dependiendo de manejos de culturas, componentes genéticos e índice de madurez de la fruta.

2.1.4. Componentes funcionales de la granada

- Antocianinas

Las antocianinas son compuestos flavonoides que pueden disolverse en el agua y producen colores que van desde el naranja y el rojo hasta varios tonos de azul y violeta, y tienen un papel fundamental en la calidad del color de muchas frutas, verduras y plantas frescas y procesadas; además de sus propiedades colorantes, se ha descubierto que las antocianinas exhiben una amplia gama de propiedades biológicas, farmacológicas, antiinflamatorias, antioxidantes y quimioprotectoras (Varasteh, et al., 2012). El consumo humano de antocianinas está aumentando debido a la creciente conciencia e interés en sus posibles beneficios para la salud (Jaiswal et al., 2010).

La granada es una de las principales fuentes de antocianinas. Hay muchos componentes que influyen en la estabilización de las

antocianinas. Su estructura puede estar afectada en cualquier fase de un procesamiento tecnológico, como el caso del procesamiento de extraer las antocianinas de una materia vegetal, durante un procesamiento térmico o al almacenar un producto que los contiene. Varios efectos que promueven la salud, como la prevención y el retraso de enfermedades como el cáncer, la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares, se han relacionado con el consumo de jugo de granada (Kazemi et al., 2016). Estos efectos están relacionados con la presencia de diversos fitoquímicos, siendo los más importantes el ácido elágico, elagitaninos, taninos y antocianinas (delfinidina, cianidina y pelargonidina). La persistencia de la degradación del color y el predominio del color pardusco en el jugo de granada envasado siempre han sido un gran desafío para la industria. La disminución del atractivo color rojo del jugo procede de la degradación de las antocianinas monoméricas durante el procesamiento y almacenamiento, seguida de la polimerización y la formación de pigmentos marrones. La cinética de la degradación de la antocianina depende de las características inherentes y la estructura química de la antocianina, así como de las condiciones de procesamiento y almacenamiento, como la concentración y la estructura química de la antocianina, la temperatura, el oxígeno, la luz, el pH, la presencia de enzimas oxidativas (p. Ej., Polifenol oxidasa y glucosidasa), metales iónicos y azúcares (Navruz et al., 2016). La copigmentación, como método eficaz y razonable para estabilizar las antocianinas, es la cooperación entre las antocianinas y los copigmentos. Se ha demostrado que numerosos compuestos fenólicos, como ácido gálico, ácido elágico, ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, ácido cafeico, quercetina y rutina, son buenos copigmentos. El retraso en los cambios de color durante la vida útil de los jugos de frutas ricos en antocianinas también se ha informado como el desempeño efectivo de los copigmentos mencionados anteriormente. A pesar de los resultados favorables reportados, los compuestos fenólicos puros en la industria no se han anunciado como aplicables debido a su bajo acceso y falta de justificación económica. En consecuencia, la industria se ha centrado en

compuestos fenólicos más económicamente disponibles a través de nuevos enfoques (Kalantari et al., 2021).

- **Ácidos grasos del aceite de la semilla de granada**

La fruta de la granada se puede dividir en: piel exterior, piel interior (recubrimiento) y arilos (pulpa y semillas). Los arilos generalmente se consumen fresco, producción de jugos, mermeladas, jaleas, y también para desarrollar extractos que se utilizarán como ingredientes en preparaciones de plantas medicinales y dietas suplementarias (Goula y Adamopoulos, 2012). Las semillas pueden representar hasta aproximadamente el 20% del peso total de la fruta, variando entre el 9,3% y el 57,5%; dependiendo de la variedad, ubicación geográfica, condiciones de cultivo, estado de madurez, etc. (Habibnia et al., 2012) Las semillas de granada tienen propiedades antioxidantes y están compuestas principalmente de fibra y lípidos con un contenido de aceite que varía del 12% al 20%; diversos estudios demostraron que los aceites de semillas de granada son una gran fuente de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente ácido linoleico y punícico (Liu et al., 2012). Por estas características, se debe fomentar la operación de extraer aceite de semillas de granada, con potencial como fuente de nutrientes y antioxidantes beneficiosos para la salud humana, reduciendo el riesgo de poseer enfermedades cardiovasculares y cáncer, aliviando los síntomas de la menopausia, mejorando la función inmunológica y previniendo trastornos genéticos entre otros. Se han utilizado diversas técnicas cromatográficas en la caracterización del aceite de semilla de granada. Los tocoferoles se han determinado mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección de matriz de fotodiodos o cromatografía de gases (GC) - espectrometría de masas (MS). Los carotenoides se han detectado provisionalmente mediante HPLC-PDA (Fernandes et al., 2015).

- **Taninos**

Los taninos son una clase de biomoléculas polifenólicas astringentes que consisten en la unión y la precipitación de proteínas y de otros

componentes orgánicos, incluyendo los aminoácidos y alcaloides; los taninos se distribuyen ampliamente en verduras y frutas. El interés por los taninos ha aumentado considerablemente debido a sus beneficios esenciales para la salud; estos son microconstituyentes liposolubles localizados en orgánulos llamados cromoplastos con funciones importantes, propiedades antioxidantes y efectos fisiológicos, como acelerar la coagulación sanguínea, reducir la presión arterial, disminuir los lípidos séricos, producen necrosis hepática y modulan las inmuno respuestas. Por ello, el creciente interés por los taninos ha incrementado la búsqueda de nuevas fuentes naturales, incluidas muchas verduras y frutas silvestres infrautilizadas que pueden servir como sumideros biológicos de fitoquímicos con propiedades nutricionales y beneficios para la salud. En este contexto, muchas frutas tropicales pueden ser consideradas reservorios de sustancias bioactivas de particular interés por sus posibles características promotoras de la salud (Khodabakhshian, 2019).

La granada (*Punica granatum*) es una de las frutas más productivas en regiones tropicales y subtropicales como Irán, Afganistán, India, países mediterráneos (Marruecos, España, Turquía, Túnez y Egipto) y países de Oriente Medio; los frutos de la granada tienen un alto contenido en taninos, carotenoides, fenólicos, glucósidos flavonoides, flavonas, flavonoles, flavoxantina en la fruta (Hmid et al., 2017).

- **Compuestos fenólicos**

Los componentes fenólicos son una especie de fitoquímicos bioactivos, se concentran principalmente en la parte de la cáscara de la granada; los principales compuestos fenólicos reportados en la literatura incluyen flavonoides (antocianinas como pelargonidina, delphinidina, cianidina junto con sus derivados y antoxantinas como catequina, epicatequina y quercetina), taninos (elagitaninos y derivados del ácido elágico como punicalagina, punicalina y pedunculagina) y ácidos fenólicos (tales como ácido clorogénico, cafeico, sirínico, sinápico, p-cumárico, ferúlico, elágico, gálico y cinámico). Los compuestos fenólicos son más estudiados debido a su asociación con varios efectos positivos sobre la

salud y la prevención de enfermedades; estos se encuentran en altas concentraciones en varias frutas como manzanas, uvas y granadas. Los compuestos fenólicos de la granada (*Punica granatum*), como fuentes de antioxidantes naturales presentes en él han atraído la atención de muchos investigadores y profesionales de la medicina (Singh et al., 2018).

- **Vitamina C**

La vitamina C, también conocida como ácido ascórbico, juega un papel importante en el tejido vegetal debido a su importante actividad antioxidante. La vitamina C se considera ampliamente como el antioxidante soluble en agua más importante. Se ha relacionado con más del 65% de la actividad antioxidante y antirradical en muchas frutas y sus bebidas. Por otro lado, se sabe que la vitamina C elimina y minimiza directamente el daño de los radicales libres como el radical hidroxilo, el superóxido, el oxígeno singlete y el peróxido de hidrógeno (Mditshwa et al.,2017).

La vitamina C es muy termolábil , por lo que es muy sensible a la oxidación química y enzimática. La concentración de vitamina C tanto en frutas como en bebidas se considera un factor de calidad, por lo tanto, es muy vital monitorear durante el procesamiento y almacenamiento. El contenido de vitamina C está influenciado por varios factoresposcosecha , incluidas las condiciones de almacenamiento y el estrés poscosecha, como trastornos fisiológicos y daños mecánicos (Mditshwaet al.,2017).

La parte comestible de la granada contiene por porción de 100 g una cantidad considerable de azúcares (13,67 g), vitaminas (vitamina C: 10,2 mg). El contenido de vitamina C, como la vitamina más abundante en el jugo de granada oscila entre 7,67 mg / 100 ml. (Topalović et al.,2020).

- **Polifenoles**

Los polifenoles se encuentran en todas las frutas y verduras y juegan un papel importante en su color, sabor, textura, además de antioxidantes y actividades antibacterianas (Turfan et al., 2011). Los polifenoles son la

clase principal de fitoquímicos de la fruta de la granada, incluidos los flavonoides (antocianinas), los taninos condensados (proantocianidinas) y los taninos hidrolizables (elagitaninos y galotaninos). (Jaiswal et al., 2010).

Los compuestos fenólicos de la Granada (*Punica granatum*) pueden prevenir enfermedades neurodegenerativas inducidas por estrés oxidativo. El consumo de granada (*Punica granatum*) se ha asociado con la prevención y el tratamiento de diversas enfermedades (Akpınar-Bayızit et al., 2012), debido a que las granadas contienen diferentes tipos de componentes biofuncionales. Entre ellos, los más destacados son los compuestos fenólicos debido a su potencial para prevenir el daño oxidativo, la granada inhibe indirectamente los procesos oxidativos (Li et al., 2017).

- **Actividad Antioxidante**

La actividad antioxidante de una fruta o verdura puede deberse a la presencia de compuestos polifenólicos; en los últimos años, el estudio sobre los antioxidantes naturales, ha aumentado enormemente. Los estudios epidemiológicos indican que una cantidad considerablemente de antioxidantes naturales en la dieta humana puede protegernos contra diversas enfermedades potencialmente mortales, como la hepatitis y el envejecimiento, el cáncer; los antioxidantes pueden ayudar a prevenir los componentes celulares contra el daño oxidativo causado por las especies de radicales libres. La actividad antioxidante es la más comúnmente determinada entre las diferentes actividades biológicas potenciales de los extractos de plantas. Recientemente se han revisado varios estudios sobre la capacidad antioxidante de los extractos de frutas, los resultados mostraron que algunos extractos de frutas de piña, mango, papaya, manzana, granada y otros exhibieron un alto nivel de poder antioxidante (Zeghad et al., 2019).

2.2. Maracuyá (*Passiflora edulis*)

2.2.1. Generalidades

El maracuyá (*Passiflora edulis*) es conocida por su atractivo jugo, debido a un sabor exótico único, esta fruta se cultivó originalmente de forma silvestre solo en Brasil y últimamente se trasplantó en la mayoría de los países tropicales y subtropicales del mundo (por ejemplo, Australia, India, Kenia (África Oriental), Nueva Zelanda, etc.) (Calitri et al., 2020).

La maracuyá (*Passiflora edulis*) tiene un valor económico importante como ingrediente exótico en las mezclas de jugos. La familia Passifloraceae de Malpighiales consta de ~ 700 especies de enredaderas, arbustos y árboles herbáceos o leñosos, que se clasifican en 16 géneros, y casi todos sus miembros pertenecen al género grande y variable *Passiflora*. El género ha atraído una atención considerable debido a su valor económico, amplia distribución geográfica y notable diversidad de especies. El principal valor económico radica en la producción de jugo de maracuyá, un ingrediente exótico esencial en las mezclas de jugos. La creciente demanda de maracuyá en todo el mundo requiere condiciones de crecimiento optimizadas (Yan et al., 2021).

La maracuyá (*Passiflora edulis*) se compone de un 40% de pulpa comestible y un 60% de cascara, esta fruta es rica en vitamina C, carotenoides totales, fibras solubles en agua, etc. La composición química de la maracuyá (*Passiflora edulis*) presenta alcaloides, flavonoides, saponinas y principalmente polifenoles. Un gran número de estudios ha demostrado recientemente que los polifenoles tienen propiedades antioxidantes y pueden desempeñar un papel esencial para prevenir varios procesos fisiopatológicos asociados con el estrés oxidativo. Los polifenoles pueden actuar como antioxidantes eliminando especies reactivas de oxígeno. La cáscara de maracuyá, el principal subproducto de la industria de los jugos, contiene pectina, un ingrediente alimentario funcional muy apreciado y ampliamente utilizado como agente gelificante y estabilizador. (Chandrasekhar et al., 2019).

Tabla 4. Clasificación taxonómica del maracuyá

JERARQUIA	DESCRIPCION
División	Espermatofita
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Arquiclamídea
Orden	Passiflorales
Suborden	Flacourtiinae
Familia	Passifloraceae
Género	Passiflora
Serie	Incarnatae
Especie	edulis
Variedad	Purpúrea y flavicarpa

Fuente: Valarezo et al., 2014

2.2.2. Composición fisicoquímica

El fruto del maracuyá está compuesto por cáscara (50-60%), zumo (30-40%) y semilla (10-15%), siendo la cáscara de maracuyá la mayor parte de su composición y el jugo el producto de mayor importancia. La concentración de ácido ascórbico en maracuyá varía de 17 a 35 mg/100g de fruto para el maracuyá rojo y entre 10 y 14 mg/100g de fruto para el maracuyá amarillo. La coloración amarillo-anaranjada del jugo se debe a la presencia de un pigmento llamado caroteno ofreciendo al organismo que lo ingiere una buena cantidad de vitamina A y C. Por su alto valor nutritivo y contenidos de flavonoides, son muy importantes las investigaciones para evaluar el potencial del maracuyá como alimento funcional o fuente de compuestos activos con fines antioxidantes o antiinflamatorios. (Castro et al., 2010).

Tabla 5. Composición Fisicoquímica del maracuyá

PARÁMETRO	(López, 2016)	(López, 2010)	(Jiménez, 2010)	(Orejuela, 2011)
pH	2.8 - 3.3		2.6 - 2.7	3-4
Acidez (%)	2.9 - 5%	4.3 - 5.2	2.5 - 4.7	2.5 -5
° Brix	12.5 -18	11.5 - 16.3	13.5 - 17.4	10_14
Humedad			82.1 - 85.3	

Fuente: López, 2016; López, 2010; Jiménez,2010; Orejuela,2011.

Tabla 6. Composición Química del maracuyá

Componentes	Valarezo et al., (2014)	Jiménez, (2010)
Energía [Kcal]	54,00	51,00
Proteína [g]	2,38	0,39
Hidratos de carbono [g]	9,54	13,69
Fibra [g]	1,45	0,20
Grasa total [g]	0,40	0,05
AGS [g]	0,10	-
AGM [g]	0,10	-
AGP [g]	0,10	-
AGP/AGS	1,00	-
(Agp+AGM)/AGS	2,00	-
Colesterol [mg]	0,00	-
Alcohol [g]	0,00	-
Agua [g]	86,20	85,62

Fuente: Valarezo et al. 2014; Jiménez, 2010

2.2.3. Composición Nutricional

El maracuyá es muy rico en proteínas, minerales, vitaminas (A, B2 y C), carbohidratos y grasa, este fruto es comestible como fruto fresco, o en refresco. Se emplea para elaborar bebidas, néctar, mermeladas, helados, pudines, conservas, etc. (Castro et. al., 2010).

El maracuyá se caracteriza como fuente nutricional para el organismo ya que aporta 78 calorías de energía, 2.4 gramos de carbohidratos, 5mg de Ca., 17 mg de fósforo, que ayuda en el crecimiento y desarrollo de huesos y dientes las cuales influyen en la metabolización de energía, 0.3mg de hierro, 20 mg de vitamina C y 384mg de vitamina A, la cual es fundamental para mejorar la vista, la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para la correcta función del sistema inmunológico. (Guzmán, 2014).

Tabla 7. Compuesto nutricional de 100 g de maracuyá

Composición	Jugo	Pulpa	Semillas
Agua		90 g	20.50 g
Carbohidratos	13.73 g	2.40 g	0.44 g
Calorías	53 cal	78 g	
Proteínas	0.67 g	2.2 g	10-2 g
Grasa	0.05 g	0.6 g	2.5 x 10-2g
Fibra	0.17 g	0.40 g	
Ceniza	0.49 g	Trazas	1.70 x 10-3 g
Calcio	3.80 x 10-3 g	1.30 x 10-2 g	
Fósforo	2.46 x 10-2 g	6.40 x 10-2 g	
Hierro	4 x 10-4 g	1.60 x 10-3 g	
Vitamina A	2.41 g	2.41 g	
Niacina	2.20 x 10-3 g	2.20 x 10-3 g	
Ácido ascórbico	2 x 10-2 g		

Fuente: Choque, 2016.

2.2.4. Variedades

El maracuyá pertenece a la familia de las Passifloras, donde se conocen más de 400 variedades. Las variedades más cultivadas corresponden a la

especie *Passiflora edulis* variedad Flavicarpa y sus frutos son de cáscara amarilla; esta variedad se cultiva hasta los 1000 m.s.n.m y la *Passiflora edulis* variedad Purpúrea, esta variedad tiene los frutos de color púrpura y se cultiva mejor por encima de los 1000 m.s.n.m. Actualmente en nuestro país se cultiva el maracuyá más comercial correspondiente a la especie *Passiflora edulis* variedad Flavicarpa (Castro et. al., 2010).

2.2.5. Propiedades antioxidantes

En la actualidad los antioxidantes son bien conocidos por los diferentes beneficios a la salud, por la reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares y del cáncer, ya que combate el daño celular producido por los radicales libres, los cuales son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y estos producen la oxidación de sus diferentes partes, y las alteraciones en el ADN y los cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo (Echavarría & Matute, 2017). El nivel de compuestos fenólicos y antioxidantes presentes en la maracuyá (*Passiflora edulis*) es mayor que los encontrados en otras frutas tropicales. Los compuestos fenólicos son los antioxidantes más abundantes en la naturaleza, actuando sobre los radicales libres a través del mecanismo de donación de hidrógeno y / o transferencia de electrones. La ubicación y la cantidad de hidroxilos presentes en los compuestos fenólicos influyen directamente en su desempeño como antioxidantes (Ribeiro, 2020).

2.2.6. Contenido de Vitamina C

La fruta de la pasión se encuentra entre los alimentos saludables que son beneficiosos para los ojos, ya que contienen una gran cantidad de antioxidantes como vitamina A, vitamina C y flavonoides. La vitamina C es particularmente conocido por aliviar el resfriado y la tos. La pérdida de vitamina C del cuerpo puede ser suministrada de frutas como la fruta del maracuyá. La fruta de la pasión contiene una gran cantidad de hierro, que es el 20% del valor diario requerido junto con vitamina C. La vitamina C es vital para la absorción de hierro en el cuerpo. Previene la pérdida de hierro y aumenta la hemoglobina en la sangre (Phamiwon & John, 2015).

2.2.7. Polifenoles totales y Actividad antioxidante del maracuyá

Tradicionalmente, las especies de *Passiflora* se han utilizado como sedantes y tranquilizantes, y en el tratamiento de enfermedades inflamatorias; además, estudios recientes han demostrado que *Passiflora* tiene propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antidiabéticas y efectos neuroprotectores; estos efectos beneficiosos se derivan de la presencia de compuestos bioactivos, incluidos compuestos fenólicos. Los fenoles son la clase más abundante de antioxidantes naturales que contiene la fruta y que protegen las células contra el estrés oxidativo; algunos compuestos fenólicos se han caracterizado en la *Passiflora* incluyendo piceatannol y ácidos cafeico, p- cumarico y ferúlico (Rotta et al., 2019).

La actividad biológica de la pulpa que más ha sido estudiada es su actividad antioxidante, utilizando diversos métodos, como DPPH, FRAP, ABTS y DMPD. Estos métodos exploran principalmente la actividad estequiométrica de los extractos al medir la capacidad de las moléculas polifenólicas para atrapar o neutralizar las especies de radicales generadas in vitro (Santacruz et. al., 2020).

Tabla 8. Determinación de polifenoles totales y actividad antioxidante

Maracuyá (<i>Passiflora edulis</i>)	Santacruz et al., 2020	Santacruz et al., 2020	Kuskoski et al., 2006
mg/100g	Semilla	Cáscara	Pulpa
Polifenoles totales	60,74± 19,97	39,72± 17,72	20,0 ± 2,6
Actividad antioxidante	6,02 ±1,92	2,46 ±0,82	8,36 ± 0,1

Fuente: Elaboración propia

2.3. Estevia (*Stevia rebaudiana*)

2.3.1. Aspectos generales

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pertenece a la familia de las Asteraceae y se ha cultivado a nivel mundial como un arbusto perenne. Es autóctono de América del Sur y luego se extendió como un cultivo industrial importante al resto del mundo, incluidos Pakistán, India, China, Estados Unidos, Japón, Corea, Indonesia, Brasil, Rusia, México y Canadá (Gupta et al., 2013). La estevia generalmente necesita una temperatura y una humedad relativa suaves (80%). La estevia se utiliza en todo el mundo desde la antigüedad como edulcorante natural con pocas calorías (Singh y Rao, 2005).

Esta planta es única debido a su extrema versatilidad para crecer como cultivo plurianual (en climas templados a cálidos) así como como cultivo anual (en regiones más frías). El extracto crudo de las hojas de estevia se usa ampliamente para sustituir el azúcar en las industrias de alimentos y bebidas. Esta planta puede crecer hasta 90 cm de altura y las hojas son pequeñas, variando de 3 a 5 cm de largo y de 1 a 1,5 cm de ancho. Presenta flores blancas con pétalos dispuestos en racimos terminales o axilares. La estevia tiene hojas de tamaño pequeño adheridas directamente al tallo (sésiles) con una forma oblanceolada y lanceolada. Se reconocen alrededor de 154 miembros del género *Stevia*, y *Stevia rebaudiana* Bertoni es una de las dos especies que producen glucósidos dulces. También denominada hoja de miel, hoja de caramelo u hoja dulce, había aproximadamente 40 compuestos de glucósidos identificados en las hojas. Dos componentes dulces importantes de stevia son esteviósido y rebaudiósido A, que es aproximadamente 200-300 veces más dulce que la sacarosa (Ilias et al., 2021).

Tabla 9. Taxonomía de la estevia

Ítem	Descripción
Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Eupatorieae
Género	Stevia
Especie	S. rebaudiana
Nombre Científico	Stevia Rebaudiana Bertoni

Fuente: Trelles, 2019.

2.3.2. Composición química y nutricional

El azúcar en las bebidas dulces ha sido reemplazado por edulcorantes naturales y artificiales, que tienen un mayor potencial edulcorante que el azúcar, pero no tienen contenido energético. El extracto de estevia es un edulcorante natural que se utiliza en varios productos "dietéticos". La estevia no desencadena procesos posprandiales o niveles más altos de glucosa en sangre e insulina plasmática que generalmente son causados por el consumo de azúcar (Nettleton et al., 2019). Las hojas de *S. rebaudiana* contienen glucósidos de esteviol que son edulcorantes no calóricos muy potentes, la propiedad edulcorante de *S. rebaudiana* contribuye a la presencia de estos glucósidos de esteviol sin calorías y de alta potencia. Los glucósidos de esteviol son considerablemente adecuados para reemplazar la sacarosa y otros agentes edulcorantes artificiales que se

utilizan en diferentes industrias y productos farmacéuticos. Los extractos de hojas de stevia han sido reconocidos como seguros por la FDA (Autoridad de Alimentos y Medicamentos) para su uso como ingredientes dietéticos, pero es importante tener en cuenta que solo los extractos de hojas de stevia purificados han sido aprobados para su uso como suplementos dietéticos (Basharat et al., 2021).

Las hojas de la Estevia contienen 0,3% Dulcósido, 0,6% Rebaudiósido C, 3,8% Rebaudiósido A y el 9,1% de Esteviósido. De las 110 especies estudiadas por el sabor dulce solo 18 muestran esta característica, de todas las especies la *Stevia rebaudiana bertonii* es la más dulce. Las hojas frescas de Estevia contienen una gran cantidad de agua (80 a 85%). Aparte de los componentes antes mencionados (glucósidos), las hojas contienen ácido ascórbico, β -caroteno, cromo, cobalto, magnesio, hierro, potasio, fósforo, riboflavina, tiamina, estano, zinc, etc. Entre los productos químicos encontrados están la apigenina, austroinilina, avicularin, β -sitoesterol, ácido caféico, campesterol, cariofileno, centaureidin, ácido clorogénico, clorofila, kaempferol, luteolina, quercetina, estigmasterol, entre otras (Durán et al., 2012).

Tabla 10. Composición química de la stevia

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	8.46%
Proteína	18.20%
Fibra cruda	10.77%
Ceniza	7.83%
Carbohidratos	49.97%

Fuente: Pasquel et al. (2001), citado por Nazca (2019)

2.3.3. Compuestos fenólicos de la Estevia

Los compuestos fenólicos se han considerado como compuestos importantes que contribuyen a la actividad antioxidante del extracto de hoja de stevia. En el estudio de Yu et. al., (2017), para comprender mejor la relación entre la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total, se

determinó que el contenido fenólico total de extractos de hojas de estevia fue de 46,14 y 71,46 mg GAE, respectivamente. El contenido fenólico total del extracto de hoja en el presente estudio fue mayor que el extraído con agua por proceso de maceración, alcanzando valores tan altos como los extraídos con etanol en informes anteriores. Además, el método de extracción, utilizando únicamente agua caliente como disolvente, lo hace más respetuoso con el medio ambiente. Las actividades antioxidantes *in vitro* del extracto de hoja de stevia se analiza mediante ensayos DPPH (solución alcohólica) y ORAC (solución acuosa). Se cree que el efecto de los antioxidantes en el ensayo de DPPH es causado por su capacidad de captación de radicales o su capacidad de donación de hidrógeno. Debido a que este método es muy sensible y simple, ha sido ampliamente utilizado en muchos estudios sobre antioxidantes naturales. Se examinaron las actividades de eliminación de radicales DPPH en 4 concentraciones diferentes (0.004–0.04%) de extractos. El extracto de hoja exhibió una actividad eliminadora de radicales DPPH significativamente mayor que el extracto de SRS ($p < 0,05$). Los valores ORAC de los extractos de hoja de stevia fueron 1.15 y 1.88 $\mu\text{mol TE mg}^{-1}$ de extracto seco, respectivamente. El extracto de SRS tiene un contenido fenólico total significativamente más bajo, una actividad de eliminación de radicales DPPH y un valor ORAC que el extracto de hoja ($p < 0,05$). En SRS y extractos de hoja, la buena correlación observada entre *in vitro* la actividad antioxidante y el contenido fenólico total sugiere que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes a estas actividades.

2.3.4. Usos y beneficios

La stevia es más segura para usarse como edulcorante que los edulcorantes sintéticos como el ciclamato y el aspartamo que tienen propiedades cancerígenas. La stevia es la nueva fuente alternativa emergente de edulcorante sin calorías que no tiene carbohidratos ni grasas. Es de 20 a 30 veces más dulce que el azúcar de caña y remolacha, es un azúcar altamente nutritivo, delicioso, no tóxico y sin aditivos. También mejora el sabor, ayuda en la digestión, reducción de peso, antioxidante, previene la caries dental y tiene propiedades antimicrobianas y antiplaca, aumenta el estado

de alerta mental, aumenta los niveles de energía, pero no afecta el nivel de azúcar en sangre, por lo tanto, es un edulcorante de fuente clave para mundo diabético. La stevia se puede usar en hipertensión, hipoglucemiante, útil para tonificar y curar la piel, antojos de tabaco y alcohol y un tónico para el páncreas. También se puede utilizar como fuente alternativa de azúcar para productos de confitería, panaderías, zumos de frutas, mermeladas, galletas, chocolates, verduras y otros productos alimenticios (Singh y Rao, 2005).

La stevia contiene miles de compuestos bioactivos, esteroides y antioxidantes naturales. La ingesta de estos compuestos aumenta el sistema inmunológico para una vida saludable; su uso es efectivo para la regulación de la diabetes y la presión arterial (Al-Mansour et al., 2018).

2.4. Bebida refrescante

2.4.1. Generalidades

Las bebidas azucaradas, son una fuente principal de azúcares añadidos en la dieta, la mayoría de ellos incluyen sacarosa o jarabe de maíz con alto contenido de fructosa, que representan un alto porcentaje de calorías en relación con la ingesta calórica diaria total. Estudios de epidemiología demostraron que el alto consumo de bebidas azucaradas está relacionado con un mayor riesgo relativo de enfermedad coronaria, aumento de peso corporal y patologías como hiperuricemia o hipertensión. Los jugos de frutas podrían ser una alternativa más saludable a los refrescos, ya que proporcionan nutrientes y compuestos bioactivos como vitaminas, minerales, fibra soluble y fitoquímicos como compuestos fenólicos (Villaño et al., 2021).

Los jugos de frutas se encuentran entre los segmentos en crecimiento de los refrescos, que son la categoría de productos de bebidas no alcohólicas; los segmentos líderes de refrescos incluyen carbonatos (48,6%), agua embotellada (28,9%) y jugos (10,7%). Una razón de la mayor preferencia de las personas por los carbonatos que otros refrescos es su experiencia sensorial fría y chispeante. Sin embargo, los refrescos y las bebidas con alto contenido calórico se han relacionado como factores causales del

sobrepeso, la obesidad y la diabetes. En este sentido, los consumidores de refrescos ahora están ganando conciencia nutricional y están disminuyendo la ingesta de refrescos y bebidas dulces. Los consumidores de refrescos ahora están aumentando la demanda de agua y bebidas con características funcionales por ejemplo el Té de hierbas y batido de proteínas y con ingredientes naturales por ejemplo el concentrado de frutas y verduras. Un ejemplo de esta tendencia puede ser el creciente segmento de "amantes de la pulpa", personas que se centran en los beneficios nutricionales del consumo, en busca de bebidas que les parezcan frescas, saludables, jugosas, naturales y con un alto contenido de fibra. Disminuir los ingredientes carbonatados mientras se incluyen más frutas o ingredientes nutricionales cambiará la experiencia sensorial de los consumidores de refrescos. Además, los atributos refrescantes y espesos de las bebidas pueden servir como señales para cambiar las características sensoriales de las bebidas (Tarrega et al., 2016).

2.4.2. Compuestos fenólicos de bebida de frutas

El ensayo ORAC, también ampliamente utilizado para evaluar los antioxidantes, evalúa la capacidad de las muestras para eliminar los radicales peróxido, las especies de oxígeno reactivo fisiológicamente más importantes. Debido al complejo mecanismo de los compuestos antioxidantes, no existe un método oficial para determinar la capacidad antioxidante total (TAC), por lo que la capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC), la actividad de eliminación de radicales de oxígeno y el DPPH (α, α -difeníl- β -picrilhidrazilo) capacidad antioxidante (ORAC) se utilizaron en la determinación de la capacidad antioxidante total (TAC) después del procedimiento gastrointestinal simulado de las bebidas de jugo de frutas. (Arboleda et al., 2021).

Según Caballero & Escobedo, (2019) reporta también una diferencia significativa entre la cantidad de actividad antioxidante de la harina de la cáscara de maracuyá y la bebida, siendo el valor inicial de 9337.56 $\mu\text{mol ET}/100\text{ ml}$, y el valor alto de 1532.45 $\mu\text{mol ET}/100\text{ ml}$, explicando esta disminución debido a la cantidad de agua añadida y los insumos de estandarización en el procesamiento de la bebida.

En el estudio realizado por González et al., (2009); para una bebida rica en bio activos saludables que combina zumos de limón y granada tenía como principal objetivo producir nuevas bebidas ricas en poli fenoles utilizando jugos de limón y granada en diferentes proporciones obtuvo que una bebida hecha de 75% de jugo de granada y 25% de jugo de limón (v: v), presentaron valores altos de actividad antioxidante a diferencia de la bebida hecha de 75% de jugo de limón y 25% de jugo de granada, esto se debe a que el contenido de antioxidantes del jugo de granada es mayor al del jugo de limón.

2.5. Métodos para Determinación de Compuestos fenólicos

2.5.1. Método FRAP (poder antioxidante reductor férrico)

Este método se basa en la reducción del complejo TPTZ-Fe³⁺ a TPTZ-Fe²⁺ por acción de los compuestos antioxidantes, dando un color azul que absorbe a 593 nm, cuya intensidad está en relación directa con la capacidad reductora de la muestra analizada (Carvajal de Pabón et al., 2011).

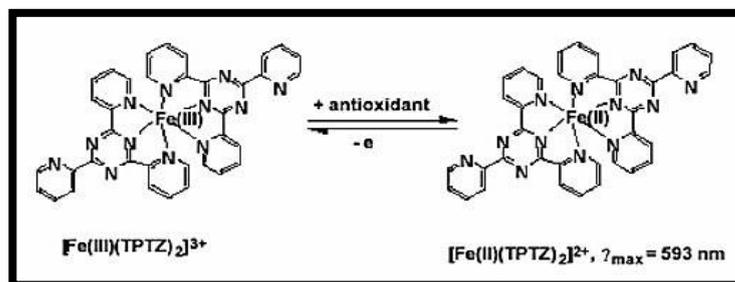


Figura 1. Reacción ocurrida durante el ensayo FRAP

Fuente: Da Silva et. al., (2013)

Según Da Silva et. al., (2013), la capacidad reductora férrica de los tejidos se determina por el método FRAP, con adaptaciones. En la oscuridad, el reactivo FRAP se prepara con 300 mmol L⁻¹ de tampón de acetato (pH 3,6), 10 mmol de TPTZ en una solución de 40 mmol L⁻¹ de HCl y 20 mmol L⁻¹ de FeCl₃. Las soluciones estándar o de muestra, el agua ultrapura y el reactivo FRAP se mezclan y se mantienen en un baño de agua durante 30 min a 37 °C. Después de enfriar a temperatura ambiente, las muestras y el estándar se lecturan a 595 nm. Luego se hace la curva

estándar de Trolox (10–800 $\mu\text{mol TE}$). Los resultados se expresan en $\mu\text{mol Trolox equivalente (TE) mL}^{-1}$.

2.5.2. Método Folin Ciocalteu

Este método se aplica para la determinación del contenido fenólico total (TPC) en productos naturales. Este método se ve afectado significativamente por la adición de carbonato de sodio.

La prueba con Folin-Ciocalteu (FC) primero se utilizó para cuantificar las tirosinas en las proteínas, sin embargo, con el pasar del tiempo se fue modificando para poder hacer el análisis de compuestos polifenólicos en varios tipos de extractos vegetales. El reactivo fundamental del ensayo consiste en una mezcla de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico de color amarillo denominados "reactivo de Folin Ciocalteu " y es desde esa combinación de los 2 ácidos que se obtienen iones de molibdato y tungsteno. En la actualidad se conoce que hay una gran cantidad de iones de molibdato que se desempeñan mejor como agentes de reducción. Esta reacción se desarrolla en medios básicos con un 10 de pH, para lograr generar un ion fenolato con la finalidad de reducir al Folin-Ciocalteu mediante una reacción de tipo óxido / reducción (Figura 2) y genera la formación de un complejo de Mo (V) de color azul con absorbancia que se mide a 765nm de longitud de onda. (Muñoz et al.,2017).

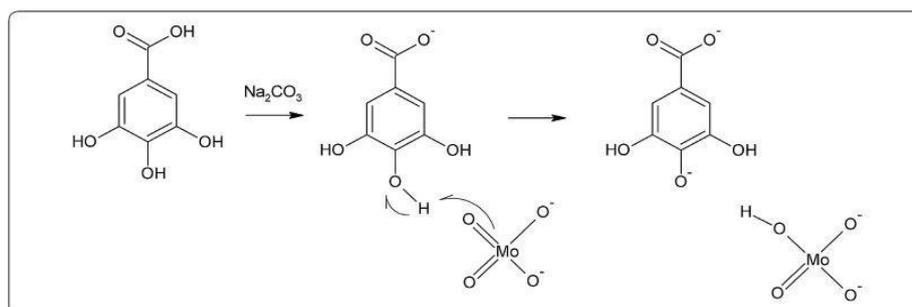


Figura 2. Reacción del ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Fuente: Muñoz et. al.,2017

El método Folin-Ciocalteu ha ido avanzando a mediados del año 60, pero no se ha modificado con el paso del tiempo y aun así sigue teniendo una amplia aceptación para cuantificar fenoles en matrices y extractos vegetales.

La principal ventaja de este método es que tiene una respuesta semejante a distintas sustancias fenólicas en los vinos, lo que lo hace adecuado para medir con precisión los compuestos fenólicos totales. En consecuencia, la determinación del contenido fenólico total basada en el método Folin-Ciocalteu se ha utilizado ampliamente para caracterizar vinos y licores, jugos de frutas, tejidos vegetales, grano de sorgo y otros productos similares. (Muñoz et al.,2017).

2.5.3. Ensayo TEAC (capacidad antioxidante equivalente de Trolox)

Según Da Silva et al., (2013), los niveles de TEAC se determina con base en los informes de Rufino et al. (2010) con modificaciones. La solución de ABTS se prepara mezclando 5 mL de ABTS 7,0 mmol y 88 μ L de solución de persulfato de potasio 145 mmol, dejando reaccionar durante 12-16 h, a temperatura ambiente y en oscuridad. Se añade etanol (99,5 %) a la solución hasta que la absorbancia alcance $0,700 \pm 0,05$ a 734 nm. Trolox (10–800 μ mol TE) se utiliza como antioxidante de referencia. La solución de ABTS se añade a la muestra o soluciones estándar y se hace reaccionar durante 6 min antes de leer a 734 nm, temperatura ambiente. Resultados se expresan en μ mol Trolox equivalente (TE) mL⁻¹.

2.5.4. Ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

Según Carbonell-Capella et. al., (2015), el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) utilizado, con fluoresceína como “sonda fluorescente”, fue el descrito por Barba et al. (2012) . El ensayo ORAC automatizado se llevó a cabo en un contador multimarca Wallac 1420 VICTOR (Perkin-Elmer, EE. UU.) con filtros de fluorescencia, para una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 535 nm. Las medidas se realizaron en placas con 96 pocillos blancos de fondo plano (Sero-Wel, BibbySterilin Ltd., Stone, UK). La reacción se realizó a 37 °C, ya que la reacción se inició por descomposición térmica de AAPH en tampón fosfato 75 mM (pH 7,0).

2.6. Actividad Antioxidante

2.6.1. Actividad antioxidante en extractos

Considerando los resultados de investigaciones anteriores, el TPC es responsable de la notable actividad antioxidante que presenta el extracto de la semilla de maracuyá evaluada por las metodologías de DPPH, FRAC y ORAC. Con respecto a estos valores, es importante mencionar que existe una diversidad de protocolos de extracción que dificultan la comparación de los resultados, e incluso algunos autores han demostrado que la concentración de fenoles puede incrementarse cuando diferentes variables asociadas al proceso de extracción están optimizadas (Yepes et al., 2021). En la Tabla 11 se muestra la capacidad antioxidante del extracto determinada por diferentes metodologías. Allí se demuestra que el alto contenido fenólico total ($0,32 \pm 0,04$ g AG/g extracto), es comparable a lo informado por (Oliveira et al., 2016), quien evidenció un contenido de $0,39 \pm 0,1$ g AG/g extracto de semillas de maracuyá desgrasadas (Yepes et al., 2021).

Tabla 11. Actividad antioxidante de extracto de maracuyá

Actividad antioxidante	Yepes et al., 2021	Da silva et al., 2013
TPC	$0,32 \pm 0,04$	-
ORAC	$18,3 \pm 0,5$	$373,0 \pm 1,63$
DPPH	132.6	1100
FRAP	$14,2 \pm 0,4$	$205,7 \pm 4,12$

2.6.2. Radicales libres y antioxidantes

Los radicales libres se definen como especies químicas reactivas que tienen uno o más electrones desapareados. Se producen como parte del metabolismo mitocondrial y no presentan selectividad, pudiendo atacar ADN, proteínas y lípidos, además de estar asociados con diversas enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis, así como con procesos degenerativos del sistema nervioso central como la enfermedad de Alzheimer y el envejecimiento.

Los antioxidantes son sustancias químicas que cuando están presentes en concentraciones bajas en comparación con las de un sustrato oxidable, pueden retrasar o prevenir la oxidación de estos sustratos. Un radical libre es la especie química que se reduce, mientras que un antioxidante es la especie química que se oxida y protege el sustrato neutro.

Los antioxidantes tienen que reaccionar rápidamente con los radicales libres para evitar que las biomoléculas se oxiden. Cuando un antioxidante se oxida, se convierte en radical, porque entonces presenta un electrón desapareado; sin embargo, esta molécula debe formar especies estables para interrumpir el mecanismo de formación de radicales. La estabilidad del producto oxidado se puede analizar mediante estructuras de resonancia, como en el caso del difenol, que forma una semiquinona y luego una quinona, con productos intermedios y finales estables (Zeghad et. al., 2019).



Figura 3. Oxidación de un fenol por un radical libre formando estructuras estables.

Fuente: Zeghad et. al., (2019)

2.6.3. Estrés Oxidativo

Se define como una producción demasía de especies que reaccionan de oxígeno (ROS) en relación con la defensa antioxidante. Los ROS son productos químicos intermedios a base de oxígeno con alta reactividad. El equilibrio entre la producción de ROS y los sistemas destinados a mitigar ROS se denomina 'estado redox'. (Shankar y Mehendale,2014).

Cada vez más, también se reconoce que el aumento de ROS puede desempeñar un papel importante en el proceso de envejecimiento normal y en la patogénesis de numerosas enfermedades crónicas, como el cáncer, la aterosclerosis, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, la enfermedad de Parkinson y Alzheimer y la lesión hepática.

El estrés oxidativo se produce cuando el organismo no es capaz de neutralizar todos los radicales generados utilizando únicamente la defensa enzimática natural, es decir, se trata de una situación en la que existe un desequilibrio entre la producción de radicales libres y su consumo por la defensa enzimática antioxidante. Por lo tanto, para ayudar con este escenario, es necesario buscar nuevos antioxidantes que puedan actuar en la defensa del organismo; por lo tanto, se utilizan varios métodos analíticos para detectar, desarrollar y determinar su actividad. (Shankar y Mehendale, 2014).

2.6.4. Actividad antioxidante de compuestos fenólicos

Las estructuras moleculares son la base de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, incluido el número de subunidades de fenol, el número y la posición de los grupos hidroxilo y las sustituciones en los anillos de benceno.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos varía en función del número y posición de grupos hidroxilo, grado de polimerización o la presencia de azúcares, su solubilidad relativa en fase acuosa o lipofílica. Generalmente, los compuestos hidrofóbicos entran en las células más rápido que los hidrofílicos por procesos de difusión simple. Una vez en el organismo, los compuestos fenólicos más hidrofóbicos tendrán su destino en ambientes lipídicos y los más hidrofílicos quedarán en medios más acuosos (Muñoz-Bernal et al., 2017).

2.6.5. Ensayo químico para determinar la actividad antioxidante: DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)

El ensayo de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH ·) se desarrolló en la década de 1950 y fue uno de los primeros ensayos para la evaluación de la capacidad antioxidante. Este método se utiliza comúnmente para evaluar la eficacia de complejos metálicos que contienen flavonoides con propiedades antioxidantes. El radical DPPH · es estable y tiene un electrón deslocalizado, lo que asegura un color púrpura con absorción máxima a 517 nm, además de ser detectable por EPR.

Una limitación de este método es el obstáculo estérico entre DPPH y las moléculas antioxidantes. Dado que el sitio del radical se encuentra en el centro de la molécula, las moléculas antioxidantes más pequeñas tienen un acceso más fácil a este punto, lo que resulta en mayores actividades en comparación con las de las moléculas más grandes. Debido a este hecho, para verificar la reacción entre el antioxidante y DPPH, la solución de reacción debe mantenerse en la oscuridad durante 45 a 60 min para asegurar que el proceso ocurra.

El método colorimétrico se basa en la capacidad de un antioxidante dado para reducir el radical DPPH · a una hidracina, cambiando el color de la solución de púrpura a amarillo (Fig. 4). La captación del radical DPPH · por un antioxidante se detecta mediante espectroscopia UV- vis mediante el seguimiento de la banda de absorción de DPPH · a 517 nm. (Marchi et al.,2022).

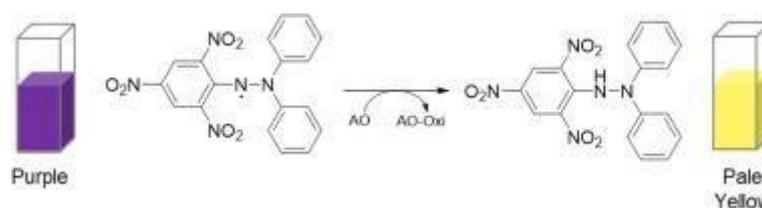


Figura 4. DPPH · reacción de decoloración radical en presencia del antioxidante (AO).

Fuente: Marchi et al., (2022).

El medio de reacción para este ensayo debe ser preferiblemente alcohólico (etanol o metanol) para evitar procesos de agregación del radical estable. El uso de agua debe minimizarse porque puede favorecer la agregación, sin que se observen problemas de agregación hasta la relación 1: 1 (etanol: agua). La principal limitación del método radica en el rango de absorción del radical DPPH ·, que ocurre en una región visible donde también absorben varios antioxidantes, posiblemente dificultando la detección del final de la reacción entre DPPH · y el antioxidante. Sin embargo, DPPH · es un método simple, preciso y reproducible. (Marchi et al.,2022).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en los laboratorios de Investigación y Desarrollo de Productos Agroindustriales de la EPIA. de la Universidad Nacional de Santa.

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materia Prima

Para la obtención de la bebida refrescante, se utilizaron como materia prima 2 tipos de frutas obtenidos de diferentes lugares:

- Granada (*Punica Granatum*), variedad: Wonderful, adquirido en la Ciudad de Casma del Fundo Alimentos Funcionales; cultivado sin el uso de fertilizantes ni insecticidas y además recepcionado en estado fresco. Cantidad: 8,670 kg.
- Maracuyá, variedad: amarilla, se obtuvo del Mercado Mayorista La Perla - Chimbote, el cual es proveniente de Vinzos - Ancash. Cantidad: 9,782 kg.

3.1.2. Insumos:

- Estevia, sorbato de potasio y agua.

3.1.3. Reactivos:

- Solución de NaOH 0.1N . Marca: Merck (Q.P)
- Ácido Gálico (C₇H₆O₅). Marca: Meck
- Colorante 2.6- diclorofenolindofenol
- Metanol (CH₄O) grado HPLC. Marca: Merck
- Trolox (Ácido – 6 – hidroxil – 2,5,7,8 – tetrametilcroman – 2-carboxílico). Marca: Sigma-Aldrich
- DPPH (2,2 – Difencil–1–Picrilhidrazilo). Marca: Sigma-Aldrich
- Folin Denis. Marca: Sigma-Aldrich
- Carbonato Sódico (Na₂CO₃). Marca: Merck
- L-Ácido ascórbico
- Ácido Oxálico al 0.1 N y 0.4% . Marca: Merck
- Agua destilada
- Fenolftaleína al 0.1%. Marca: Riedel-deHaen
- Hipoclorito de Sodio al 5% Marca Clorox

3.1.4. Materiales:

- Botellas de plástico
- Licuadora
- Cocina
- Colador, jarras y cucharones
- Balanza
- Vasos descartables
- Papel toalla
- Bandejas descartables
- Micropipetas

3.1.5. Materiales de Vidrio:

- Buretas de 25 ml
- Crisoles
- Placa Petri
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Matraz 50ml
- Tubos de ensayo con tapón
- Vasos de precipitación
- Probetas de 50 y 100 ml
- Fiolas de 500 y 1000 ml
- Termómetro de Mercurio de -10°C a 110°C
- Viales ámbar con tapa
- Tubos cónicos para centrífuga Falcon

3.1.6. Equipos:

- Refractómetro. Marca ATAGO N-1 α , °Brix 0 – 32%
- Espectrofotómetro. Marca: Único; modelo: 2800 UVNIS.
- Equipo de Baño María. – Marca: AquaBathTM
- Centrífuga Sigma – Laberzentrifugen 2-16. Germany
- Titulador
- Mufla Thermolync – Type Furnace1300
- Ultrasonido Parmer Lavador 8892
- Estufa POL – EKO.

3.2. MÉTODOS:

3.2.1. Diagrama de flujo para la Elaboración de bebida refrescante

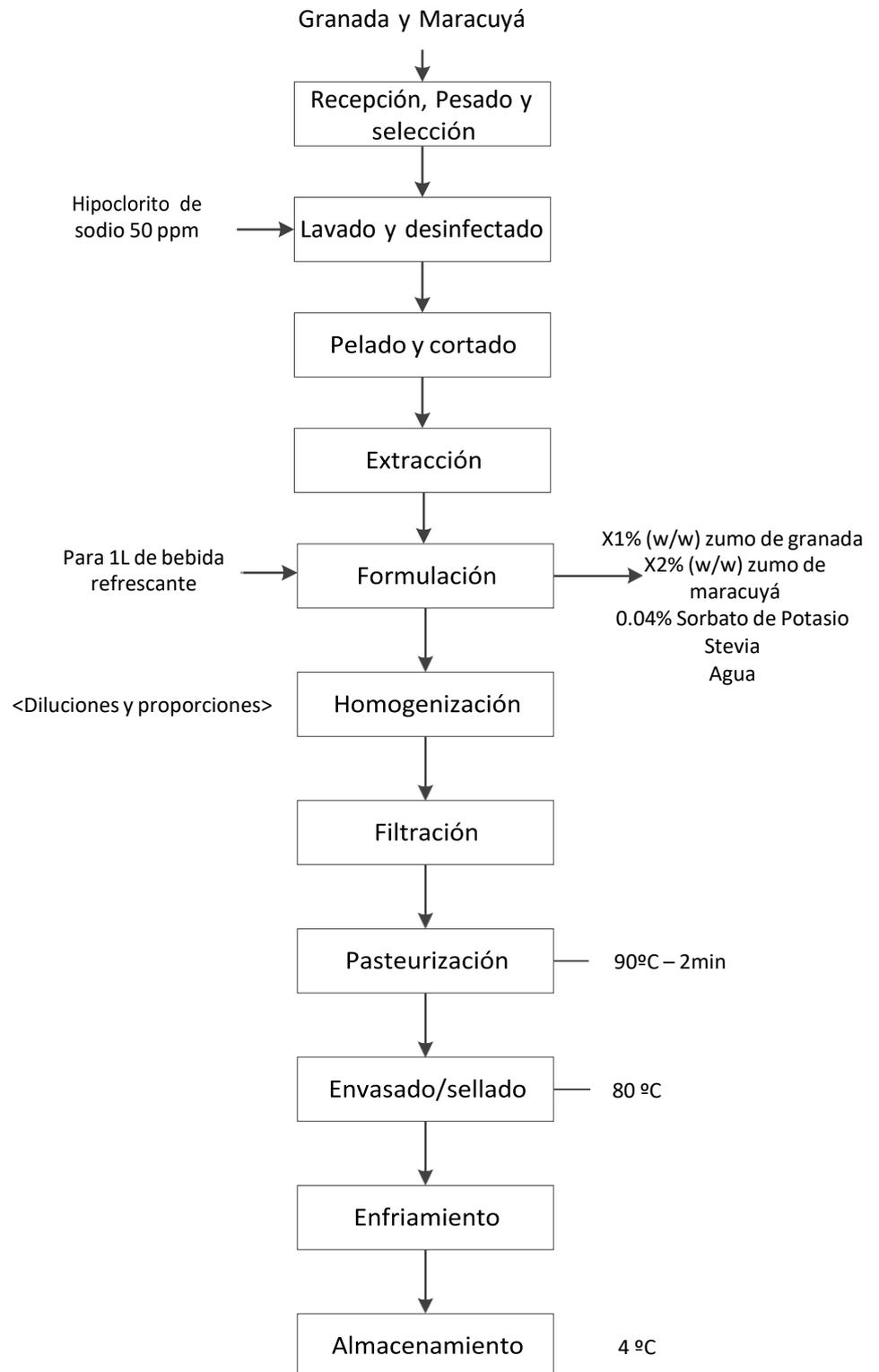


Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de bebida refrescante edulcorada a base de granada y maracuyá.

3.2.2. Descripción del procesamiento de la bebida refrescante:

Antes de iniciar con el proceso de obtención de la bebida refrescante se realizó una limpieza con agua a presión del área de trabajo, materiales y equipos, asimismo se procedió a desinfectar con hipoclorito de sodio 5%.

❖ *Recepción, peso y selección:*

La materia prima (granada y maracuyá) fue trasladada a la UNS, al Lab. Investigación de Productos Agroindustriales, procedentes del Fundo Alimentos Funcionales y Mercado Mayorista “La Perla” respectivamente. En la recepción de materia prima se iba pesando y seleccionando mediante una inspección visual del lote para poder determinar si dicho lote se encuentra en óptimas condiciones para el procesamiento. La cantidad de materia prima obtenida en la recepción fue 8,670 Kg de granada y 9,782 Kg de maracuyá.

❖ *Lavado y desinfección:*

La materia prima seleccionada fue lavada (limpieza) con agua para eliminar restos de tierra, polvo y sustancias extrañas, luego se procedió a la desinfección mediante la sumersión de los frutos en una solución preparada a 50 ppm de hipoclorito de sodio por 5 minutos aproximadamente, finalmente se enjuagó con agua potable.

❖ *Pelado y cortado*

Esta operación se realizó manualmente utilizando cuchillos. En el caso de la granada se procedió a cortarlo en cuatro partes para que sea más fácil de retirar los alilos (semillas) del fruto, asimismo las cascara fueron descartadas y desechadas en una bolsa. El maracuyá fue cortada en dos partes y con ayuda de una cuchara se iba retirando el contenido y recepcionando en un recipiente.

❖ *Extracción:*

Para extraer el zumo de la granada se utilizó una licuadora doméstica y un colador para obtener zumo puro sin partículas de semillas. Y para la maracuyá se utilizó un colador con el fin de obtener solo zumo sin las semillas.

❖ **Formulación:**

Se mezcló el X1%(w/w) de zumo de granada y X2% (w/w) de maracuyá, luego se determinó el grado Brix, para obtener el Brix deseado se agregó 500mg estevia y 0.04% sorbato de potasio.

Luego se iba adicionando agua e insumos al zumo de granada y maracuyá ajustando de acuerdo a las proporciones y diluciones según los tratamientos de nuestro diseño.

❖ **Homogenización:**

Esta operación uniformizó la mezcla de todos los ingredientes e insumos que constituyeron la bebida (Agua, estevia y sorbato de potasio). Y fueron removidas hasta obtener una disolución homogénea.

❖ **Filtración:**

En esta operación se utilizó un colador industrial para evitar las partículas grandes.

❖ **Pasteurización:**

La operación Esta operación de pasteurización se hizo en una cocina a gas hasta llegar a 90°C por 2 minutos, esto con la finalidad de eliminar la carga microbiana y que el producto se presente aséptico e inocuo de tal modo se mantenga estable durante el almacenaje. La operación idealmente se debió realizar con parámetros UHT (135 °C / Θ : 2s) para evitar la pérdida de concentración de polifenoles y antioxidantes presentes en la bebida.

❖ **Envasado/Sellado:**

Se utilizó envases previamente esterilizados. El envasado del producto se realizó a una temperatura de 80°C y el sellado se realizó de forma manual, siendo de esta manera sellados herméticamente.

❖ **Enfriamiento:**

El producto ya envasado se procedió a enfriar rápido para conservar su calidad y formar un correcto vacío dentro del envase.

❖ **Almacenamiento:**

El almacenamiento del producto terminado se hizo en refrigeración a una temperatura de 4°C manteniendo la integridad del producto.

3.2.3. Métodos de Caracterización Fisicoquímico:

- **Determinación de Humedad**
Se determinó la humedad por el método recomendado por la (AOAC, 2016).
- **Determinación de Cenizas**
Se determinó por el método de calcinamiento a temperaturas entre 550 – 600°C. (AOAC, 2016)
- **Determinación de pH**
Se determinó por el método potenciométrico (AOAC, 2016), el valor de pH para la bebida estuvo entre 2.4 y 4.4.
- **Determinación de Densidad:**
Se determinó por el método (AOAC, 2016), empleando un picnómetro.
- **Determinación de sólidos solubles (*Brix):**
Para medir los grados brix se empleó el método del refractómetro (AOAC, 2016).
- **Determinación de Acidez titulable**
Se determinó la acidez titulable por el método (AOAC, 2016), expresando en % el ácido ascórbico.
- **Determinación de Vitamina C**
Este análisis se hizo por espectrofotometría mediante el método del colorante 2 - 6 Diclorofenol-indofenol (AOAC, 2000).
- **Determinación de Polifenoles Totales**
Los polifenoles totales se determinaron por el método Folin y Ciocalteu descrito por Moreno-Escamilla (2015) con algunas modificatorias descritas.
 - **Preparación de reactivos:**
 - Solución Folin-Ciocalteu:** se procedió a medir 1.25ml de la solución Folin Ciocalteu en una fiola de 10ml luego se aforó con agua destilada (preparación diaria) y se forró con papel aluminio la fiola.
 - Solución de Ácido Gálico:** se añadió 25mg de ácido gálico a una fiola de 100ml oscura, aforando con agua destilada (preparación

diaria). Luego se separó 2ml de esta solución y se añadió en una fiola 10ml aforando con agua destilada.

Solución de Carbonato de Sodio (20%): se añadió 0.750g de Na_2CO_3 en una fiola de 10ml oscura, aforando con agua destilada. Finalmente se llevó al fuego a 70-80°C hasta diluirlo.

- **Preparación de curva de calibrado:**

Para poder analizar las muestras se necesitó un blanco el cual se preparó añadiendo 50 μL de Na_2CO_3 y 2600 μL de agua destilada. Luego se procedió a determinar la curva patrón y se rotuló tubos del I al VII y se agregó a cada tubo lo siguiente:

Tubo I: se añadió 100 μL de ácido gálico, 2400 μL de aguadestilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo II: se añadió 200 μL de ácido gálico, 2300 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo III: se añadió 400 μL de ácido gálico, 2100 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo IV: se añadió 600 μL de ácido gálico, 1900 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo V: se añadió 800 μL de ácido gálico, 1700 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo VI: se añadió 1000 μL de ácido gálico, 1500 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Tubo VII: se añadió 1200 μL de ácido gálico, 1300 μL de agua destilada, 50 μL de Na_2CO_3 y 100 μL de Folin.

Finalmente agitamos y se dejó reposar por 5 minutos antes de iniciar a lecturar en el espectrofotómetro a 726nm.

- **Preparación para lecturar la muestra:**

Se diluyó la muestra en 7 tubos de ensayo 600 μL de muestra en 100 μL Folin-Ciocalteu, se agitó y se dejó reposar por 5 minutos, se añadió 50 μL de Na_2CO_3 , se homogenizó y se enrasó con agua

destilada en celdas 1900 μL , luego se dejó reposar y se empezó a lecturar las muestras en el espectrofotómetro a 726nm.

- **Determinación de Actividad Antioxidante**

Se utilizó la metodología de radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) 2012.04.

- **Preparación de reactivos:**

Solución de DPPH (40mg/L): se añadió 1 mg de DPPH en una fiola de 25ml cubierta con papel aluminio. Se añadió 12.5ml de metanol HPLC y se llevó a un agitador vortex por 20 minutos. Luego se agregó 12.5ml de agua destilada y nuevamente se colocó en un agitador vortex por 20 minutos. Posteriormente se aforó con metanol HPLC y por tercera vez se colocó en un agitador vortex por 5 minutos. En cada etapa de la preparación se protegió la solución DPPH de la luz.

Estándar Trolox (50mg/100ml): primero se añadió 5mg de trolox y 5ml de metanol HPLC en una fiola de 10 ml cubierta con papel aluminio y se procedió agitar la solución en un agitador vortex por 5 minutos. Posteriormente se añadió 5 ml de agua destilada y nuevamente se llevó a agitar por 5 minutos en un agitador vortex. Finalmente se aforó la solución con metanol HPLC.

- **Preparación de Curva de Calibrado:**

Se tomó alícuotas de 25 μL , 50 μL , 75 μL y 100 μL de la solución preparada estándar de Trolox (50mg/100ml) y se adicionó en tubos 4 tubos de vidrio con tapas recubiertos con papel aluminio. Luego se añadió 6.25 ml de DPPH (40ppm) a cada tubo ensayo previamente rotulado. Posteriormente se cerró bien los tubos y se llevó a incubación en el SONIFICADOR a 37 °C x 1hora. Finalmente se realizó la lectura a 517nm utilizando el agua destilado como el blanco.

- ***Preparación para lecturar la muestra:***

Previamente se preparó el blanco de muestra al cual se añadió 100 μL de muestra y 6.25 ml de agua destilada. Idealmente se debe tomar 100 g de muestra la cual posteriormente se debe liofilizar hasta obtener un aproximado de 0.02g. A esta se le añade 6.25 ml DPPH (40ppm) a los tubos de ensayo recubiertos con papel aluminio, para finalmente llevarla a un sonificador a 37°C x 1 hora, pero debido al malfuncionamiento del equipo se lectura la muestra en estado líquido, lo cual consistió en la adición de 100 μl de muestra y se añadió 6.25 ml DPPH (40ppm) a los tubos de ensayo recubiertos con papel aluminio. Luego las muestras se llevaron a un sonificador a 37°C x 1 hora.

• **Determinación de parámetros sensoriales**

Este análisis se realizó mediante las pruebas de medición del grado de satisfacción para saber la aceptabilidad de la bebida a través del tiempo. La evaluación de parámetros sensoriales se realizó con 30 panelistas semi entrenados, la cual se ejecutó en los paneles de evaluación de la Planta Piloto Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa, bajo condiciones adecuadas de medidas de bioseguridad debido a la actual pandemia.

El objetivo de esta evaluación sensorial fue medir la diferenciación entre los 10 tratamientos a un grado de significancia de 95% ($p < 0.05$) entre sí. Para llevar a cabo la evaluación se utilizó la escala hedónica de 9 puntos y se tuvo en cuenta 4 atributos para la evaluación de la bebida: olor, sabor, color y aceptabilidad general. La ficha que se utilizó se puede visualizar en el Anexo N°15.

3.2.4. Diseño Experimental

El presente trabajo consistió en realizar las formulaciones de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia con la finalidad de evaluar el efecto de las concentraciones de las frutas mencionadas en la actividad antioxidante de la bebida.

El diseño que se utilizó fue un diseño Factorial de 3 niveles: 3^2 el cual estudió los efectos de 2 factores en 10 corridas. El diseño fue corrido en un solo bloque. El orden de los experimentos fue totalmente al azar. Se consideró como variables independientes: la concentración de granada y la concentración de maracuyá, así mismo se determinó las variables respuestas: determinación de actividad antioxidante, determinación de polifenoles totales y evaluación de parámetros sensoriales (color, olor, sabor y apariencia general).

Tabla 12. Matriz de diseño del experimento

Tratamientos	A:Zumo de maracuya	B:Zumo de granada	Actividad antioxidante	Polifenoles	Evaluación Sensorial			
	%	%	mg /100mg DPPH	mg/100mg ac.galico	Olor	Sabor	Color	Aceptabilidad
T1	2.5 (-1)	2.5 (-1)						
T2	7.5 (0)	2.5 (-1)						
T3	12.5 (+1)	2.5 (-1)						
T4	2.5 (-1)	7.5 (0)						
T5	7.5 (0)	7.5 (0)						
T6	12.5 (+1)	7.5 (0)						
T7	2.5 (-1)	12.5(+1)						
T8	7.5 (0)	12.5(+1)						
T9	12.5 (+1)	12.5(+1)						
T10	7.5 (0)	7.5 (0)						

3.2.5. Diseño Estadístico

Se construyó la matriz de experimento empleando el software estadístico STATGRAPHICS Centurion XV.II para determinar los efectos de las variables independientes y el análisis de la varianza (ANOVA), con un nivel de significancia de 5%. Para determinar la mejor formulación de la bebida refrescante se utilizó el análisis sensorial en escala hedónica, aplicado para 30 panelistas no entrenados. La formulación y elaboración de las bebidas refrescantes a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia se realizará de a nivel de laboratorio, donde la extracción del jugo se realizará de manera manual, prensando los arilos de ambas frutas. Posteriormente, se mezclarán los jugos como tal señala cada tratamiento, ingresando las variables independientes que son la concentración de granada (2.5-12.5% w/w) y maracuyá (2.5-12.5% w/w).

3.2.6. Modelo Estadístico

Se consideró dos factores A (concentración de maracuyá) y B (concentración de granada) con a (2.5), b (7.5) y c (12.5) niveles respectivamente. Se tuvieron a · b combinaciones o posibles tratamientos y n observaciones para cada formulación, esto fue, un diseño balanceado.

$$Y_{ijk} = \mu + r_i + \beta_j + (r\beta)_{ij} + \mu_{ijk} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1.}$$

Y_{ijk} : Representa la actividad antioxidante, poli fenoles y calidad sensorial de la bebida refrescante edulcorada k a la concentración de granada i y la concentración de maracuyá j

μ : Efecto constante, común a todos los niveles de los factores, denominado media global.

r_i : Efecto medio producido por la concentración de la granada i, ($\sum_i r_i = 0$).

β_j : Efecto medio producido por la concentración del maracuyá j, ($\sum_j \beta_j = 0$).

$(r\beta)_{ij}$: Efecto medio producido por la concentración de la granada i y la concentración del maracuyá j, ($\sum_i (r\beta)_{ij} = \sum_j (r\beta)_{ij} = 0$).

μ_{ijk} : Vv aa. independientes con distribución $N(0, \sigma)$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Composición fisicoquímica del maracuyá y de la granada

En la Tabla 13, se detallan los resultados obtenidos de las características fisicoquímicas del maracuyá y granada.

Tabla 13. Características fisicoquímicas del maracuyá y granada

Características fisicoquímicas	Maracuyá	Granada
Humedad (%)	82.7 ± 0.8	77.8 ± 0.4
Cenizas (%)	0.7 ± 0.2	0.5 ± 0.1
°Brix	13.2 ± 0.3	16.2 ± 0.3
pH	3.21 ± 0.06	3.49 ± 0.1
Acidez (%)	3.6 ± 0.4	2.65 ± 0.3
mg Vitamina C/100g	25.3 ± 1.5	4 ± 0.6

Media de 3 repiticiones ± DS

Se caracterizó la Maracuyá reportando 13.2 ± 0.3 °Brix, valores que se encuentran entre el rango de 12.5-18 °Brix descrito por (López, 2016) quien examinó el contenido de °Brix varía de acuerdo al estado de madurez en el que se encuentra la fruta; y entre el rango de 10-14°BriX (Orejuela, 2011) determinó que el contenido de grados brix varía también según la variedad de la fruta a pesar de estar en el mismo estado de madurez; para el % humedad y % cenizas obtuvimos valores de 82.7 ± 0.8 % y 0.7 ± 0.2 %, estos valores se encuentran dentro del rango reportado por Jiménez, (2010) y Choque, (2016) de 82.1 - 85.3% y 0.5 - 2.5% respectivamente.

Para acidez y pH obtuvimos valores de 3.6 ± 0.4 % y 3.21 ± 0.06 , estos valores están en el rango de 2.9 - 5% y 2.8 – 3.3 (López, 2016).

El contenido de Vitamina C del maracuyá fue de 25.3 ± 1.5 mg/100g, el cual resultó ser mayor a 20 mg/100g reportado por Choque, (2016) y también mayor al valor reportado de vitamina C por la (Reyes et al., 2017) para el jugo puro de Maracuyá el cual es de 22 mg/100g.

Se caracterizó, también, la granada obteniendo valores de 16.2 ± 0.3 °Brix, los cuales se encuentran dentro del rango de 13 -18 °Brix reportado por Llerena, (2016) quien analizó el contenido de °Brix varía de acuerdo al índice de

madurez en el que se encuentra la fruta; para el % humedad y % cenizas obtuvimos valores de 82.7 ± 0.8 % y 0.7 ± 0.2 %, donde el valor de la humedad es mayor a los reportados por los autores Escobar y Quispe, (2017), el cual es de 80.97%, mientras que el de cenizas es inferior al 1.1% reportado por la (Reyes et al., 2017).

Para acidez y pH se obtuvo valores de 2.65 ± 0.3 % y 3.49 ± 0.1 , estos valores están dentro de rango de 2- 3% y 2.9 – 3.4 (MINAGRI, 2019) para granadas con calidad de exportación siendo este rango amplio debido a la influencia de la variedad en estos parámetros.

El contenido de Vitamina C de la granada fue de 4 ± 0.6 mg/100g el cual es inferior a los 6.1 mg/100g reportado por (Carbonel y Sanchez, 2012) y también inferior al valor reportado de vitamina C por la (Reyes et al., 2017) para la granada el cual es de 6 mg/100g.

4.2. Análisis fisicoquímico de las formulaciones

Se realizaron los análisis fisicoquímicos de los tratamientos de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia. A continuación, se muestran los datos obtenidos en la tabla 14:

Tabla 14. Composición fisicoquímica de la bebida refrescante

TRATAMIENTO	FORMULACION	Vitamina C (mg/100g)	Solidos solubles (°Brix)	Acidez (%)	PH	Densidad (g/ml)
T1	2.5% A* - 2.5% B*	0.0214±0.01	0.3±0.05	0.07±0.02	3.98±0.18	1.000±0.01
T2	7.5 % A - 2.5% B	0.1682±0.02	2.0±0.03	0.69±0.06	3.49±0.09	1.019±0.02
T3	12.5% A - 2.5% B	13.173±0.32	2.5±0.04	0.83±0.08	3.54±0.15	1.025±0.04
T4	2.5% A - 7.5% B	0.1697±0.02	2±0.02	0.79±0.07	3.48±0.08	1.029±0.06
T5	7.5% A -7.5% B	9.3067±0.24	2.5±0.03	0.63±0.05	3.46±0.09	1.020±0.03
T6	12.5% A - 7.5% B	11.013±0.27	3.5±0.04	0.78±0.08	3.51±0.12	1.020±0.02
T7	2.5% A - 12.5 % B	8.5233±0.18	3.5±0.06	0.50±0.04	3.49±0.10	1.023±0.04
T8	7.5% A -12.5% B	11.032±0.28	4.5±0.04	0.82±0.08	3.52±0.12	1.021±0.03
T9	12.5 % A - 12.5 % B	14.0892±0.39	6.5±0.07	1.97±0.09	3.5±0.10	1.073±0.08
T10	7.5 % A - 7.5% B	9.3061±0.20	2.5±0.02	0.64±0.05	3.48±0.09	1.029±0.06

*A: concentración de maracuyá, B: concentración de granada

Media de 3 repeticiones ± DS

Se analizó fisicoquímicamente a los 10 tratamientos de la bebida refrescante y se obtuvo diferentes datos para cada tratamiento. Según la tabla 12, el pH de la bebida varía desde la formulación T5 (7.5%A-7.5%B) que es el más bajo de pH con valor de 3.46, hasta el valor de 3.98, valor más alto, que corresponde a la formulación T1 (2.5%A-2.5%B).

Según Caballero & Escobedo, (2019), el pH de una bebida refrescante puede estar entre un rango de 3.08 hasta 3.66, explicando que la variación del pH depende de la temperatura del proceso de secado a la que se sometió a su materia prima (cáscara de pasiflora edulis) y también de los sólidos solubles de esta. La mayoría de nuestros valores que se obtuvieron están dentro del rango, a excepción del T1, esto se debe a la que la formulación del tratamiento mencionado utilizó menos zumo de fruta que las demás formulaciones, contando con solo el 5%(w/w) total de la conformación de la bebida a diferencia de los otros tratamientos, mientras que el autor en su formulación reporto un 15%(w/w) total de materia prima usada para la elaboración de su bebida.

Según López, (2016) la acidez es un valor dependiente del ácido predominante que contiene la muestra. En este caso se toma al ácido ascórbico como predominante debido al alto valor de contenido de este en la bebida, por tanto, la acidez varía desde $0.07 \% \pm 0.02$ para la T1, llegando a su valor más alto de $1.97 \% \pm 0.09$ para T2.

En el caso de la densidad, el tratamiento T1 mostró el valor de densidad más baja, siendo esta de 1.000 ± 0.01 , mientras que la densidad del tratamiento T9 presento el más alto, siendo este de 1.073 ± 0.08 , valor que se encuentran por encima de lo establecido por (Oro y Urcia, 2018), quienes indican valores de densidad de 1,036g/mL para bebidas refrescantes.

Según Caballero & Escobedo, (2019), para una bebida refrescante el valor de solidos solubles óptimo desde el punto de vista nutricional debe ser de 8°Brix, mientras que sensorialmente debe ser de 12°Brix. El tratamiento T9 es el que más está cerca del valor óptimo nutricional, siendo este de 6.5 ± 0.07 . Esto se debe a que la bebida refrescante es edulcorada, por lo que no se le añadió azúcar,

en consecuencia, se obtuvieron valores bajos de solidos solubles debido a que la única fuente de solidos solubles es la que otorgan las frutas.

4.3. Análisis de DPPH

Tabla 15. Cuantificación de actividad antioxidante para los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTO	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$)
T1	188.15 \pm 25.50
T2	224.28 \pm 35.56
T3	1463.47 \pm 40.22
T4	217.62 \pm 31.26
T5	2740.86 \pm 53.78
T6	4353.46 \pm 70.53
T7	4270.54 \pm 62.44
T8	3553.72 \pm 30.42
T9	8952.49 \pm 115.10
T10	2750.39 \pm 48.35

Media de 3 repeticiones \pm DS

En la Tabla 15, se observa que el tratamiento 9 tiene una actividad antioxidante de 8952.49 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ ml}$, el cual tiene la mayor concentración en comparación con los demás tratamientos. En el estudio realizado por Caballero & Escobedo, (2019), se analizó la actividad antioxidante de una bebida refrescante de harina de maracuyá, los autores lograron obtener una concentración alta de 1532.45 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ ml}$, esto es debido a la materia prima que utilizaron para el procesamiento y la cantidad baja en antioxidantes se debió a los cambios de temperaturas de secado que le realizaron a la harina y al pasteurizado de la bebida refrescante.

La diferencia significativa entre los valores que obtuvimos en nuestro trabajo y los del autor es debido a que se utilizó otra materia prima, además del maracuyá, y que el único tratamiento térmico utilizado para la elaboración de la bebida fue la pasteurización.

También podemos observar que existe una diferencia significativa entre el valor máximo de la actividad antioxidante presentada por el tratamiento 10, que es de 8952.49 $\mu\text{mol ET}/100\text{ ml}$, y el tratamiento 1 que es de 188.15 $\mu\text{mol ET}/100\text{ ml}$. Esto se debió a la cantidad y proporción de la materia prima (granada – maracuyá) utilizada en cada tratamiento además de la cantidad de agua utilizada para el procesamiento la bebida es diferente siendo el T1 la que mayor cantidad de agua entre todos los tratamientos mientras que la T9, contiene la menor de todos además de la mayor de todas.

Caballero y Escobedo (2019) explica que esta diferencia en la actividad antioxidante se debe a la cantidad de agua añadida y a los insumos de estandarización en el procesamiento de la bebida mientras que González et al., (2009), expresan que la diferencia se debe a la cantidad de pulpa utilizada. Observamos que, en efecto, el tratamiento 1 en su formulación contiene más agua pero menos pulpa que el tratamiento 9, lo que concuerda con lo dicho por los autores.

Según Morales & Vivas, (2015) en su estudio para la Evaluación de la actividad antioxidante de una bebida refrescante a base de lactosuero adicionada con pulpa de curuba (*Passiflora Mollissima Bailey*), concluyeron que entre más pulpa de curuba se agregue a los tratamientos, más cantidad de antioxidantes tendrá la bebida, esto debido a que la actividad antioxidante de las bebidas cambió según la cantidad de pulpa que se adicionó a la bebida, obteniendo datos desde 2824,8125 μM para la bebida 1 (10 %pulpa) hasta 20230,1375 μM de Trolox para la formulación 3 (20 % pulpa).

Tabla 16. Análisis de Varianza para la Actividad Antioxidante de la bebida refrescante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Zumo de maracuyá	1.69785E7	1	1.69785E7	12.45	0.0024
B:Zumo de granada	3.70059E7	1	3.70059E7	27.14	0.0065
AA	1.67926E6	1	1.67926E6	1.23	0.3293
AB	2.90128E6	1	2.90128E6	2.13	0.2184
BB	476292.	1	476292.	0.35	0.5863
Error total	5.45347E6	4	1.36337E6		
Total (corr.)	6.48629E7	9			

En la tabla de ANOVA para la actividad antioxidante de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia, se realizó un análisis estadístico de las interacciones entre los factores A (Concentración de zumo de maracuyá) y B (Concentración de zumo de granada) además de la influencia de estos en el valor de respuesta. Se puede observar que los factores principales de variación, los cuales se han mencionado anteriormente, tienen un valor – p menor a 0.05, esto quiere decir que, tanto el factor A como el factor B, influyen de manera significativa en las 10 formulaciones en relación a la concentración de actividad de antioxidante a un nivel de 95% de significancia. Se analizó también las interacciones de zumo de granada – zumo de granada (BB), zumo de maracuyá – zumo de granada (AB) y zumo de maracuyá –zumo de maracuyá (AA) obteniendo valores de p mayores a 0.05, indicando que no hay influencia significativa de estas en las 10 formulaciones en relación a su actividad antioxidante a un nivel del 95% de confianza.

También, la ecuación cuadrática obtenida para la actividad antioxidante vs el zumo de maracuyá (A) vs el zumo de granada (B) es la siguiente:

$$\text{Actividad A.} = 684.475 - 428.006A - 298835B + 33.9337A^2 + 34.0663AB + 18.0721B^2$$

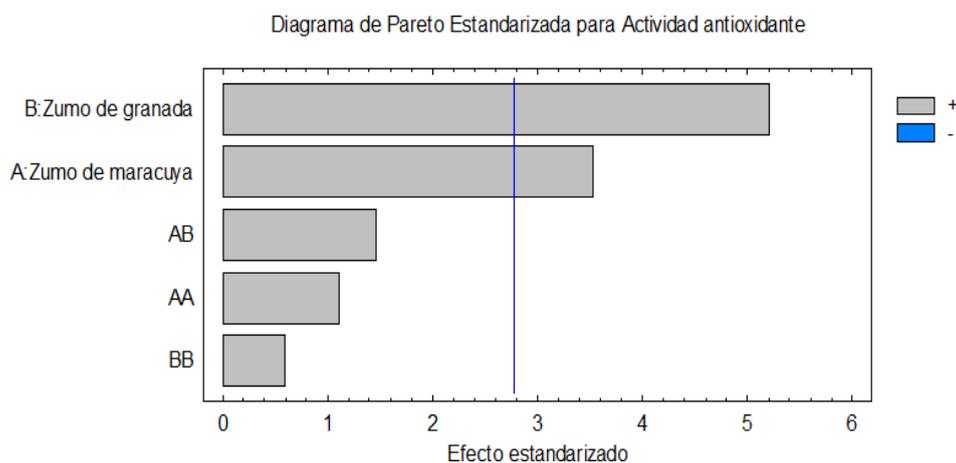


Figura 6. Diagrama de Pareto para Actividad Antioxidante de zumo de granada y maracuyá.

En la figura 6 se da a conocer el nivel de significancia entre los factores de Concentración de zumo de granada y maracuyá con sus respectivas interacciones,

donde se puede observar que la concentración de zumo de granada y la concentración de zumo de maracuyá varían entre si significativamente con respecto a la concentración de actividad antioxidante.

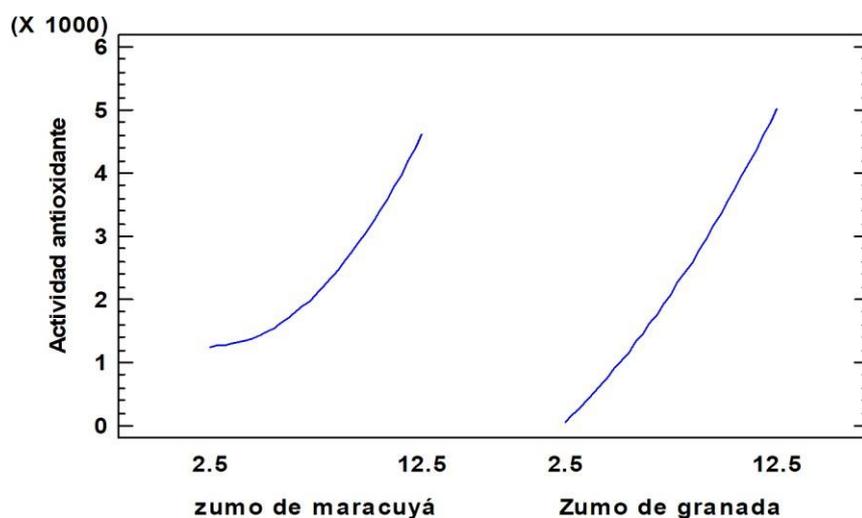


Figura 7. Gráfica de efectos principales para actividad antioxidante de zumo de granada y maracuyá.

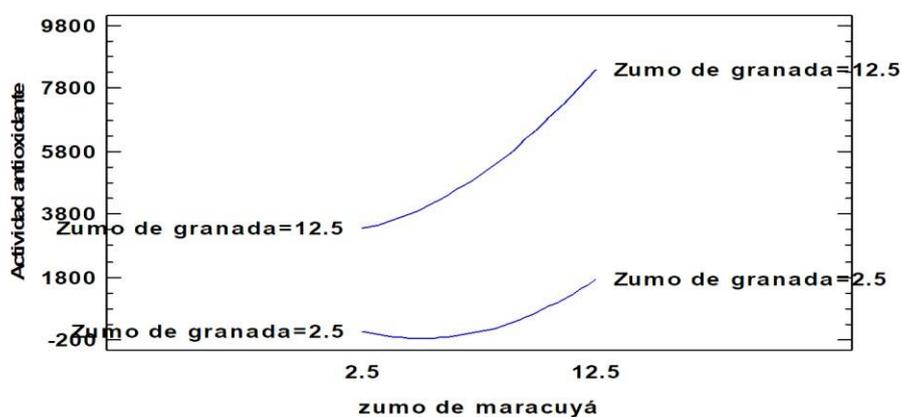


Figura 8. Gráfica de interacción para Actividad antioxidante de zumo de granada y maracuyá

En la figura 7, se puede observar la relación entre las variables % zumo de maracuyá y % zumo de granada con respecto a la actividad antioxidante, visualizándose la influencia de ambos factores con respecto a la variable de respuesta, notándose que el zumo de granada presenta mayor efecto en la actividad antioxidante que el zumo de maracuyá.

En la *figura 8*, se observa que la interacción de ambos factores (zumo de granada y zumo de maracuyá) también es diferente con respecto a la actividad antioxidante, observándose una influencia aún más del % de zumo de granada en la formulación con respecto % zumo de maracuyá, expresándose esta en mayores valores de actividad antioxidante donde existe mayor % zumo de granada.

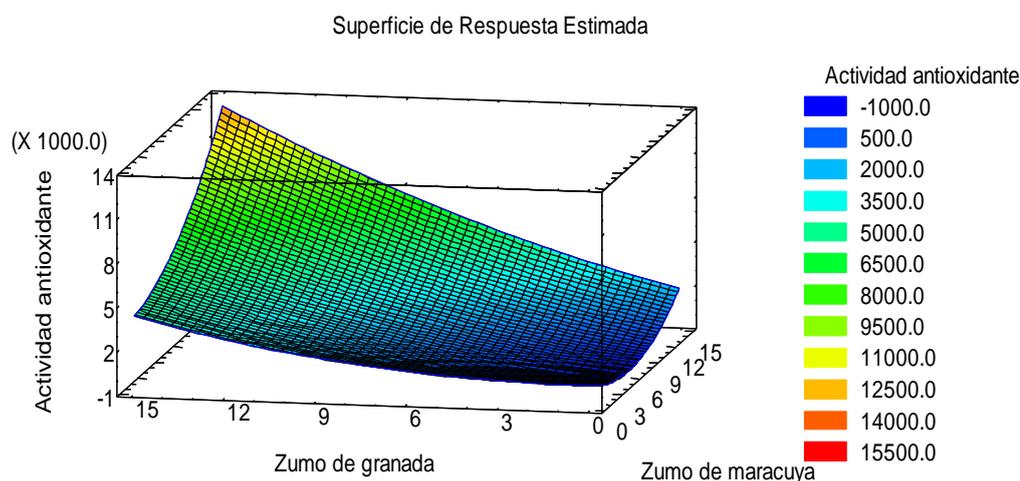


Figura 9. Superficie de respuesta para la Actividad Antioxidante de zumo de granada y maracuyá.

En la Figura 9, se observa la interacción de los dos factores (concentración de zumo de granada y concentración de zumo de maracuyá) en relación a la variable respuesta de la actividad antioxidante de las 10 formulaciones. En la figura se observa también que los valores óptimos para la variable respuesta son a gran concentración de zumo de granada y zumo de maracuyá, donde se observa que en los valores más altos de concentración de zumo de maracuyá y granada se encuentran el valor más alto de actividad antioxidante.

4.4. Determinación de polifenoles totales de los diferentes tratamientos

Tabla 17. Cuantificación de Polifenoles totales para cada tratamiento.

TRATAMIENTO	Polifenoles (mgEAG/100g)
T1	1.292±0.03
T2	6.888±0.01
T3	20.272±0.02
T4	12.873±0.01
T5	24.589±0.05
T6	29.380±0.01
T7	29.818±0.03
T8	38.433±0.01
T9	49.334±0.01
T10	24.605±0.12

Media de 3 repeticiones ± DS

En la Tabla 17, se detalla la cuantificación de polifenoles totales de cada tratamiento de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia, asimismo se observa que el tratamiento 9 reporta el valor de 49.334 mg EAG/100g, siendo esta la de mayor contenido de polifenoles totales con respecto a los 9 tratamiento. Para el valor mínimo se observa que el tratamiento 1 reporta 1.292 mg EAG/100g, por ende, se analizó estadísticamente para determinar la importancia de los factores de estudio y las variables de respuesta. En el estudio realizado por Fernández, (2018), para una bebida funcional a base de extracto de *Beta vulgaris* L. Y *Equisetum arvense* L, se obtuvieron datos de 304.20 - 305.5 mg A.A /100 g de polifenoles totales, mientras que Caballero y Escobedo, (2019) reporta en su bebida refrescante a base de cascara demaracuyá un valor máximo de 9.11 mg A.A/100g de polifenoles totales.

El valor máximo encontrado en nuestra bebida refrescante a base de maracuyá y granada edulcorada con estevia, fue de 49.334 mg A.A /100 g., el cual es mayor al reportado en la bebida refrescante a base de cáscara de maracuyá, pero menor a la bebida funcional. Esto se debe a que la bebida refrescante a base de maracuyá y granada posee un 25% de zumo respecto a su volumen, en comparación a la bebida de la bebida funcional, la cual posee un 50% de extracto respecto a su volumen y a la bebida refrescante de cáscara de maracuyá que solo posee 2.5% de cáscara con respecto a su volumen total.

Tabla 18. Análisis de Varianza para los Polifenoles totales contenidos en la bebida refrescante

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Zumo de maracuyá	565.472	1	565.472	80.73	0.0008
B: Zumo de granada	1229.6	1	1229.6	175.55	0.0002
AA	0.614916	1	0.614916	0.09	0.7818
AB	3.56832	1	3.56832	0.51	0.5148
BB	2.44258	1	2.44258	0.35	0.5866
Error total	28.0175	4	7.00437		
Total (corr.)	1829.38	9			

En la tabla 18 de ANOVA para la cuantificación de polifenoles, se analizó estadísticamente las interacciones entre los factores A (Concentración de zumo de maracuyá) y B (Concentración de zumo de granada) y la influencia de estos en el valor de respuesta. En este caso se observa que los componentes importantes de variación, los cuales se han mencionado anteriormente, tienen un valor – p menor a 0.05, esto quiere decir que, tanto el factor A como el factor B, influyen de forma significativa en los 10 tratamientos en relación con su concentración de polifenoles totales a un nivel de 95% de confianza.

Además, la ecuación cuadrática obtenida para los polifenoles vs el zumo de maracuyá (A) vs el zumo de granada (B) es la siguiente:

$$\text{Polifenoles} = -9.64518 + 196626A - 196586B$$

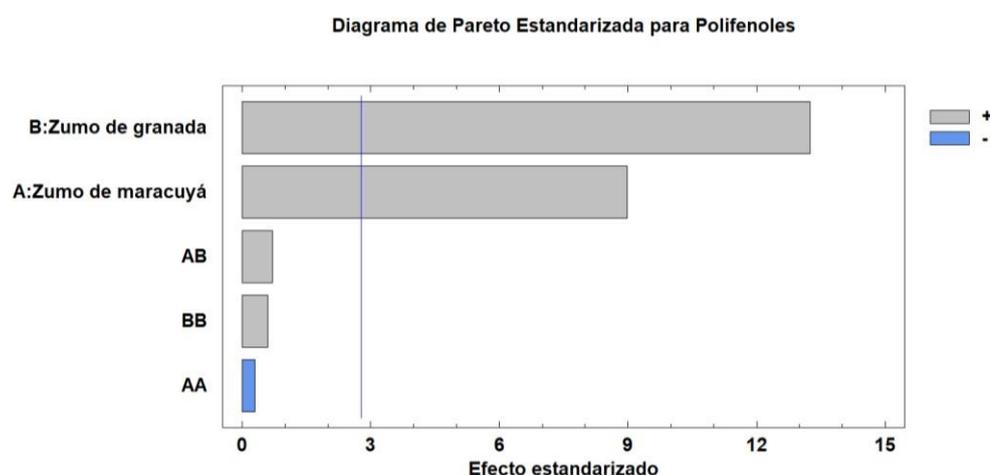


Figura 10. Diagrama de Pareto estandarizado para polifenoles contenidos en zumos de granada y maracuyá.

En la Figura 10, se observa la significancia entre los factores de Concentración de zumo de granada y maracuyá con sus respectivas interacciones, ambas presentan el mismo comportamiento mostrado en los resultados de la actividad antioxidante, es decir, la concentración de zumo de granada y la concentración de zumo de maracuyá varían entre si significativamente con respecto a los polifenoles totales.

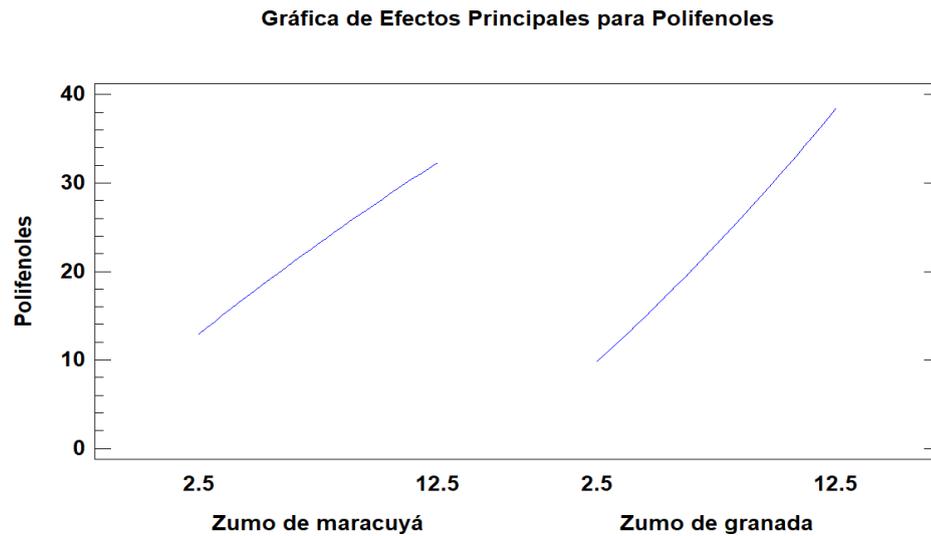


Figura 11. Gráfica de efectos principales para Polifenoles totales *contenidos en zumos de granada y maracuyá.*

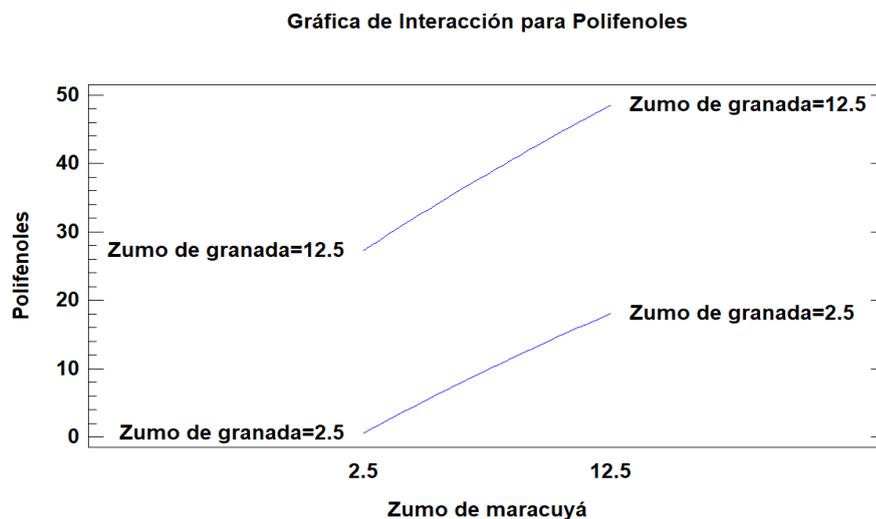
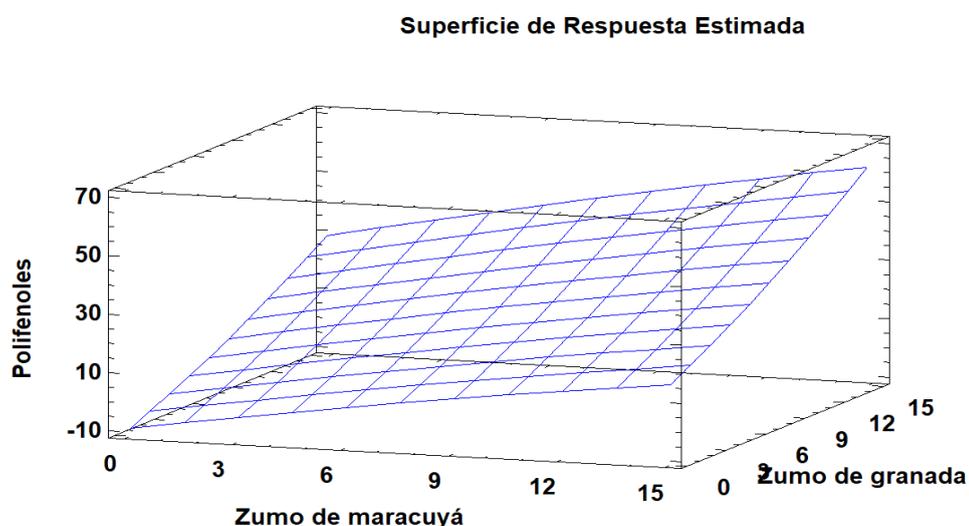


Figura 12. Gráfica de efectos principales para polifenoles totales de zumo de granada y maracuyá.

La Figura 11, muestra la relación entre las variables % zumo de maracuyá y % zumo de granada con respecto a los polifenoles, visualizándose la influencia de ambos factores con respecto a la variable de respuesta, notándose que el zumo de granada presenta mayor efecto en los polifenoles que el zumo de maracuyá.

En la figura 12, se observa que la influencia de ambos factores (zumo de granada y zumo de maracuyá) también es diferente con respecto a la actividad antioxidante, observándose una influencia aún más del % de zumo de granada en la formulación con respecto % zumo de maracuyá, expresándose esta en mayores valores de actividad antioxidante donde existe mayor % zumo de granada. Estos resultados sugieren superficialmente que, la granada como materia prima, tiene mayor concentración de polifenoles en su estado natural que el maracuyá y por ende es mayor su influencia en estas características en la bebida.

Figura 13. Superficie de respuesta para Polifenoles totales contenidos en zumos de granada y maracuyá.



En la Figura 13, se observa la interacción de los dos factores concentración de zumo de granada y concentración de zumo de maracuyá respecto a la variable respuesta de concentración de polifenoles de los 10 tratamientos realizados. En esta también podemos distinguir que los valores óptimos para la variable respuesta son a mayor concentración de zumo de granada y zumo de maracuyá,

ya que en los valores más altos de concentración de zumo de maracuyá y granada se encuentran el valor más alto de concentración de polifenoles.

4.5. Análisis Sensorial

Los tratamientos de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia, se sometieron a un análisis sensorial por atributos a nivel laboratorio (color, olor, sabor y aceptación), mediante una escala hedónica de puntuación en la ficha y un panel de 30 jueces.

4.5.1. Color

Se analizó sensorialmente y estadísticamente el atributo color a los 10 tratamientos, con la finalidad de saber la significancia que tiene el atributo de color en relación a cada tratamiento de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia.

Tabla 19. Análisis de varianza para color de la bebida refrescante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>de Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	250.697	9	27.8552	89.53	0.0000
B: PANELISTAS	19.0967	29	0.658506	2.12	0.0011
RESIDUOS	81.2033	261	0.311124		
TOTAL (CORREGIDO)	350.997	299			

En la Tabla 19, se detalla el ANOVA para el atributo de color de la bebida refrescante, obteniendo una influencia significativa entre los tratamientos y los panelistas con respecto al color, esto se debe a que tiene un valor – p menor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%. Para el análisis estadístico se evaluó cuál de los 10 tratamientos tiene una media mejor que los demás.

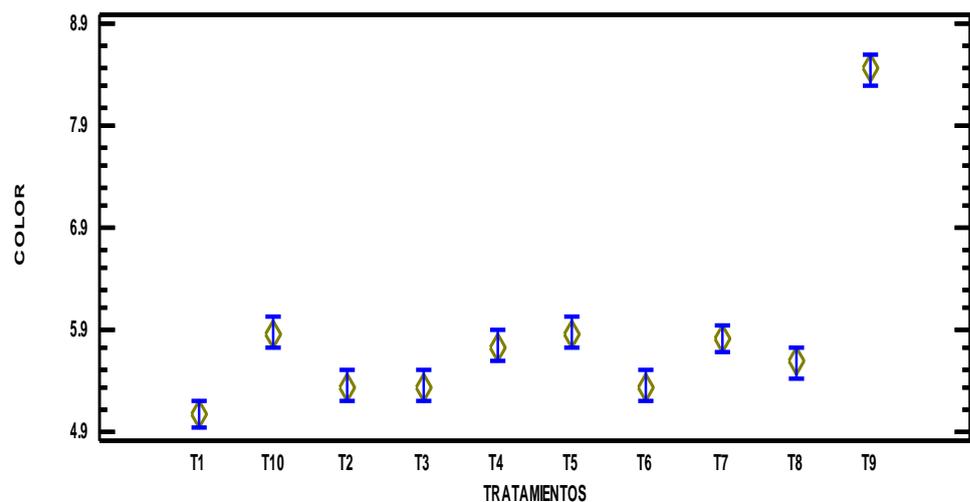


Figura 14. Gráfico de medias del atributo Color contenido en zumos de granada y maracuyá.

En la *Figura 14*, en el gráfico de medias a un 95% de confianza, se observa que el tratamiento T9: 12.5% (w/w concentración de granada) - 12.5%(w/w concentración de maracuyá), es el tratamiento mayor aceptado por evaluación de los panelistas en relación al atributo de color, no obstante el T1: 2.5% (w/w concentración de maracuyá) – 2.5%(w/w concentración de granada), es el tratamiento con menor media con respecto al atributo de color, ya que el color de esta formulación no fue de agrado para los panelistas.

4.5.2. Olor

Se realizó un análisis sensorial y análisis estadístico del atributo de olor a los 10 tratamientos, para saber la significancia que tiene el atributo de olor respecto a cada tratamiento de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia.

Tabla 20. Análisis de varianza para olor de la bebida refrescante

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	271.07	9	30.1189	53.98	0.0000
B: PANELISTAS	35.47	29	1.2231	2.19	0.0007
RESIDUOS	145.63	26	0.557969		
TOTAL (CORREGIDO)	452.17	29			
		9			

En la Tabla 20, se detalla el ANOVA para el atributo de olor de la bebida refrescante, se determinó estadísticamente la influencia significativa entre las formulaciones y los panelistas con respecto al atributo de olor ya que tiene un valor – p menor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%. La significancia de varianza de medias fue para cada uno de los 10 tratamientos de la bebida refrescante.

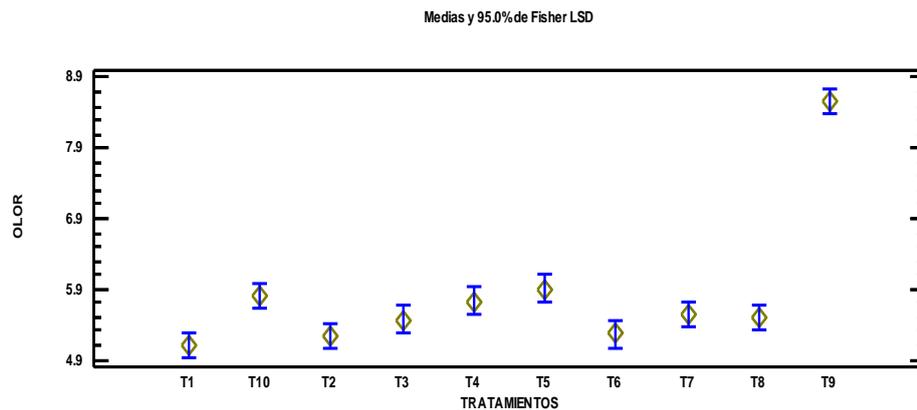


Figura 15. Gráfico de medias del atributo Olor de los zumos de granada y maracuyá.

En la Figura 15, en el gráfico de medias del atributo de Olor a un 95% de confianza, se observa que el tratamiento T9: 12.5% (w/w concentración de granada) – 12.5% (w/w concentración de maracuyá), es la formulación de mejor aceptación en relación al atributo de olor, este tratamiento presentó una alta puntuación por parte de los panelistas, no obstante el T1: 2.5% (w/w concentración de maracuyá) – 2.5% (w/w concentración de granada), es la formulación con menor media en relación con los demás tratamientos, esto se debe a que el olor no fue de agrado para los panelistas.

4.5.3. Sabor

Se realizó la evaluación sensorial y análisis estadístico del atributo de sabor para los 10 tratamientos, para conocer la significancia que tiene el atributo de sabor respecto a las formulaciones de la bebida refrescante.

Tabla 21. Análisis de varianza para sabor de la bebida refrescante edulcorada

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	555.23	9	61.6922	109.63	0.0000
B: PANELISTAS	17.2967	29	0.596437	1.06	0.3878
RESIDUOS	146.87	26	0.56272		
TOTAL (CORREGIDO)	719.397	29			
		<u>9</u>			

En la Tabla 21, se detalla el ANOVA para el atributo de sabor de la bebida refrescante, se determinó estadísticamente la influencia significativa entre los tratamientos con respecto al atributo de sabor dado que tuvo un valor p menor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%. Estadísticamente se evaluó la significancia de nivel de cada formulación, luego se hizo una evaluación de medias del atributo de sabor.

Se determinó también que los panelistas no tuvieron una influencia significativa con respecto al atributo de sabor dado que tuvo un valor p mayor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%.

Según Agudelo, (2018), los panelistas deben tener nociones básicas o un entrenamiento básico para que estos puedan tener una influencia con respecto a la calificación del producto a elaborar. Debido a que nuestros panelistas no fueron entrenados y escogido aleatoriamente se puede observar su nula influencia con respecto al atributo sabor.

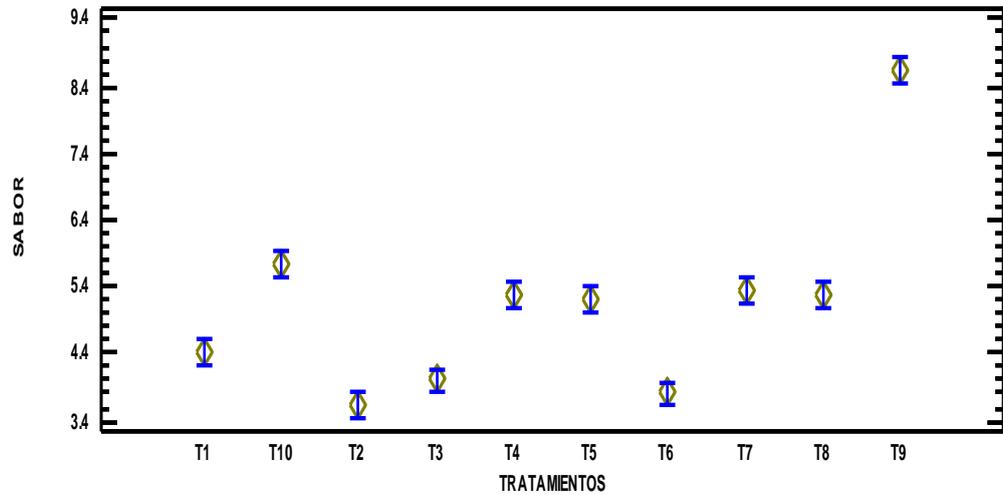


Figura 16. Gráfico de medias del atributo Sabor de los zumos de granada y maracuyá.

En la Figura 16, se detalla el gráfico de medias con un nivel de confianza de 95% de confianza, en la cual se observa que el tratamiento T9: 12.5% (w/w concentración de granada) – 12.5%(w/w concentración de maracuyá), es la formulación con mayor aceptación respecto al atributo de olor, este tratamiento presentó el mayor puntaje por parte de los panelistas, mientras que T2: 7.5% (w/w concentración de maracuyá) – 2.5%(w/w concentración de granada), es el tratamiento con menor media a comparación con los demás tratamientos, esto se debe a que el sabor no fue el agrado para los panelistas.

4.5.4. Aceptación general

Se analizó sensorialmente y estadísticamente el atributo de aceptación general a los 10 tratamientos con la finalidad de conocer la significancia de la aceptación general en relación a cada tratamiento de la bebida refrescante a base de granada y maracuyá edulcorada con estevia.

Tabla 22. Análisis de varianza para aceptación de la bebida refrescante

Fuente	Suma de Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: TRATAMIENTOS	436.403	9	48.4893	146.31	0.0000
B: PANELISTAS	16.3367	29	0.563333	1.70	0.0016
RESIDUOS	86.4967	26	0.331405		
TOTAL (CORREGIDO)	539.237	29			
		<u>9</u>			

En la Tabla 22, se detalla el ANOVA para la aceptabilidad general de la bebida refrescante, se determinó estadísticamente la influencia significativa entre los tratamientos y los panelistas con respecto al atributo de aceptabilidad general ya que tiene un valor – p menor a 0.05 con un nivel de confianza del 95%; esta significancia en la aceptabilidad general se debió a cada tratamiento analizado y entre cada nivel de este.

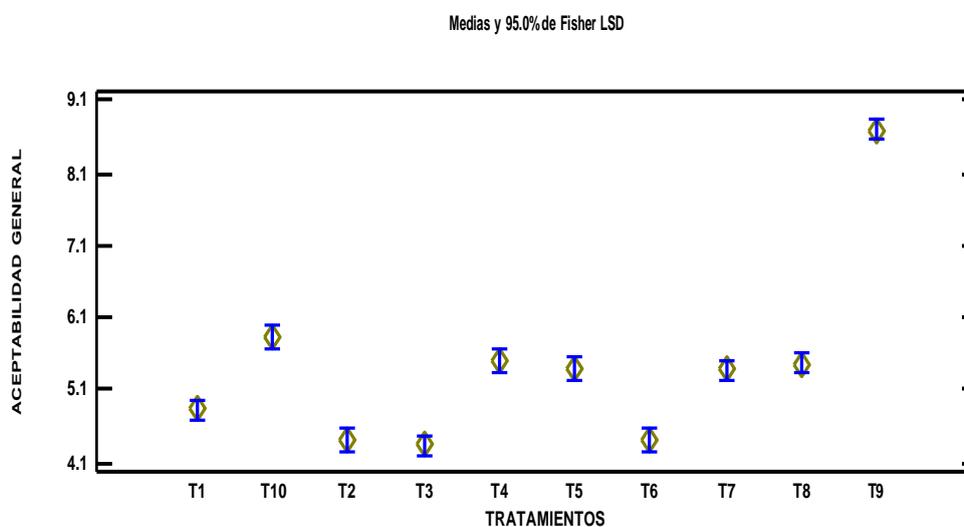


Figura 17. Gráfico de medias del atributo de aceptación de los zumos de granada y maracuyá.

En la Figura 17, en el gráfico de medias a un 95% de confianza, observamos que el tratamiento T9: 12.5% (w/w concentración de granada) – 12.5% (w/w concentración de maracuyá), es la formulación con mayor aceptación respecto al atributo de aceptabilidad general, este tratamiento presentó el mayor puntaje por parte de los panelistas, mientras que T3:

12.5% (w/w concentración de maracuyá) – 2.5%(w/w concentración de granada), es el tratamiento con menor media con respecto a los otros tratamiento, esto se debe a que este tratamiento no fue de buena aceptabilidad para los panelistas.

Según Agudelo, (2018), los ensayos de aceptación general se utilizan conjuntos representativos de los consumidores potenciales del producto, además, este grupo representativo no deben saber sobre el estudio que se ha realizado, pero si deberían tener nociones básicas de cómo se realiza la evaluación sensorial, esta parte fue esencial en la realización del análisis sensorial debido a que tiene una significancia final en el resultado.

Existe una dependencia en la cantidad de evaluadores sobre el entrenamiento de los panelistas, el cual podría influir significativamente en el análisis de atributo de olor, color, sabor y aceptación. En el estudio la cantidad de panelistas evaluadores fue de 30 además de que estos son semi entrenados, lo que expreso diferencias significativas en el análisis estadístico de cada aspecto evaluado pudiendo obtener diferencias estadísticamente visibles entre la formulación más agradable y la menos agradable formulación cada una de las características evaluadas. (Agudelo, 2018).

Según Morales y Vivas, (2015), se recomienda para el análisis sensorial que el número panelistas debe ser mayor a 100 panelistas, de preferencia de 100 a 150 panelistas para tener un resultado representativo respecto a la población; también se puede ser de 25 a 30 panelistas para una evaluación a nivel de laboratorio.

Para el presente trabajo se realizó el análisis sensorial con 30 panelistas, respaldando teóricamente lo recomendado por los autores dado que el producto se hizo a nivel laboratorio como prueba de estudio y no con fines de comercialización.

V. CONCLUSIONES

- ❖ El tratamiento 9 (12.5% concentración granada y 12.5% concentración maracuyá), presentó un alto contenido de actividad antioxidante respecto a los demás tratamientos, lográndose confirmar la hipótesis planteada en la investigación.
- ❖ Existe una relación cuadrática proporcional entre la actividad antioxidante y las variables zumo de granada y zumo de maracuyá.
- ❖ Se concluye que el zumo de granada presenta mayor aporte que el zumo de maracuyá en función a la actividad antioxidante y los contenidos de polifenoles totales.

VI. RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda utilizar diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en bebidas refrescantes.
- ❖ Realizar estudios microbiológicos para determinar que agentes microbiológicos se encuentran presentes en el producto.
- ❖ Se recomienda que se hagan estudios sobre otros tipos de granada y maracuyá que se hayan utilizado en elaboración de bebidas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS Y VIRTUALES

- Agudelo Cuellar, I. Y. (2018). Propuesta para la implementación del laboratorio de análisis sensorial para liberación de jarabes terminados y bebidas no alcohólicas en el área de calidad de una empresa multinacional de consumo masivo. <https://hdl.handle.net/10901/15892>
- Akpınar-Bayızit, A., Özcan, T., & Yılmaz-Ersan, L. (2012). The therapeutic potential of pomegranate and its products for prevention of cancer. *W:AG Georgakilas (red.), Cancer prevention—from mechanisms to translational benefits*, 331-373.
- Al-Mansour, B., Kalaivanan, D., Suryanarayana, M. A., Umesha, K., & Nair, A. K. (2018). Influence of organic and inorganic fertilizers on yield and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *J. Spices & Aromatic Crops*, 27(1), 38-44. doi: 10.25081/josac.2018.v27.i1.1013
- Arboleda, A. M., Arroyo, C., & Alonso, J. C. (2021). Creating psychometric scales for perceptual assessment of fruit juices' refreshing and thickness attributes. *Appetite*, 163, 105232. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105232>
- Basharat, S., Huang, Z., Gong, M., Lv, X., Ahmed, A., Hussain, I.,& Liu, L. (2021). A review on current conventional and biotechnical approaches to enhance biosynthesis of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana*. 29(2), 92-104. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2020.10.018>
- Begoña, B., Gomez-Cordoves, C., Paz, R., Peña, A., Saenz, C., Sepulveda, E. (2010). Influence of the genotype on the anthocyanin composition, antioxidant capacity and color of Chilean pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. (en línea). Consultado 8 ene. 2020. Disponible en <http://www.scielo.cl/pdf/chiljar/v70n1/AT05.pdf>
- Brighenti, V., Groothuis, S. F., Prencipe, F. P., Amir, R., Benvenuti, S., & Pellati, F. (2017). Metabolite fingerprinting of *Punica granatum* L.(pomegranate) polyphenols by means of high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization-mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography a*, 1480, 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.017>
- Caballero, M., & Escobedo, A. (2019). Actividad antioxidante de una bebida refrescante elaborado a partir de harina de cáscara de maracuyá

- (*Passiflora edulis*). *Título profesional, Universidad Nacional del Santa*.
Repositorio de tesis de la Universidad Nacional del Santa.
<http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/3385>
- Calitri, G., Bollella, P., Ciogli, L., Tortolini, C., Mazzei, F., Antiochia, R., & Favero, G. (2020). Evaluation of different storage processes of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims) using a new dual biosensor platform based on a conducting polymer. *Microchemical Journal*, 154, 104573. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104573>
- Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2015). Effect of *Stevia rebaudiana* addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. *Food Chemistry*, 184, 122-130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.095>
- Castro, J., Paredes, C., & Muñoz, D. (2010). CULTIVO DE MARACUYÁ *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. Gerencia Regional Agraria La Libertad, Trujillo, Perú. http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL%20DE%20L%20CULTIVO%20DE%20MARACUYA_0.pdf
- Chandrasekhar, D., Jose, S. M., Jomy, A., Joseph, A., Pradeep, A., & Geoji, A. S. (2019). Antiglycation property of *passiflora edulis* f. *Flavicarpa* deg. foliage in type 2 diabetic patients. *Clinical Epidemiology and Global Health*, 7(3), 409-412. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2018.07.002>
- Chen, L. Y., Cheng, C. W., & Liang, J. Y. (2015). Effect of esterification condensation on the Folin–Ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food chemistry*, 170, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.038>
- Chiroque Castro, J. C., Dioses Agurto, E. J., & Masias Infante, T. E. (2019). Elaboración y caracterización de una bebida funcional a partir de la granada (*Punica granatum* L.), edulcorado con Estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en la ciudad de Piura–Perú, 2019. <http://repositorio.unp.edu.pe/handle/UNP/1867>
- Condori Choque, M. G. (2016). Estudio químico de la cáscara de la especie "*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*" (Maracuyá) para su aprovechamiento

en la industria. La Paz, Bolivia.
<http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/9222>

- Da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Colomeu, T. C., Batista, Â. G., Meletti, L. M., Paschoal, J. A. R., ... & de Lima Zollner, R. (2013). Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: in vitro and in vivo study. *Food research international*, 53(2), 882-890.
- Department of Agriculture (2015). Basic Report 09286, Pomegranates, raw (en línea). Revisado 22 de enero de 2021. Disponible en <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2359?manu=&fgcd=>
- Do Nascimento, C. A., Kim, R. R., Ferrari, C. R., de Souza, B. M., Braga, A. S., & Magalhães, A. C. (2021). Effect of sweetener containing Stevia on the development of dental caries in enamel and dentin under a microcosm biofilm model. *Journal of Dentistry*, 103835. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2021.103835>
- Durán A, Samuel, Rodríguez N, María del Pilar, Córdón A, Karla, & Record C, Jiniva. (2012). Estevia (stevia rebaudiana), edulcorante natural y no calórico. *Revista chilena de nutrición*, 39(4), 203-206. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182012000400015>
- Echavarría, A. P., & Matute, N. L. (2017). Evaluación fisicoquímica y capacidad antioxidante de moringa (*Moringa oleífera*) y Maracuyá (*Passiflora edulis*). *Revista CUMBRES*, 3(2), 09-16
- Escobar, B., & Quispe, L. (2017). *Actividad antibacteriana de los extractos de acetato de etilo y acetona del Zumo de Punica granatum L. "granada"* (Doctoral dissertation, Tesis]. Lima, Universidad Norbert Wiener). <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/930>
- Fernandes, L., Pereira, J. A., López-Cortés, I., Salazar, D. M., Ramalhosa, E., & Casal, S. (2015). Fatty acid, vitamin E and sterols composition of seed oils from nine different pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars grown in Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.11.006>
- Gosset-Erard, C., Zhao, M., Lordel-Madeleine, S., & Ennahar, S. (2021). Identification of punicalagin as the bioactive compound behind the antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peels. *Food*

Chemistry, 352,129396.<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129396>
96

- Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2012). A method for pomegranate seed application in food industries: seed oil encapsulation. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 639-652.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.06.001>
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S., & Rai, G. K. (2013). Nutritional and therapeutic values of *Stevia rebaudiana*: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(46), 3343-3353.
<https://doi.org/10.5897/JMPR2013.5276>
- Guzmán, J. (2014). Evaluación de la cinética de degradación térmica de vitamina c en el jugo de papaya (*Carica Papaya L.*) y maracuyá (*Passiflora Edulis*). Tesis pregrado. Ayacucho, Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Habibnia, M., Ghavami, M., Ansaripour, M., & Vosough, S. (2012). Chemical evaluation of oils extracted from five different varieties of Iranian pomegranate seeds.
- Hernandez M (2017), Antioxidante natural de la granada, Composición nutricional de la granada Pag.33. Recuperado de:
<http://www.zumodegranada.com/punicalagina/#4/z>
- Hmid, I., Elothmani, D., Hanine, H., Oukabli, A., & Mehinagic, E. (2017). Comparative study of phenolic compounds and their antioxidant attributes of eighteen pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars grown in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2675-S2684.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.011>
- Infoagro, 2010. Información sobre agricultura, formas de cultivo y estadísticas mundiales de producción.
- Ilias, N., Hamzah, H., Ismail, I. S., Mohidin, T. B. M., Idris, M. F., & Ajat, M. (2021). An insight on the future therapeutic application potential of *Stevia rebaudiana* Bertoni for atherosclerosis and cardiovascular diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112207.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112207>
- Jaiswal, V., DerMarderosian, A., & Porter, J. R. (2010). Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum*

- L.). *Food Chemistry*, 118(1), 11-16.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.095>
- Jiménez, A. M. (2010). Estudio de los cambios físicos y químicos de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims fo. *edulis*) durante la maduración. *Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia*.
- Kalantari, S., Roufegarinejad, L., Pirsá, S., Gharekhani, M., & Tabibiazar, M. (2021). β -Cyclodextrin-assisted extraction of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A new strategy for anthocyanin copigmentation. *LWT*, 151, 112136.
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., & Hamid, A. A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food chemistry*, 206, 156-166.
- Khodabakhshian, R. (2019). Feasibility of using Raman spectroscopy for detection of tannin changes in pomegranate fruits during maturity. *Scientia Horticulturae*, 257, 108670.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108670>
- Kuskoski, E. M., García Asuero, A., Troncoso González, A. M., & Fett, R. (2006). Capacidad antioxidante (ORAC FL) de pulpas de frutos congelados. *Nutrire*, 31 (1), 53-64. <http://hdl.handle.net/11441/67621>
- Li, X., Liu, L., & Pischetsrieder, M. (2017). Pomegranate (*Punica granatum* L.) wine polyphenols affect Nrf2 activation and antioxidant enzyme expression in human neuroblastoma cells (SH-SY5Y). *Journal of Functional Foods*, 38, 140-150.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.08.048>
- Liu, G., Xu, X., Gong, Y., He, L., & Gao, Y. (2012). Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on chemical composition and free radical-scavenging activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Food and bioproducts processing*, 90(3), 573-578.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.11.004>
- López, L. (2010). Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela. Colombia:

- Revista Alimentos Hoy. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000086&pid=S1692-3561201300020000200006&lng=es
- Marchi, R. C., Campos, I. A., Santana, V. T., & Carlos, R. M. (2022). Chemical implications and considerations on techniques used to assess the in vitro antioxidant activity of coordination compounds. *Coordination Chemistry Reviews*, 451, 214275. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214275>
- Mditshwa, A., Magwaza, L. S., Tesfay, S. Z., & Opara, U. L. (2017). Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. *Scientia Horticulturae*, 218, 95-104.
- Ministerio de Agricultura (2019). LA GRANADA: Nueva Estrella de las Agroexportaciones Peruanas, <https://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/MINAGRI/110/1/Informe-Tecnico-de-Granada.pdf>
- Morales Fernández, A. J., & Vivas Rojas, Y. A. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante de una bebida refrescante a base de lactosuero adicionada con pulpa de curuba (*Passiflora Mollissima* Bailey), durante su almacenamiento. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/12/
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). New approach to the interaction between Folin-Ciocalteu reactive and sugars during the quantification of total phenols. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 20(2), 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>
- Navruz, A., Türkyılmaz, M., & Özkan, M. (2016). Colour stabilities of sour cherry juice concentrates enhanced with gallic acid and various plant extracts during storage. *Food chemistry*, 197, 150-160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.098>
- Nazca, R. (2019). Efecto de la concentración de stevia (*Stevia rebaudiana* B.) en polvo sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales en una bebida a base de membrillo (*Cydonia oblonga*) y yacón (*Smallanthus*

- conchifolius) (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.
- Nettleton, J. E., Klancic, T., Schick, A., Choo, A. C., Shearer, J., Borgland, S. L., ... & Reimer, R. A. (2019). Low-dose stevia (rebaudioside A) consumption perturbs gut microbiota and the mesolimbic dopamine reward system. *Nutrients*, *11*(6), 1248. <https://doi.org/10.3390/nu11061248>
- Orjuela-Baquero, N. M., Moreno-Chacón, L., Hernández, M. S., & Melgarejo, L. M. (2011). Caracterización fisicoquímica de frutos de gulupa (*Passiflora edulis* Sims) bajo condiciones de almacenamiento. *Capítulo*, *3*, 33-44.
- Oro Beltrán, J. B., & Urcia Piedra, S. M. (2018). Formulación de una bebida funcional a base de pulpa de aguaymanto (*Physalis peruviana*) y camu camu (*Myrciaria dubia*) edulcorado con stevia. <http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/3085>
- Pasquel, A.; Marqués, M. y Meireles, A. (2001). Extracción de la estevia. *Revista Conocimiento*. *24*(2): 15–28.
- Phamiwon, Z. A. S., & John, S. (2015). Diabetes and medicinal benefits of *Passiflora edulis*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, *5*(3), 453-65.
- Reyes García, M., Gómez-Sánchez Prieto, I., & Espinoza Barrientos, C. (2017). Tablas peruanas de composición de alimentos. Instituto Nacional de Salud. <http://repositorio.ins.gob.pe/handle/INS/1034>
- Ribeiro, D. N., Alves, F. M. S., dos Santos Ramos, V. H., Alves, P., Narain, N., Vedoy, D. R., & de Jesus, E. (2020). Extraction of passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) pulp oil using pressurized ethanol and ultrasound: Antioxidant activity and kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, *165*, 104944. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104944>
- Rotta, E. M., Rodrigues, C. A., Jardim, I. C. S. F., Maldaner, L., & Visentainer, J. V. (2019). Determination of phenolic compounds and antioxidant activity in passion fruit pulp (*Passiflora* spp.) using a modified QuEChERS method and UHPLC-MS/MS. *LWT*, *100*, 397-403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.052>

- Shankar K , Mehendale HM . Oxidative Stress, In: Wexler P, editor. Encyclopedia of Toxicology (Third Edition). Oxford: Academic Press; 2014. pp. 735–7, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00345-6>
- Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2021). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, 131487. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487>
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2018). Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*Punica granatum* L.) peel: A review. *Food chemistry*, 261, 75-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.039>
- Singh, P., & Dwivedi, P. (2019). Micronutrients zinc and boron enhance stevioside content in *Stevia rebaudiana* plants while maintaining genetic fidelity. *Industrial Crops and Products*, 140, 111646. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111646>
- Tarrega, Amparo, Johanna Marcano, and Susana Fiszman. "Yogurt viscosity and fruit pieces affect satiating capacity expectations." *Food Research International* 89 (2016): 574-581. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.011>
- Topalović, A., Knežević, M., Gačnik, S., & Mikulic-Petkovsek, M. (2020). Detailed chemical composition of juice from autochthonous pomegranate genotypes (*Punica granatum* L.) grown in different locations in Montenegro. *Food Chemistry*, 330, 127261.
- Trelles Juárez, S. F. (2019). Infusion a base de flor de overal (*Cordia Lútea* Lam) edulcorado con stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni).
- Turfan, Ö., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., & Özkan, M. (2011). Anthocyanin and colour changes during processing of pomegranate (*Punicagranatum* L., cv. Hicaznar) juice from sacs and whole fruit. *Food Chemistry*, 129(4), 1644-1651. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.024>
- Valarezo Concha, A., Valarezo Cely, O., Mendoza García, A., Alvarez, H., & Vásquez, W. (2014). El cultivo de maracuyá: Manual técnico para su

manejo en el Litoral ecuatoriano.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1159>

- Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M., & Zamani, Z. (2012). Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food chemistry*, 130(2), 267-272.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.031>
- Villaño, D., Masoodi, H., Marhuenda, J., García-Viguera, C., & Zafrilla, P. (2021). Stevia, sucralose and sucrose added to a maqui-Citrus beverage and their effects on glycemic response in overweight subjects: A randomized clinical trial. *LWT*, 144, 111173.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111173>
- Yan, C., Rizwan, H. M., Liang, D., Reichelt, M., Mithöfer, A., Scholz, S. S., ... & Chen, F. (2021). The effect of the root-colonizing *Piriformospora indica* on passion fruit (*Passiflora edulis*) development: Initial defense shifts to fitness benefits and higher fruit quality. *Food Chemistry*, 129671. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129671>
- Yepes, A., Ochoa-Bautista, D., Murillo-Arango, W., Quintero-Saumeth, J., Bravo, K., & Osorio, E. (2021). Purple passion fruit seeds (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) as a promising source of skin anti-aging agents: Enzymatic, antioxidant and multi-level computational studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102905.
- Yu, H., Yang, G., Sato, M., Yamaguchi, T., Nakano, T., & Xi, Y. (2017). Antioxidant activities of aqueous extract from *Stevia rebaudiana* stem waste to inhibit fish oil oxidation and identification of its phenolic compounds. *Food chemistry*, 232, 379-386.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.004>
- Zeghad, N., Ahmed, E., Belkhiri, A., Vander Heyden, Y., & Demeyer, K. (2019). Antioxidant activity of *Vitis vinifera*, *Punica granatum*, *Citrus aurantium* and *Opuntia ficus indica* fruits cultivated in Algeria. *Heliyon*, 5(4), e01575.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01575>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1.

MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICO

- **Determinación de Humedad**

Para determinar la humedad se siguió el Método de la AOAC 934.06, este método consistió en la pérdida de peso que sufre la muestra por calefacción hasta obtener el peso constante. La fórmula para calcular el porcentaje de humedad es:

$$\% \text{Humedad} = \frac{(M - m) * 100}{M}$$

Donde:

M = Peso inicial en gramos de la muestra

m = Peso en gramos del producto seco.

- **Determinación de densidad**

La densidad de la bebida se determinó mediante el método 962.37 de la (AOAC, 2016), empleando como instrumento un picnómetro. La fórmula es la siguiente:

$$\rho = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} * \rho_{H_2O}$$

Dónde:

m_1 = masa en gramos del picnómetro vacío.

m_2 = masa en gramos del picnómetro c/H₂O.

m_3 = masa en gramos del picnómetro con la solución.

ρ_{H_2O} = Densidad del agua (g/ml).

- **Determinación de Acidez titulable:**

Se determinó mediante el método de AOAC 947.05, expresando en términos de porcentaje el ácido ascórbico. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{P} / \text{V} = \frac{(\text{VmL} \times \text{N}) \text{vte} \times \text{meq ácido cítrico}}{\text{g Mx}} \times 100$$

- **Determinación de Vitamina C:**

Este método se basa en la reducción del colorante 2,6-diclorofenolindofenol, por el efecto del ácido ascórbico en solución.

Este método se basa en la reducción del colorante 2,6-diclorofenolindofenol, por el efecto del ácido ascórbico en solución.

Primero se empezó con la preparación de reactivos, se pesó 4 g de ácido oxálico, luego se diluyó con agua destilada en una fiola de 1 L, para la solución estándar estuvo compuesta por ácido ascórbico (0.1%) en una solución de ácido oxálico al (0.4%) y se pesó 1 g de ácido ascórbico, se disolvió en una fiola de 1L con ácido oxálico (0.4%), el estándar de trabajo, se enumeró fiolas de 100 ml del 1 al 5 y se separó alícuotas de 1, 2, 3, 4 y 5 ml de ácido ascórbico (0.1%) respectivamente y se aforó con una solución de ácido oxálico (0.4%). Para la preparación de la solución coloreada se pesó 12 mg de 2-6 Diclorofenol indofenol (DFLF), se disolvió con agua destilada en una fiola de 1L. Esta preparación se pudo almacenar por 15 días en frasco oscuro y en refrigeración.

Para la determinación de la curva patrón, se rotuló tubos del I al IV y se añadió al tubo #1: 10 ml de agua destilada; al tubo #2: 1 ml de ácido oxálico (0.4%) y 9 ml de solución coloreada; al tubo #3: 1 ml de ácido oxálico (0.4%) y 9 ml de agua destilada; y al tubo #4: 1 ml de Estándar de trabajo N° 1, y 9 ml de solución Coloreada.

Luego se midió las absorbancias en el espectrofotómetro a una longitud de onda 520 nm, primero se ajustó a cero la absorbancia usando el tubo #1 y se leyó la absorbancia del tubo #2 y se tomó el resultado como dato para L1, luego se ajustó a cero la absorbancia con la solución del tubo #3 y se leyó la absorbancia, obteniendo como dato para L2. Se procedió a lecturar luego de 15 segundos después de su preparación y se registró L1 y L2 para cada estándar de trabajo; se construyó la curva estándar con las concentraciones 1, 2, 3, 4 y 5 de ácido ascórbico (mg/100 ml) en la abscisa y la absorbancia (L1 y L2), en la ordenada para cada estándar de trabajo.

Para la preparación de la muestra, se mezcló 5 gr de muestra con 35 ml de ácido oxálico (0.4%) por 3 minutos y se filtró; luego se determinó L1, en el tubo #3 se colocó 1 ml de filtrado más 9 ml de agua destilada y con esta se ajustó a cero la absorbancia, en el tubo #4 se colocó 1 ml del filtrado y 9 ml de solución coloreada. Finalmente se registró la absorbancia L2 después de 15 segundos y se calculó la diferencia entre L1 y L2 y finalmente se obtuvo la concentración de ácido ascórbico a partir de la curva estándar.

ANEXO 2. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA BEBIDA REFRESCANTE



Figura 18. Determinación de sólidos solubles (°BRIX)

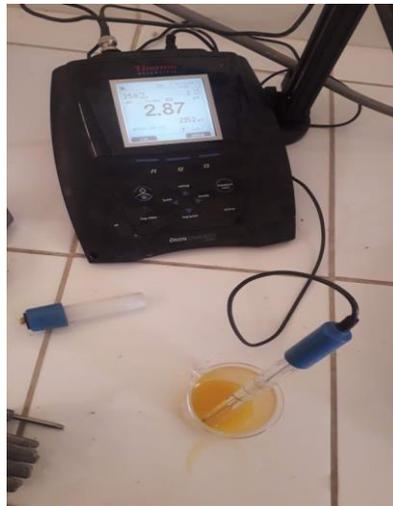


Figura 19. Determinación de pH



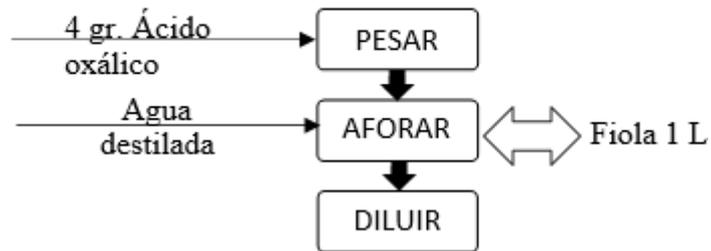
Figura 20. Determinación de densidad



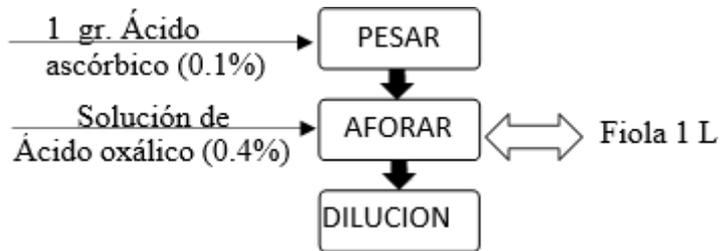
Figura 21. Determinación de Acidez titulable.

ANEXO 3. PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA C

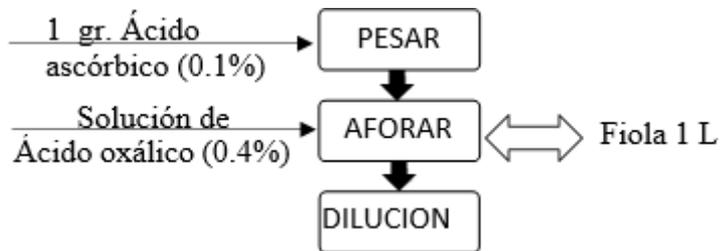
❖ Preparación de solución de ácido oxálico (0.4%)



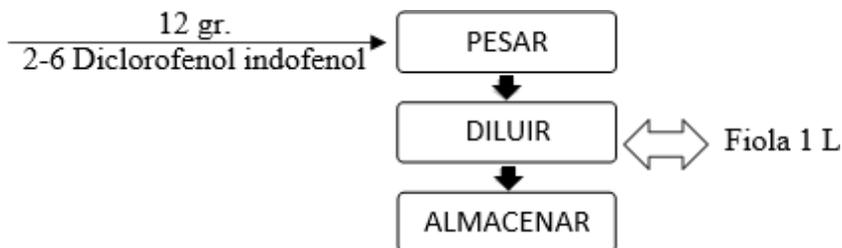
❖ Preparación de solución estándar



❖ Preparación de estándar de trabajo



❖ Preparación de solución coloreada



ANEXO 4. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C



Figura 22. Preparación de ácido oxálico



Figura 23. Preparación de blancos y muestras

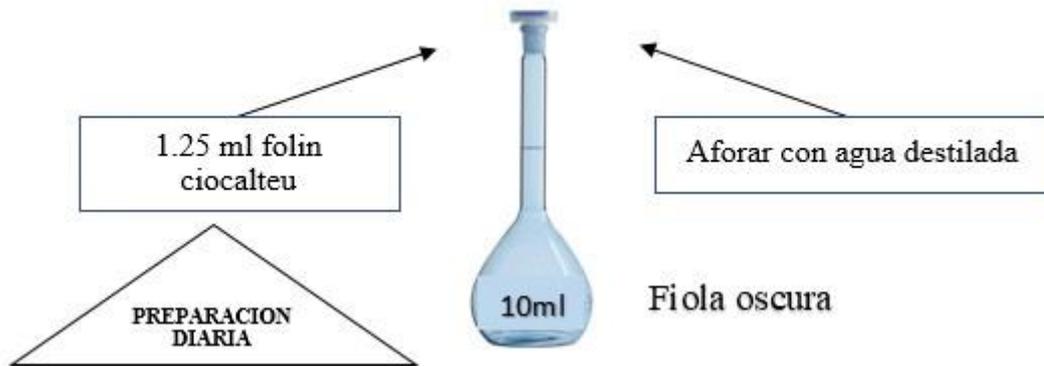


Figura 24. Lectura de absorbancia en espectrofotómetro

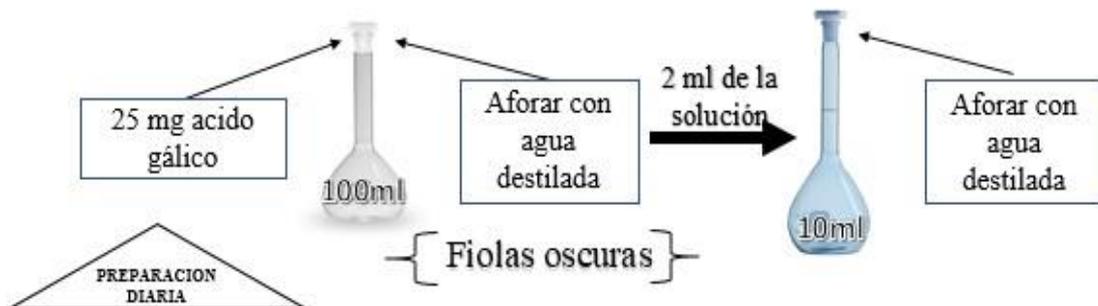
ANEXO 5. MÉTODO DE FOLIN CIOCALTEU – DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

Preparación de reactivos:

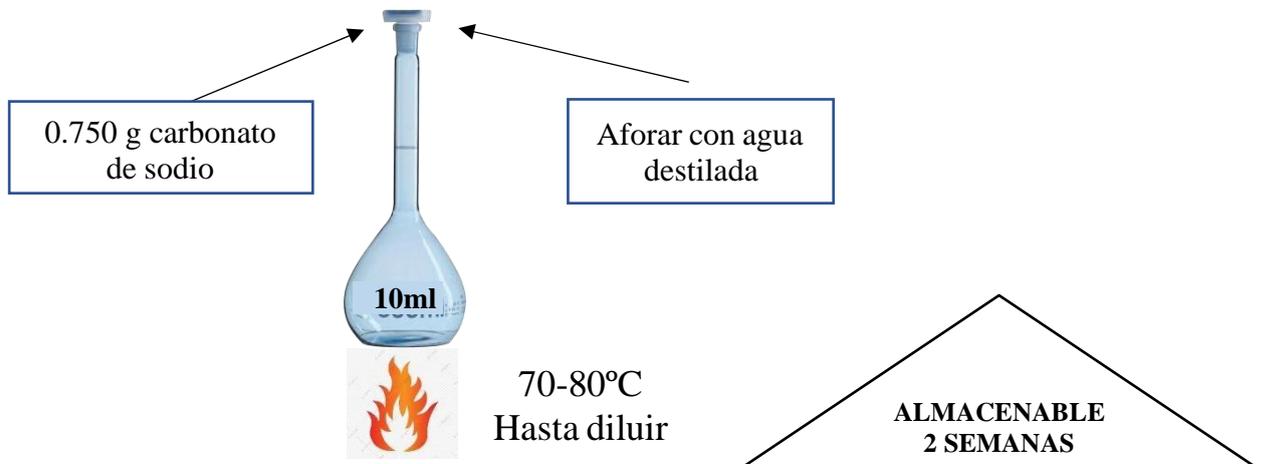
❖ Solución de Folin-Ciocalteu



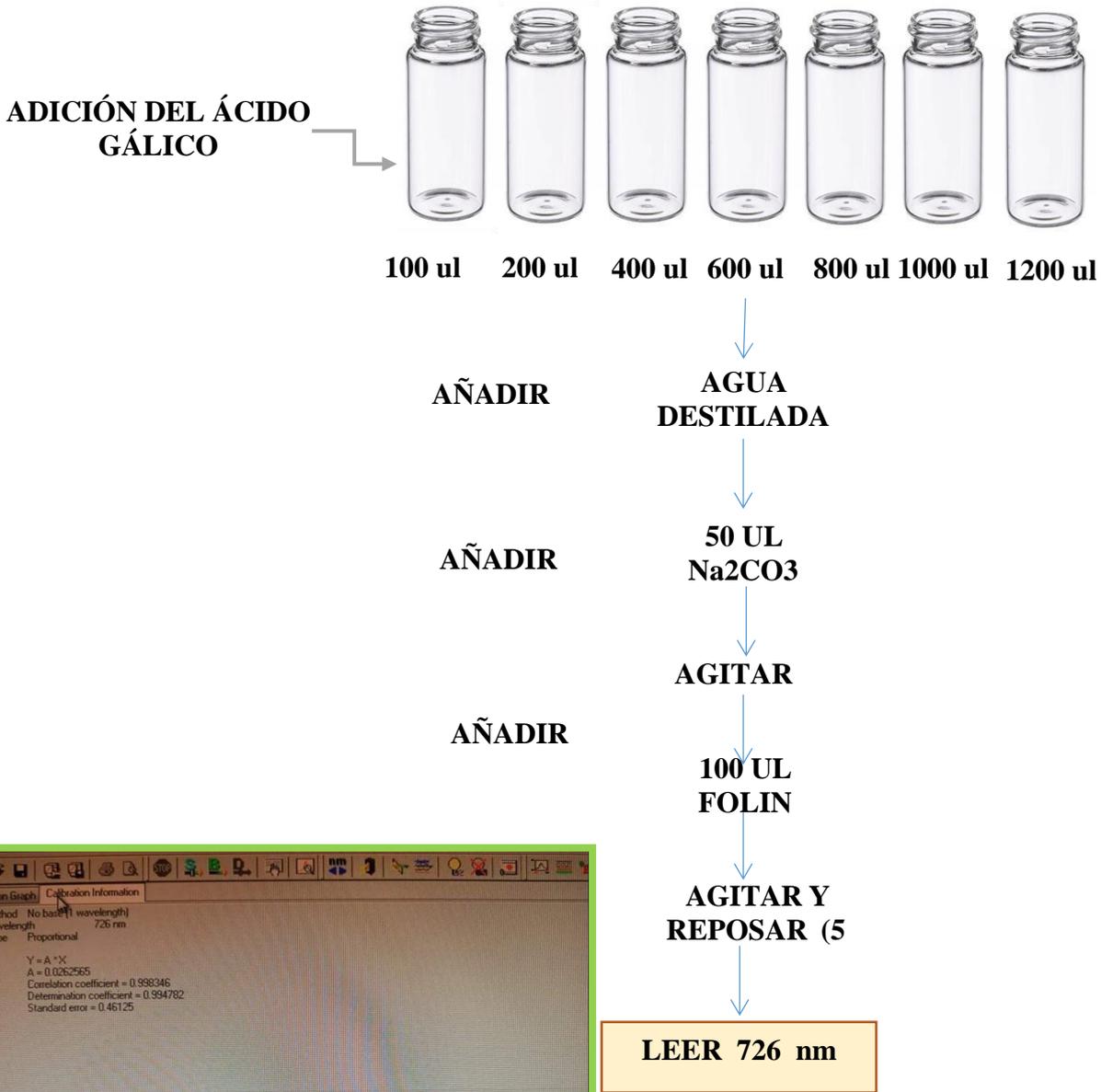
❖ Solución de Ácido gálico



❖ Solución de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3)



❖ Preparación de la Curva de Calibrado



Calibration Graph Calibration Information

Peak method: No base (1 wavelength)
Peak wavelength: 726 nm
Graph type: Proportional

Y = A * X
A = 0.002565
Correlation coefficient = 0.998346
Determination coefficient = 0.994782
Standard error = 0.46125

	Use	Sample	Comment	Conc. [ppm]	Abs	726.0 nm
Blank	<input checked="" type="checkbox"/>					0.0001
1	<input checked="" type="checkbox"/>			2	0.0658383	0.0658
2	<input checked="" type="checkbox"/>			4	0.116914	0.1169
3	<input checked="" type="checkbox"/>			8	0.201019	0.2010
4	<input checked="" type="checkbox"/>			12	0.309991	0.3100
5	<input checked="" type="checkbox"/>			16	0.423799	0.4238
6	<input type="checkbox"/>			12	0.315563	0.3156
* 7	<input type="checkbox"/>			20	0.400551	0.4006
8	<input type="checkbox"/>					

ANEXO 6. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES



Figura 25. Preparando el área de trabajo



Figura 26. Preparación de reactivos



Figura 27. Preparación de la curva patrón

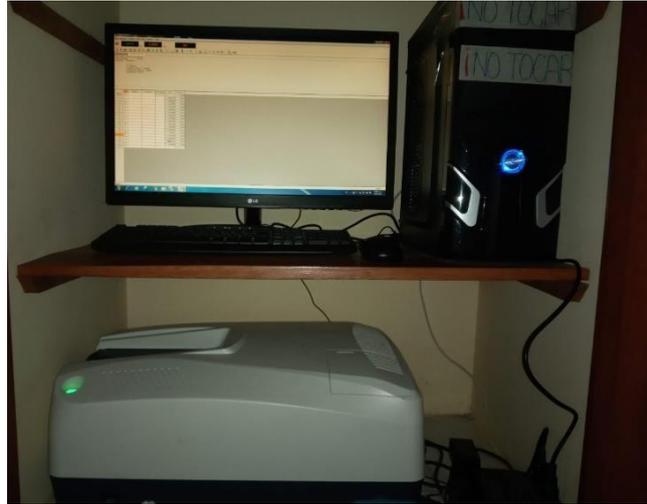
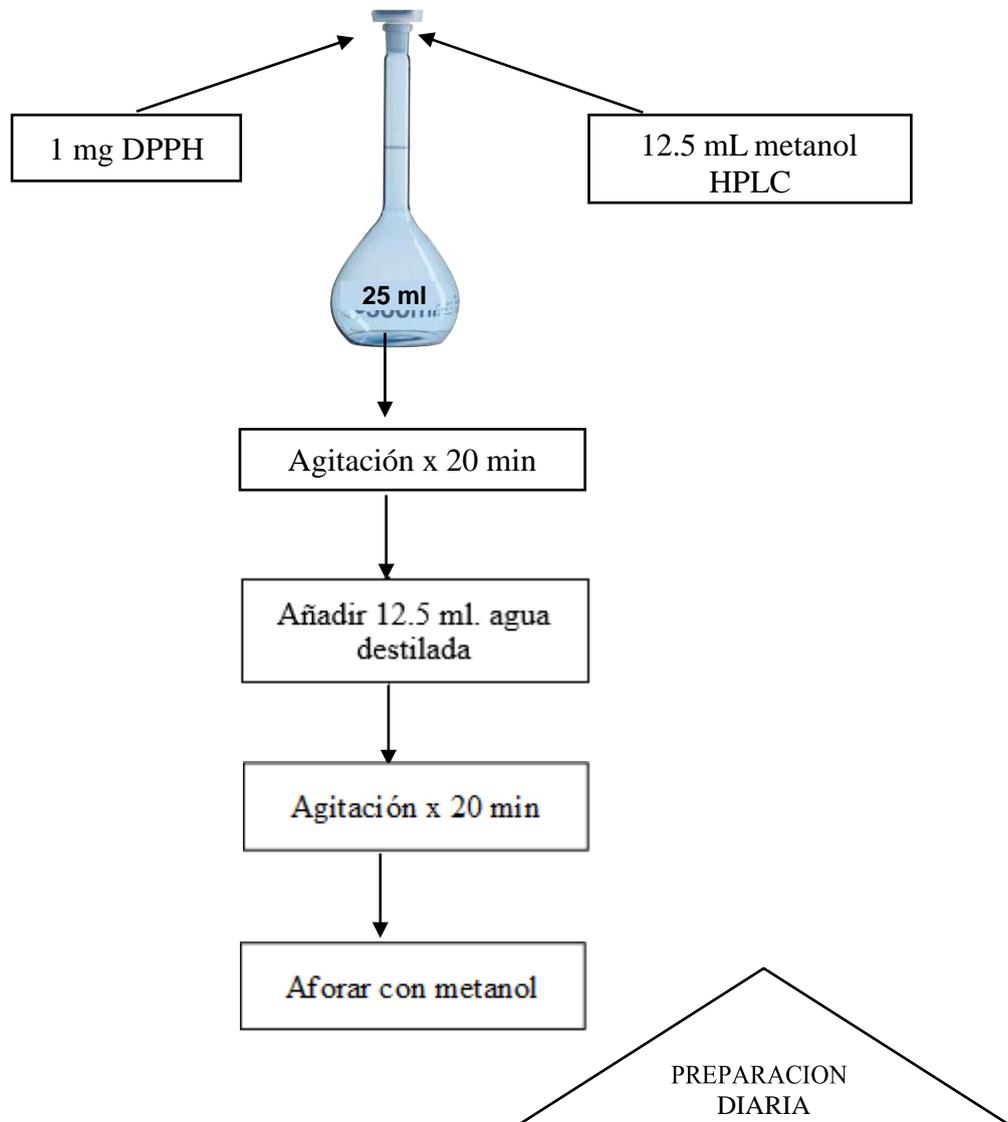


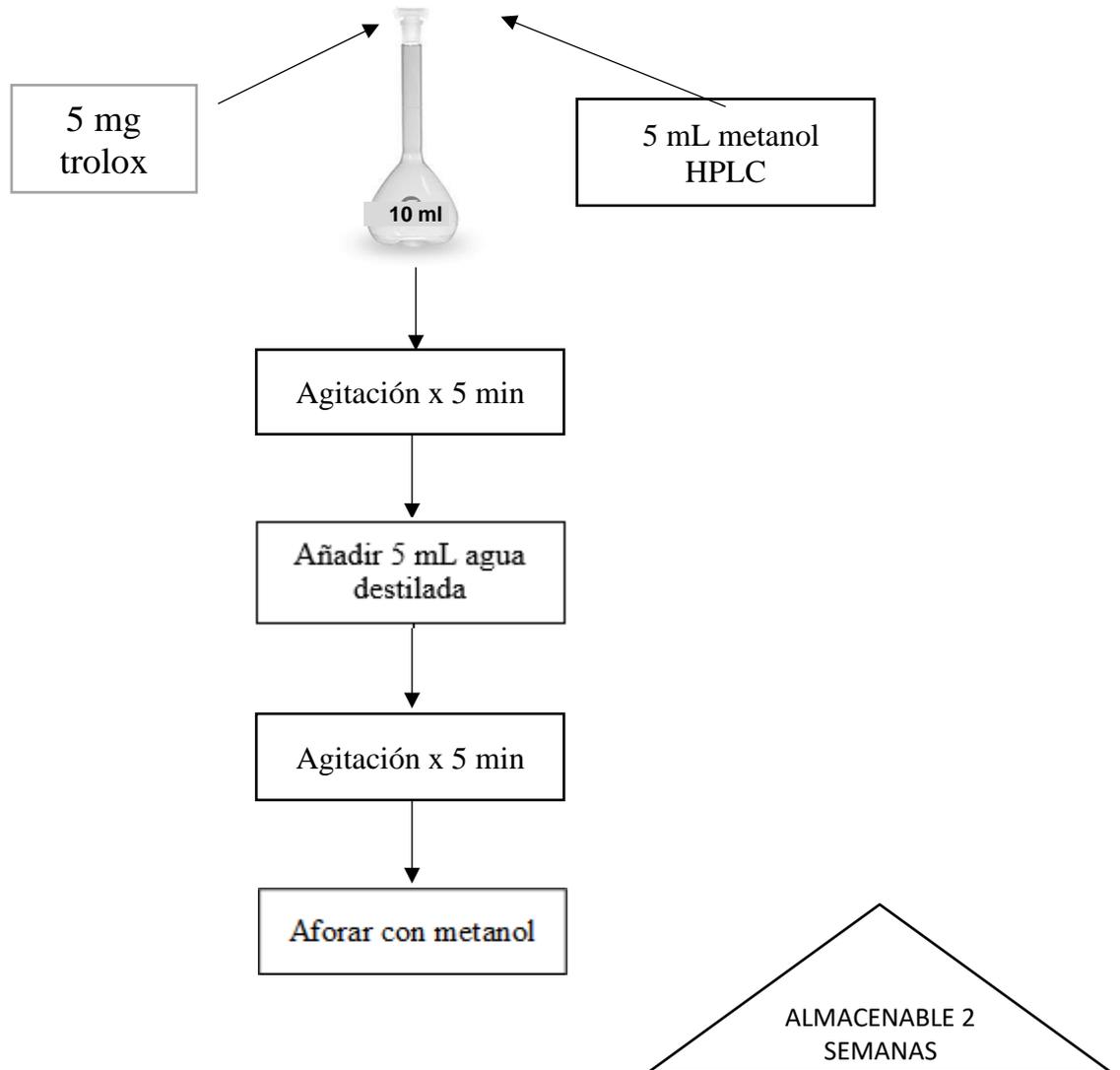
Figura 28. Lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 726nm

ANEXO 7. MÉTODO DPPH – PREPARACIÓN DE REACTIVOS

❖ Solución DPPH 40 mg/l

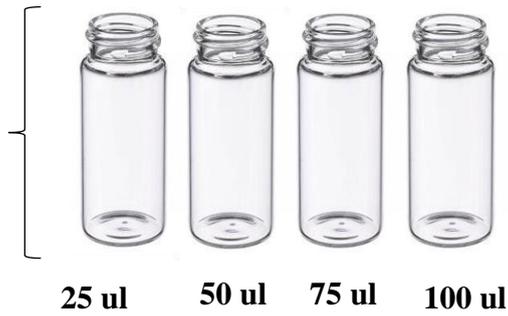


❖ **Estándar Trolox (50mg/100ml)**



ANEXO 8. PREPARACIÓN DE CURVA DE CALIBRADO – MÉTODO DPPH

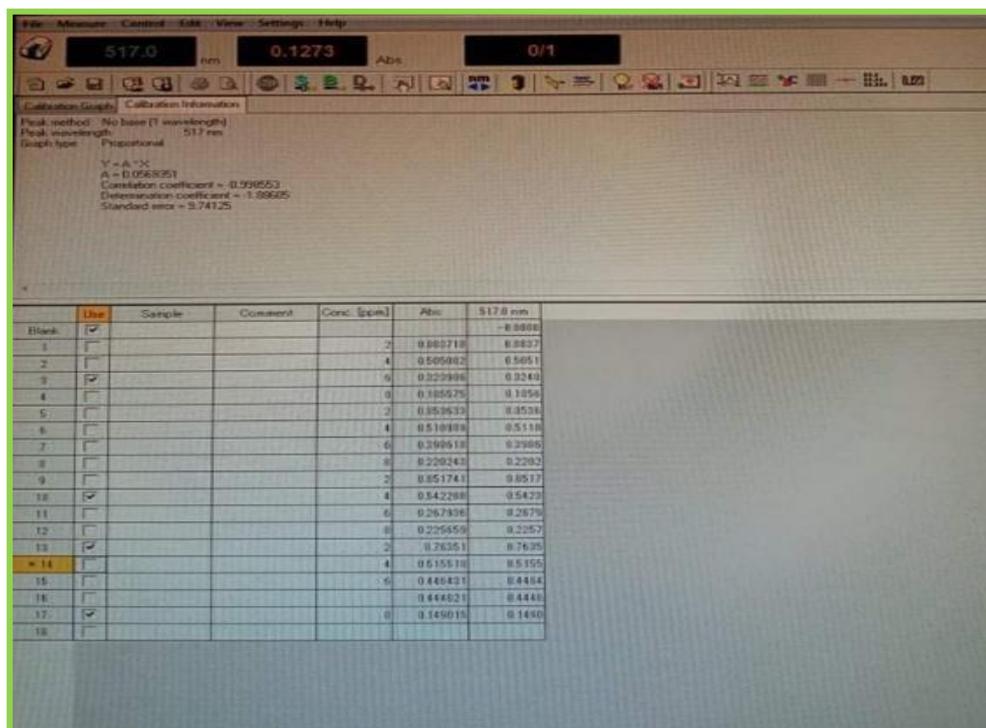
ADICIÓN DE
TROLOX



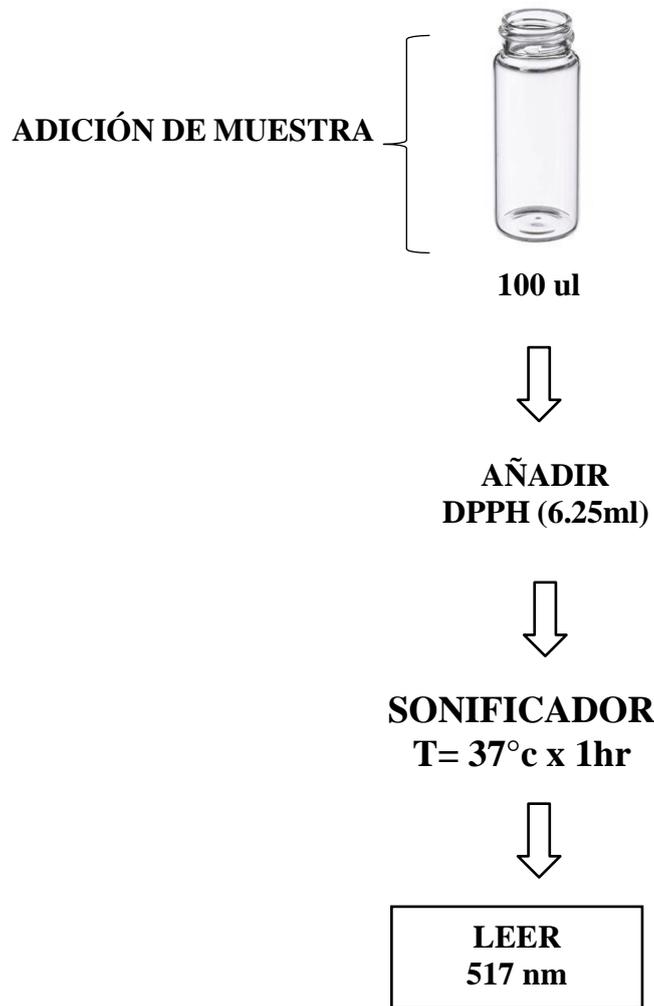
↓
AÑADIR
DPPH

↓
SONIFICADOR T=
37°C x 1hr

↓
LEER
517 nm



ANEXO 9. PREPARACIÓN PARA LECTURAR LA MUESTRA – MÉTODO DPPH



ANEXO 10. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (MÉTODO DPPH)



Figura 29. Preparación de reactivos



Figura 30. Preparación de la curva patrón



Figura 31. Centrifugando las muestras



Figura 32. Sonificando las muestras en el Ultrasonido

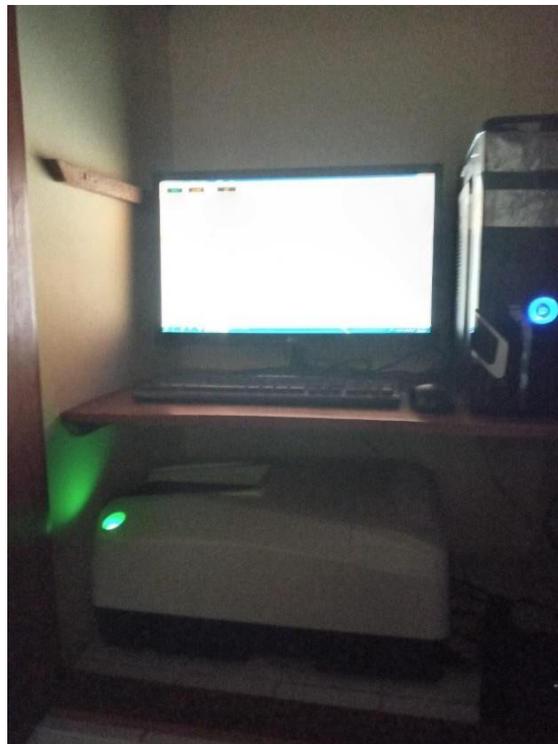


Figura 33. Lectura de absorbancia a 517nm

ANEXO 11. DETERMINACIÓN DE ANÁLISIS SENSORIAL



ANEXO 12. DETERMINACIÓN DE CURVA PATRÓN PARA VITAMINA C

Tabla 23. Datos para elaborar la curva patrón para Vitamina C

Concentración(mg/100mL)	Absorbancia
1	0.07
2	0.099
3	0.132
4	0.162
5	0.191

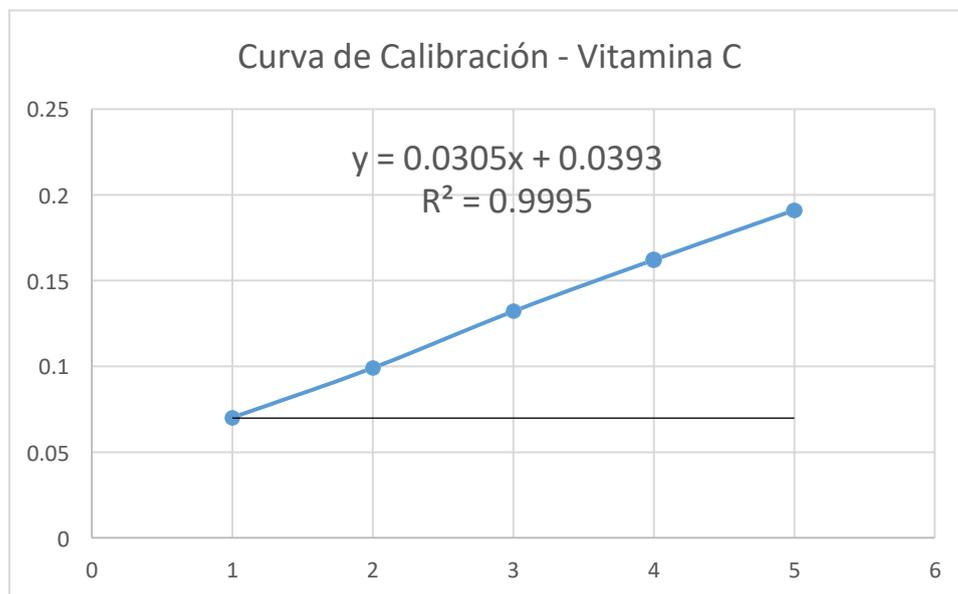
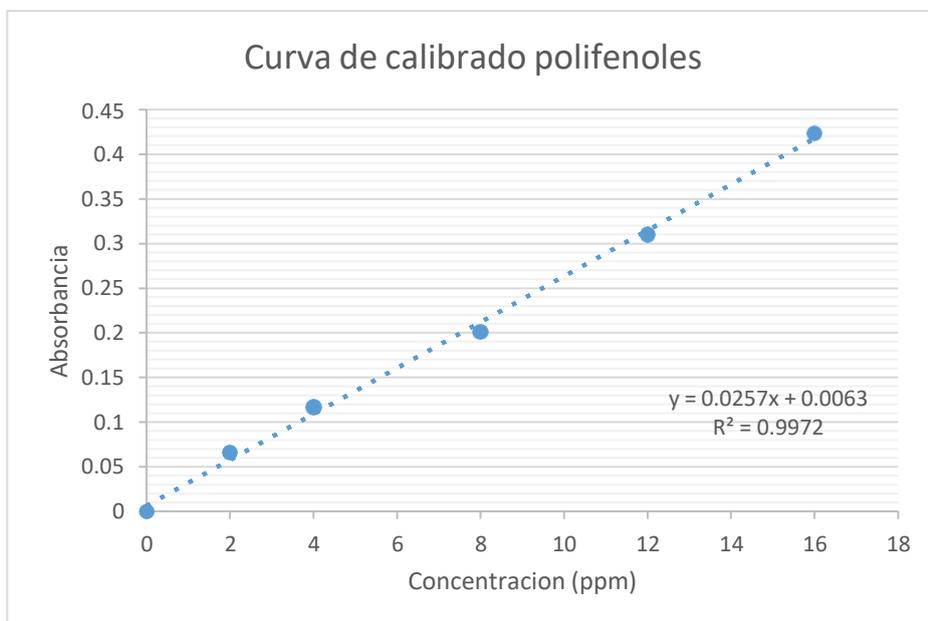


Figura 34. Curva de calibración para Vitamina C

ANEXO 13. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

Tabla 24. Datos de curva de calibrado para Polifenoles totales

<i>Concentración (ppm)</i>	<i>Absorbancia</i>
0	0
2	0.0658383
4	0.116914
8	0.201019
12	0.309991
16	0.423799



ANEXO 14. CUANTIFICACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Tabla 25. Datos de curva de calibración para Actividad antioxidante

<i>Concentración</i>	<i>Absorbancia</i>
2	0.76351
4	0.542288
6	0.323986
8	0.149015

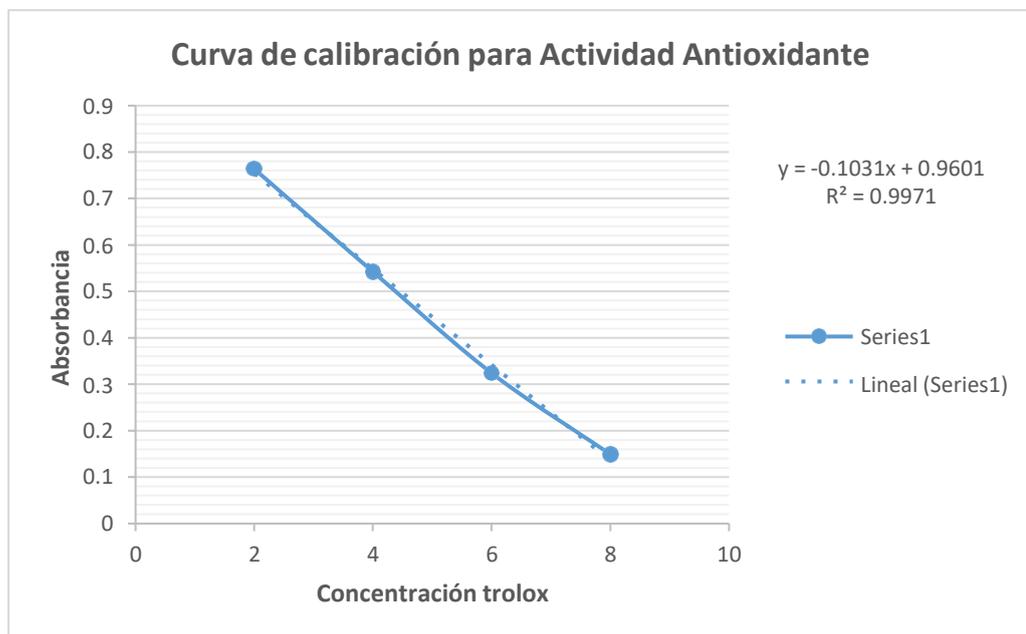


Figura 35. Curva de calibración para Actividad antioxidante

Determinar la actividad antioxidante total, en $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$

$$\textit{Actividad antioxidante total} = \frac{(\textit{Factor trolox}) * (\textit{ABS objetivo})}{(\textit{Masa objetiva}) * |\textit{Pendiente Trolox}|}$$

Calculando el factor trolox:

$$\textit{Factor trolox} = \frac{(10^6 \mu\text{g}) * (\textit{Pureza de trolox})}{\textit{g} * \textit{mw de trolox}} * 100 \textit{ de muestra}$$

$$\textit{Factor trolox} = 391546 \textit{ mw de trolox} = 250.29 \textit{ g/mol}$$

Reemplazando los datos del factor en la ecuación tenemos:

$$\textit{Actividad antioxidante total} = \frac{(391.546) * (\textit{ABS objetivo})}{(\textit{Masa objetiva}) * |\textit{Pendiente Trolox}|}$$

$$\textit{Masa objetiva} = \frac{0.0670 - 0.0000}{1.0446} = 0.0641$$

$$\textit{ABS objetivo} = \frac{0.8498}{2} = 0.4249$$

**ANEXO 15. FICHA DE ANÁLISIS SENSORIAL PARA LA BEBIDA
REFRESCANTE**

NOMBRE Y APELLIDO					
INSTRUCCIONES		<p>Estimado (a) panelista frente a usted tiene 10 muestras de bebida a base de granada roja y maracuyá edulcorada con estevia a evaluar en cuanto a su color, olor, sabor y su aceptabilidad general.</p> <p>Por favor, comience evaluando primero el color y olor de las 10 bebidas, luego el sabor, enjuagándose con el vaso con agua antes de probar una muestra que tiene frente a usted.</p> <p>Las calificaciones para el análisis sensorial de la bebida están en una escala cuantitativa del 1 al 9, donde:</p>			
PUNTAJE		CATEGORÍA			
9		Me gusta extremadamente			
8		Me gusta mucho			
7		Me gusta moderadamente			
6		Me gusta levemente			
5		No me gusta ni me disgusta			
4		Me disgusta levemente			
3		Me disgusta moderadamente			
2		Me disgusta mucho			
1		Me disgusta extremadamente			
		CALIFICACIÓN POR ATRIBUTOS			
MUESTRAS		COLOR	OLOR	SABOR	ACEPTABILIDAD
Tratamiento 1					
Tratamiento 2					
Tratamiento 3					
Tratamiento 4					
Tratamiento 5					
Tratamiento 6					
Tratamiento 7					
Tratamiento 8					
Tratamiento 9					
Tratamiento 10					

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE
UNA BEBIDA REFRESCANTE A
BASE DE GRANADA (*Punica
granatum*) Y MARACUYÁ
(*Passiflora edulis*)
EDULCORADA CON ESTEVIA
(*Stevia Rebaudiana* B.)

por Lucia Ruth PANTOJA TIRADO

Fecha de entrega: 30-jul-2022 04:02p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1704704219

Nombre del archivo: ssiflora_edulis_EDULCORADA_CON_ESTEVIA_Stevia_Rebaudiana_B..pdf (2.24M)

Total de palabras: 22598

Total de caracteres: 125043

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BEBIDA REFRESCANTE A BASE DE GRANADA (*Punica granatum*) Y MARACUYÁ (*Passiflora edulis*) EDULCORADA CON ESTEVIA (*Stevia Rebaudiana* B.)

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	9%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
3	1library.co Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uss.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.unp.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	<1%
8	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%

9	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
10	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
11	ciatej.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	coek.info Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
15	innovacionumh.es Fuente de Internet	<1 %
16	Djéssica Tatiane Raspe, Camila da Silva, Silvio Cláudio da Costa. "Compounds from Stevia rebaudiana Bertoni leaves: An overview of non-conventional extraction methods and challenges", Food Bioscience, 2022 Publicación	<1 %
17	www.notulaebiologicae.ro Fuente de Internet	<1 %
18	Submitted to Universidad Técnica de Machala Trabajo del estudiante	<1 %

19	wpd.ugr.es Fuente de Internet	<1 %
20	www.jhpr.birjand.ac.ir Fuente de Internet	<1 %
21	ao.um5s.ac.ma Fuente de Internet	<1 %
22	repository.udistrital.edu.co Fuente de Internet	<1 %
23	office2.jmbfs.org Fuente de Internet	<1 %
24	Submitted to Universidad Carlos III de Madrid Trabajo del estudiante	<1 %
25	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
26	docplayer.es Fuente de Internet	<1 %
27	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
28	sedici.unlp.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
29	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1 %
30	repositorio.udf.edu.br	

Fuente de Internet

<1 %

31

repository.unilibre.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

32

ri-ng.uaq.mx

Fuente de Internet

<1 %

33

www.plantarchives.org

Fuente de Internet

<1 %

34

profdoc.um.ac.ir

Fuente de Internet

<1 %

35

repositorio.uchile.cl

Fuente de Internet

<1 %

36

turkbiod.artvin.edu.tr

Fuente de Internet

<1 %

37

ciencia.lasalle.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

38

pharmacyeducation.fip.org

Fuente de Internet

<1 %

39

Submitted to Maryland University of
Integrative Health

Trabajo del estudiante

<1 %

40

www.centa.gob.sv

Fuente de Internet

<1 %

41

www.ecorfan.org

Fuente de Internet

<1 %

42

es.scribd.com

Fuente de Internet

<1 %

43

repositorio.unj.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

44

www.dspace.uce.edu.ec

Fuente de Internet

<1 %

45

www.slideshare.net

Fuente de Internet

<1 %

46

Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru

Trabajo del estudiante

<1 %

47

Submitted to Universidad Técnica Nacional de Costa Rica

Trabajo del estudiante

<1 %

48

agroaldia.minagri.gob.pe

Fuente de Internet

<1 %

49

repositorio.unapiquitos.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

50

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

51

repositorio.usil.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

52

repositorioinstitucional.buap.mx

Fuente de Internet

<1 %

53

idoc.pub

Fuente de Internet

<1 %

54

redi.unjbg.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo