

**UNIVERSIDAD NACIONAL
JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN
YOGUR ENDULZADO CON *Stevia Rebaudiana* Y *Tropaeolum
Tuberosum* “*Mashua Púrpura*” COMO COLORANTE**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

IBALUT I IBARRA LUNA

**HUACHO –PERÚ
2021**

UNIVERSIDAD NACIONAL
JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL

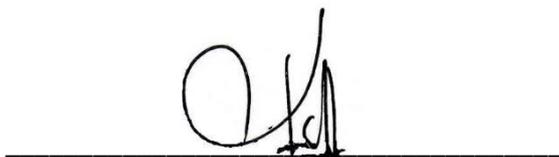
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIA

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UN
YOGUR ENDULZADO CON *Stevia Rebaudiana* Y *Tropaeolum*
***Tuberosum* “Mashua Púrpura” COMO COLORANTE**

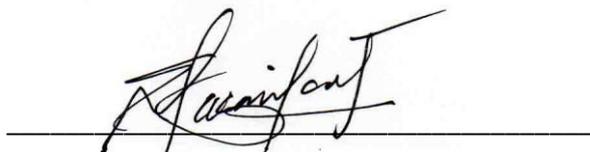
Sustentado y aprobado ante el Jurado evaluador



Dra. SARELA CARMELA ALFARO CRUZ
PRESIDENTA



Dr. FREDESVINDO FERNÁNDEZ HERRERA
SECRETARIO



Mg. EDWIN ANTONIO MACAVILCA TICLAYAURI
VOCAL



Dr. DANTON JORGE MIRANDA CABRERA
ASESOR

HUACHO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

DOY GRACIAS:

A DIOS:

*Por haberme dado la vida,
permitirme haber llegado hasta aquí,
y por estar siempre a mi lado*

A MIS PADRES:

*Segundo y Silvia, por ser las mejores
personas, que con su amor y cariño me
han apoyado y guiado en todo momento*

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, en especial al proyecto de Investigación UNJFSC-VRI Modalidad FOCAM (Fondo de Desarrollo Socio económico de Camisea); "FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS", por el apoyo en el uso de la infraestructura, equipos y reactivos, lo que facilitaron la ejecución de la presente tesis.

Al Dr. **Fredesvindo Fernández Herrera**, por regalarme su gran amistad, además, del apoyo de mi tesis, brindarme la oportunidad de formarme como ingeniero de Industrias Alimentarias, y aconsejarme en cómo ser un mejor profesional, sin dejar de lado la humildad y el respeto con los demás. Muchas gracias por sus buenos deseos hacia mi persona.

Al Dr. **Danton Jorge Miranda Cabrera**, por brindarme su apoyo en la elaboración de la redacción y organización de ideas de mi tesis. Gracias por su gran amistad y respeto.

Al Mg. **Edwin Macavilca Ticlayauri**, Coordinador del proyecto de Investigación; "Formulación de bebidas funcionales con capacidad antioxidante a base de frutas y verduras", que está instalado en el laboratorio de procesos e ingeniería de alimentos de la UNJFSC, por haberme brindado información muy importante y relevante para el desarrollo de esta Tesis. Sin esto no hubiera podido hacer realidad esta Tesis. Gracias por compartir desinteresadamente su información y tomarse el tiempo de apoyarme. Mil gracias.

A la Dra. **Sarela Carmela Alfaro Cruz**, por su ayuda desinteresada al explicarme las nuevas tendencias en la ingeniería de alimentos, y además, por despejar mis dudas en esta nueva etapa del conocimiento. Gracias por su amistad y paciencia.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN..... 1

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 2

1.1. Descripción de la realidad problemática 2

1.2. Formulación del problema..... 2

1.2.1. Problema general 2

1.2.2. Problemas Específicos..... 3

1.3. Objetivos de la Investigación 3

1.3.1. Objetivos General 3

1.3.2. Objetivos Específicos..... 3

1.4. Justificación de la Investigación 3

1.5. Delimitación del estudio 4

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO 5

2.1. Antecedentes de la Investigación 5

2.1.1. Antecedentes internacionales..... 5

2.1.2. Antecedentes nacionales..... 6

2.2. Bases Teóricas 8

2.2.1. Yogur..... 8

2.2.2. Mashua 10

2.2.3. Stevia 16

2.2.4. Medición de la capacidad antioxidante 18

2.2.5. Análisis de supervivencia 20

2.3. Definiciones de términos básicos..... 23

2.4. Hipótesis de investigación 23

2.4.1. Hipótesis General 23

2.4.2. Hipótesis Específicos 23

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA 24

3.1. Diseño Metodológico 24

3.1.1. Tipo de Investigación 24

3.1.2. Nivel de Investigación	24
3.1.3. Materiales e insumos	24
3.1.4. Diseño experimental.....	25
3.1.5. Enfoque.....	27
3.1.6. Variables evaluadas	27
3.2. Población y Muestra.....	28
3.2.1. Población	28
3.2.2. Muestra.....	28
3.3. Técnicas de recolección de datos.....	28
3.3.1. Técnicas a emplear	28
3.4. Técnicas para el procesamiento de la información	37
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....	38
4.1. Análisis de resultados.....	38
4.1.1. Características iniciales de la Materia Prima	38
4.1.2. Determinación de la proporción de puré de mashua adicionada al yogur	39
4.1.3. Optimización en la adición de stevia granulada al yogur	42
4.1.4. Obtención del yogur endulzado con Stevia y mashua púrpura.	44
4.1.5. Evaluación de los parámetros de calidad y capacidad antioxidante del yogur	46
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN.....	51
5.1. Discusión.....	51
5.1.1. Del efecto en la propiedad fisicoquímicas del yogur natural y enriquecido	51
5.1.2. Del efecto en la capacidad antioxidante del yogur	52
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
6.1. Conclusiones.....	55
6.2. Recomendaciones	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
ANEXOS	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variedades de la mashua	12
Tabla 2. Composición química de 68 entradas de mashua, pertenecientes al Banco de Germoplasma del INIAP	13
Tabla 3. Los métodos HAT y ET utilizados para evaluar la actividad antioxidante	20
Tabla 4. Operacionalización de las variables e indicadores del estudio.....	27
Tabla 5. Características iniciales de la mashua púrpura fresca y cocida.....	38
Tabla 6. Valores de color CIEL*a*b* del yogur comercial y yogur con puré de mashua..	39
Tabla 7. Valores de diferencia de color ΔE^* del yogur comercial y experimental de mashua	41
Tabla 8. Datos de aceptación/rechazo y tipo de censura de los consumidores para el yogur de mashua con diferentes concentraciones de stevia cristalizada.....	42
Tabla 9. Porcentaje de aceptación/rechazo para las concentraciones (percentil) modelizadas de acuerdo a la ecuación 2 (Ec. de Weibull)	44
Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos del yogur natural y con mashua-stevia durante almacenamiento	47
Tabla 11. Efecto en la capacidad antioxidante la inclusión de puré de mashua purpura y endulzado con stevia durante su almacenamiento.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción de mashua, Enero – septiembre 2000 – 2018	15
Figura 2. Hojas de Stevia rebaudiana Bertoni.	16
Figura 3. Esquema del proceso experimental de la investigación.	16
Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt con Mashua y Stevia.	30
Figura 5. Comparación colorimétrica del yogurt comercial y de puré de mashua en las coordenadas b^* vs L^*	40
Figura 6. Relación de la concentración de mashua en el yogurt frente al valor E^*	41
Figura 7. Curva de aceptabilidad/rechazo del yogurt de mashua con diferentes concentraciones de stevia.	43
Figura 8. Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt con Mashua y Stevia.	46
Figura 9. Capacidad antioxidante por el método ORAC y ABTS+ en el yogurt natural y adicionado con mashua-stevia.	49

Evaluación de la Capacidad Antioxidante de un Yogur endulzado con Stevia Rebaudiana y Tropaeolum Tuberosum “Mashua Púrpura” como Colorante

Evaluation of the Antioxidant Capacity of a Yogurt sweetened with Stevia Rebaudiana and Tropaeolum Tuberosum "Purple Mashua" as a Coloring

Ibarra Luna, Ibalut I¹, Danton Mirando Cabrera¹

RESUMEN

Objetivo: evaluar el efecto en la capacidad antioxidante la adición del Tropaeolum Tuberosum “Mashua Púrpura” como colorante y de la Stevia Rebaudiana como edulcorante en la elaboración de yogur. En **Metodología** se preparó yogur natural por el método tradicional con leche de vaca y leche en polvo como sólidos, se agregó puré cocido de mashua en una concentración de 55.67 gramos por litro de yogur natural obtenido de una coloración idéntica al yogur comercial de mora, para endulzar se agregó 19.62 g de stevia por litro de yogur, cantidad optimizada sensorialmente mediante un análisis de supervivencia empleando el modelo de Weibull, el yogur natural y enriquecido se almacenaron a 5°C y se evaluaron las propiedades fisicoquímicas y capacidad antioxidante a 1, 7, 14, 21 y 28 días mediante los ensayos ABTS+ y ORAC ambos expresados en uMol Equivalente Trolox/100 g de yogur, también se determinó la cantidad de polifenoles y antocianinas totales. Con el ANVA y con la prueba de Tukey se compararon las medias de las mediciones durante el periodo de almacenamiento. **Resultados,** las propiedades fisicoquímicas como pH, acidez titulable, densidad, Capacidad de Retención de Agua y Viscosidad dan cuenta que el yogur enriquecido es más estable hasta los 14 días de almacenamiento, el yogur natural por si solo presenta capacidad antioxidante de 337.35 uMol ET/100 g según ensayo ABTS+, y 359.96 uMol ET/100 g según método ORAC, además de 501.04 mg Equiv. Ácido Gálico/100 g yogur en contenido de polifenoles totales. El efecto del enriquecimiento del yogur con mashua y stevia da cuenta que los polifenoles aumenten en 89.8% y aporta 0.77 mg Antocianinas Totales por cada 100 gramos de yogur siendo este último menos estable durante el almacenamiento, la capacidad antioxidante aumente 24.7% con valor de 420.56 uMol ET/100 g con el método ABTS+ y manteniéndose estable hasta los 14 días, con respecto al método ORAC la capacidad antioxidante del yogur se reduce en un 27.9% dando cuenta que no es un ensayo adecuado para este tipo de productos rico en compuestos polifenólicos.

Conclusiones; la adición de mashua y stevia en el yogur permite enriquecer con compuestos polifenoles en especial antocianinas que imparten una coloración morada, incrementa la capacidad antioxidante y conjuntamente con las propiedades fisicoquímicas este producto se mantiene estable por lo menos 14 días almacenado en refrigeración.

Palabras claves: Tropaeolum Tuberosum, Mashua Púrpura, stevia, yogur, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Objective: was to evaluate the effect on antioxidant capacity by adding *Tropaeolum Tuberosum* "Mashua Purpura" as a dye and *Stevia Rebaudiana* as a sweetener in the preparation of yoghurt. In **Materials and Methods** natural yogurt was prepared by the traditional method with cow's milk and milk powder as solids, cooked mashua mash was added in a concentration of 55.67 grams per liter of natural yogurt obtained from a color identical to commercial blackberry yogurt, to sweeten added 19.62 grams of stevia per liter of yogurt, sensorially optimized quantity by means of a survival analysis using the Weibull model, the natural and enriched yogurt were stored at 5 ° C and physicochemical properties and antioxidant capacity were evaluated to 1, 7, 14, 21 and 28 days using the ABTS + and ORAC tests both expressed in uMol Equivalent Trolox/100 g of yoghurt, the amount of total polyphenols and anthocyanins was also determined. With the ANVA and the Tukey test, the means of the measurements were compared during the storage period. **Results,** the physicochemical properties such as pH, titratable acidity, density, Water Retention Capacity and Viscosity show that the enriched yogurt is more stable until 14 days of storage, the natural yoghurt alone has an antioxidant capacity of 337.35 uMol ET/100 g according to ABTS + test, and 359.96 uMol ET/100 g according to ORAC method, in addition to 501.04 mg Equiv. Galic Acid/100 g yogurt in total polyphenols content. The effect of the enrichment of yoghurt with mashua and stevia shows that polyphenols increase by 89.8% and provides 0.77 mg total anthocyanins per 100 grams of yoghurt, the latter being less stable during storage, the antioxidant capacity increased by 24.7% with a value of 420.56 uMol ET/100 g with the ABTS + method and staying stable until 14 days, with respect to the ORAC method, the antioxidant capacity of yogurt is reduced by 27.9% realizing that it is not an adequate test for this type of products rich in polyphenolic compounds .

Conclusions; the addition of mashua and stevia in yogurt allows enrichment with polyphenol compounds, especially anthocyanins that impart a purple coloration, increases the antioxidant capacity and together with physicochemical properties this product remains stable for at least 14 days stored in refrigeration.

Key words: *Tropaeolum Tuberosum*, Mashua Purple, stevia, yogurt, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

Las nuevas tendencias de consumo ligada al aumento de la demanda de alimentos saludables y de alta calidad han obligado a la industria alimentaria y a la comunidad científica a desarrollar nuevos alimentos funcionales, nutricionales y terapéuticos. Los consumidores cada vez más preocupados por su salud buscan productos naturales que contengan antioxidantes y casi nada de ingredientes artificiales, una de las bebidas lácteas que cumple estas exigencias y cada vez se está innovando es el yogur, que es muy popular en el mundo reconocido por su alto valor nutricional, comercialmente en un inicio se ofertaban con saborizantes y colorantes artificiales pero actualmente esta bebida está siendo enriqueciendo con concentrados de frutas naturales, frutas osmodeshidratadas, semillas, cascara, extractos de hojas y de semillas, variedades de ingredientes y otros con la cual se busca reducir la sacarosa e incrementar su beneficio para la salud con adición de compuestos bioactivos e ingredientes funcionales además que hay una amplia gama de tipos de yogur.

Por lo que es tradicional agregar frutas a esta bebida y muy poco otros productos como cereales y tubérculos andinos, en este sentido la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) que es originario de los andes centrales se ha caracterizado por presentar colores resaltantes entre amarillo y purpura, este último tiene mayor capacidad antioxidante que otros tubérculos (Salluca, Peñarrieta, Alvarado y Bergenståhl, 2008), esto debido a que posee glucosinolatos y antocianinas (Chirinos *et al.* 2006) por lo que tiene un color intenso adecuado para ser incorporado en el yogur (Inostroza *et al.*, 2015), en si la mashua negra o purpura tiene propiedades antibióticas, insecticidas, nematocidas, anticancerígenas y diuréticas, lo que contribuye a sustentar el uso tradicional en la medicina folclórica de los Andes (Manrique *et al.* 2013).

De acuerdo a la demanda actual de productos lácteos que contengan edulcorantes naturales y antioxidantes, el objetivo de esta investigación fue elaborar un yogur enriquecido con pulpa cocida de mashua purpura a la vez endulzada con stevia cristalizada comercial y evaluar el efecto en la capacidad antioxidante durante su almacenamiento.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Actualmente la industria alimentaria utiliza colorantes para mejorar la apariencia de los alimentos y hacerlos más atractivos al consumidor. Principalmente utilizan los colorantes sintéticos. Se ha mostrado en estudios clínicos que el consumir alimentos con determinados colorantes ocasiona daños en la salud produciéndose reacciones alérgicas, problemas digestivos, insomnio, cáncer, etc. (Flores, 2015). Motivo por el cual se ha incrementado la demanda de los colorantes naturales como sustitutos, ya que hasta ahora no existe evidencia de que sean nocivos para la salud. Las clorofilas, carotenoides, flavonoides, antocianinas y betalaínas, son algunos pigmentos naturales y están presentes en una gran diversidad de productos.

La Mashua purpura es un tubérculo andino donde se la puede hallar tanto en forma silvestre como cultivada, tiene coloraciones diversas: blanca, amarilla, chaucha, morada y zapallo. Asimismo, el *Tropaeolum tuberosum* de color púrpura tiene una capacidad tintoreal que al tener contacto con la piel o cualquier tejido o superficie brinda una coloración azul – morada duradera. Los colorantes extraídos de la Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) al tener semejanza con el cristal violeta en cuanto al color azul – morado (Rojas y Pérez, 2018). En nuestro país es subutilizado y con escasa demanda por los consumidores, aun teniendo elevado valor nutritivo con aporte de compuestos fenólicos, antocianinas, proteínas, carbohidratos, ácido ascórbico y otros principios bioactivos” (Inostroza *et al.* 2015). Por lo expuesto en este trabajo de investigación se busca utilizar la mashua púrpura como colorante de yogur, y resaltar su aporte de antioxidantes.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿En cuánto se elevará la capacidad antioxidante de un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante?

1.2.2. Problemas Específicos

¿Cuáles son los parámetros óptimos para la elaboración un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante?

¿Cuál será la capacidad antioxidante de un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivos General

Determinar en cuanto se eleva la capacidad antioxidante de un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante.

1.3.2. Objetivos Específicos

Elaborar un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum ruberosum* “Mashua Púrpura” como colorante.

Determinar la capacidad antioxidante de un yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante.

1.4. Justificación de la Investigación

La presente investigación se justifica porque nos proporcionará información sobre el posible uso de la Mashua purpura como colorante para yogur, dando un valor agregado al producto, con lo cual promoverá el consumo de este tubérculo y proponiendo una alternativa sana y natural.

Este trabajo de investigación es importante por la necesidad que existe de ofrecer productos naturales con potencial antioxidante, siendo la mashua púrpura un tubérculo de gran importancia debido a su potencial como colorante y está siendo reconocida por elevado valor nutritivo con aporte de compuestos fenólicos, antocianinas, proteínas, carbohidratos, ácido ascórbico y otros principios bioactivos.

1.5. Delimitación del estudio

El uso de colorantes sintéticos es común en la industria alimentaria, actualmente existe gran interés por parte de los consumidores por los colorantes naturales y su potencial aporte de antioxidantes, por ello esta investigación se limitará a la determinar la capacidad antioxidante de un yogur endulzado con Stevia y coloreado con Mashua purpura.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes internacionales

Hernández y Salazar (2017) en su tesis “Efecto de las betalaínas y fenoles solubles totales de pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) como antioxidantes en yogur” en una primera fase obtuvieron un puré de pitahaya para ser incorporado al yogur. Al puré se le realizaron análisis físicos como color, pH, sólidos solubles totales (SST) y cuantificación de betalaínas y Fenoles Solubles Totales (FST) empleando el método de Folin-Ciocalteu y espectrofotometría, para estabilizar al puré se le añadió benzoato de sodio a 500 ppm como antimicrobiano y 100 ppm de ácido cítrico seguido de un calentamiento a 63 °C por 30 min en baño maría. En la segunda fase se usó una prueba de estabilidad oxidativa acelerada para medir el tiempo de inducción de los lípidos del yogur con pitahaya a concentraciones de 0, 14, 16 y 18%. El tratamiento térmico no tuvo efecto en el conteo de FST ni betalaínas, la adición de ácido cítrico aumentó el conteo de betalaínas ($P < 0.05$), lo cual fue respaldado por los resultados de color en la escala $L^* a^* b^*$ y ángulo de matiz donde se intensificó el color rojo asociado a betacianinas. Entre los panelistas no entrenados presentaron aceptación en el color de yogur con mayor concentración de 14% de pitahaya. No tuvo un comportamiento lineal en la peroxidación por la influencia de factores intrínsecos como el pH y sinéresis. Se seleccionó para la segunda fase la pitahaya con el tratamiento térmico y ácido cítrico donde se obtuvieron 68.08 ± 11.15 mg EAG/100 g y 9.50 ± 2.22 mg/100 g para FST y betalaínas, respectivamente. La sinéresis del yogur con pitahaya tuvo valores más altos debido a la mayor cantidad de agua adicionada por la pulpa de la fruta, con valores incrementales a mayor concentración de pitahaya, las cuales disminuyen la capacidad de retención de agua liberando más suero. El mejor resultado se obtuvo con el yogur de pitahaya al 16% con aumento de 0.20 h en el tiempo de inducción y en un 69 % de aumento en la estabilidad oxidativa.

2.1.2. Antecedentes nacionales

Inostroza *et al.* (2015) evaluaron la actividad antioxidante y uso del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) como colorante para yogur, para obtener el extracto de mashua, los tubérculos se trituraron y homogeneizaron con ácido clorhídrico 1,5 N y etanol al 96% (15:85, v/v), a una proporción de (1:2, p/v), se macero por 72 horas a 4°C con agitación diaria, se filtró y evaporó en un rota vapor a 40°C, el extracto se colocó en tubos ámbar y se almacenó a -18°C en atmósfera de nitrógeno. Determinaron la actividad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS. El contenido total de antocianinas (AT) por el método de pH diferencial y polifenoles (PT) por el método Folin-Ciocalteu. Para medir el color y concentración de pigmento se utilizaron los parámetros del sistema CIEL*a*b*, se coloreó el yogur natural “3500”, comparándose con yogur comercial de mora “6224”, que fue tomado como referencia. Ambas muestras de yogur se almacenaron bajo condiciones de refrigeración (4°C ± 1) durante 28 días; se les midió color y pH cada 4 días. Para el análisis sensorial se aplicó la prueba de aceptación (p<0,05). El contenido de AT y PT en los extractos analizados fueron 192,63 ± 1,28 mg de cianidina-3-glucósido/100g peso fresco (PF) y de 314,12 ± 1,23 mg de ácido gálico/100g PF, respectivamente. La capacidad antioxidante equivalente al trolox obtenida fue de 15,8 ± 0,2 µmol/g PF, aplicando el ensayo DPPH, y 17,0 ± 0,2 µmol/g PF con ABTS. El extracto se adicionó al yogur natural (1,2 mg/100 g) impartiendo un color morado similar al del yogur comercial de mora con mínimos cambios del color que no fueron visualmente evidentes; el yogur “3500” fue significativamente el preferido por los jueces frente al yogur “6224”. Se concluye que los pigmentos extraídos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón, poseen actividad antioxidante, presentándose como una alternativa de colorante aplicable en alimentos de acidez intermedia como el yogur.

Carbajal (2013) elaboró un yogurt con aguaymanto (*Physalis peruviana*) y determinó la vida útil sensorial mediante el análisis de supervivencia, llevó a cabo en dos etapas, en las cuales se aplicó la estadística de análisis de supervivencia: en la primera etapa evaluó atributos deseables tales como : la concentración de pulpa de aguaymanto en yogurt, la concentración puede ser demasiado ligero, estar bien, o demasiado concentrada, dando lugar a 2 eventos de interés: la transición de demasiado ligero para bien, y la transición de aceptar para muy concentrado, se modeló estos dos eventos para permitir la predicción de la concentración óptima basada en la aceptación o rechazo de datos obtenidos a partir consumidores. En la

segunda etapa las muestras de yogurt se almacenaron por 6 días, en un día se obtuvo todas las muestras con diferentes grados de deterioro y en ese día se evaluó sensorialmente, dando lugar a un evento de interés: La transición de aceptar para bien a rechazar, dicho evento se modeló para determinar la vida útil del yogurt con aguaymanto. Los resultados para la concentración óptima de pulpa de aguaymanto en yogurt varió 6,7% a 9,8% lo que conllevó a la segmentación de consumidores; en grupos que prefieren yogurt ligero o yogurt concentrado. La vida útil sensorial estimada para el yogurt con aguaymanto fue de 13 días, en base a la aceptabilidad para un percentil del 50% o mediana, para que menos del 50% de consumidores rechace el producto.

Cerna (2015) elaboró un yogurt saborizado con mito (*Carica candicans gray*) y evaluó su estabilidad, Para lograr sus objetivos, realizó su investigación en tres etapas. En la primera etapa, optimizó la cantidad de pulpa de mito a adicionar en el yogurt natural, trabajó con diferentes dosificaciones de pulpa (porcentaje de pulpa/ g de yogurt), (0%, 4%, 8%, 12%, 16%, 20%), seguido de una evaluación sensorial aplicado a 60 consumidores para determinar la concentración de pulpa de Mito que maximice la población de consumidores, donde se desarrolló un modelo de uso de la estadística de análisis de supervivencia. En la segunda etapa aplicó una prueba de ordenamiento donde mediante evaluación sensorial se ordena la cantidad óptima de estabilizante en el yogurt natural de mito preferido por los panelistas. En la última etapa de su investigación estimó la vida útil sensorial, aplicando una evaluación sensorial a las muestras de yogurt almacenadas a 5 °C, HR= 90% durante 0, 6, 12, 18, 24, 29 días. Los resultados del análisis fueron evaluados por su significancia ($p < 0.05$) usando el paquete “splines” y “survival” del software libre R mediante la Interfaz Gráfica Estudio. Obtuvo como resultado 10,7% concentración final de pulpa de mito y 0,4% de estabilizante. Usando un percentil de 50% podemos almacenar el yogurt con Mito en periodo de tiempo de 16 días y para un rechazo de solo un 25% de consumidores el periodo de almacenamiento será 12 días. Concluyendo que la interacción de tiempo de almacenamiento y consumidores finales, tiene una influencia altamente significativa ($p < 0.05$) sobre las muestras.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Yogur

Definición.

Según la OMS/FAO, el yogurt es lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, debido a las bacterias *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* sobre la leche pasteurizada o concentrada, con o sin adición de leche en polvo, etc. Los microorganismos serán viables, activos y abundantes en el yogurt hasta la fecha de caducidad.

Según la NTP (202.092:2008) yogurt es el producto obtenido por fermentación láctica, mediante la acción de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, a partir de leche pasteurizada y/o productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en su composición, pasteurizados; pudiendo o no agregarse otros cultivos de bacterias adecuadas productoras de ácido láctico, además de los cultivos esenciales. Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto, hasta la fecha de duración mínima. Si el yogurt es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables (Citado por Churayra, 2012).

Beneficios.

Andrade (2014) menciona que el yogurt proporciona beneficios a nuestro organismo, tales como mejora la digestión de la lactosa y los síntomas característicos de la intolerancia a la misma, previene y mejora los síntomas de diarrea debido a que ayuda a restablecer la flora bacteriana intestinal sana, fortalece nuestro sistema inmunológico, reduce los valores de colesterol sanguíneo, es una gran fuente de calcio y tiene efecto preventivo ante el cáncer de colon.

Parra (2012) concluye que, aunque no se conozcan las causas de algunas enfermedades, la experiencia documentada en la literatura y ensayos clínicos sugieren que cepas específicas de probióticos pueden ser útiles en la prevención de la bacteria *Helicobacter pylori*, alergias, diarrea, cáncer (de vejiga, colon-rectal y de seno), control del síndrome de colon irritable, equilibrio de la microflora intestinal y disminución de colesterol, entre otras.

Defectos - controles en la elaboración de yogur.

El yogur posee atributos de gran importancia para el consumidor, además de su valor nutricional y los beneficios que brinda. Uno de ellos es la textura, la cual influye en la aceptación del yogur, debido a que existe gran preferencia por yogures homogéneos y sin sinéresis. Durante su elaboración existen muchos factores que afectan la textura del producto final, además de la formulación (Guimarães, Iodelis y Aguiar, 2016; Rojas-Castro, Chacon, y Pineda-Castro, 2007). Entre los defectos más comunes tenemos:

pH.

El pH es uno de los principales parámetros a controlar en la elaboración de yogur, ya que la elaboración tiene como finalidad reducir el pH de la leche. Dicha reducción de pH influye en la viscosidad, firmeza del producto y contribuye al sabor y aroma característico del yogur (Mori, 2017; Rojas-Castro *et al.*, 2007).

El pH afecta la actividad enzimática y las propiedades de otras proteínas, lo que influye de manera significativa sobre la estabilidad en almacenamiento (Mori, 2017).

Acidez.

El aumento de la acidez del yogurt por la producción de ácido láctico ocasiona la coagulación de la caseína, además afecta la textura y el sabor en el producto. La acidez de un yogurt debe oscilar entre 0,8-1,8% de ácido láctico. El porcentaje de ácido láctico adecuado es extremadamente importante para obtener un yogurt de alta calidad con sabor propio, cuerpo y textura propia, esto es para que el producto tenga el mínimo porcentaje de sinéresis durante el almacenamiento (Mori, 2017).

Viscosidad.

La viscosidad es la resistencia del líquido a fluir o deformarse. Esta propiedad se relaciona con el contenido de lactosa, grasa, estructura de la caseína y los tamaños del glóbulo de grasa. La viscosidad varía con la temperatura, el estado de dispersión y la concentración de los componentes sólidos. (López, 2003, citado por Martínez, 2016). La leche es mucho más viscosa que el agua; esta mayor viscosidad se debe, por completo a la materia grasa en estado

globular y a las macro moléculas proteicas, la viscosidad disminuye con la elevación de la temperatura. Toda modificación que actúa en las grasas o las proteínas tendrá un efecto particular en la viscosidad, la homogenización eleva la viscosidad de la leche, así como los factores que producen variaciones en el estado de hidratación de las proteínas también son causas de los cambios de viscosidad. La coagulación por acidificación para la preparación de leche ácida, se logra mediante el agregado cultivos de bacterias lácticas; estos microorganismos transforman la lactosa en ácido láctico cuando el pH se acerca al punto isoeléctrico de la caseína aumenta la viscosidad, por lo que se obtiene fácilmente productos más espesos, con textura de gel, tal como el yogurt las condiciones necesarias para la formación del gel, establece un delicado balance en la precipitación.

Sinéresis.

La sinéresis es uno de los defectos más comunes en el yogurt, el cual afecta de manera directa su calidad sensorial, generando rechazo por el consumidor. La sinéresis es la separación del lactosuero, este se acumula en la superficie del alimento, y es causado por la contracción del gel, los factores relacionados a la sinéresis son: alto contenido de minerales, bajo contenido de sólidos, pasteurización deficiente, incubación a temperatura alta, acidez elevada, homogenización insuficiente y uso de renina (Acevedo, Rodríguez y Fernández, 2010; Mori, 2017).

Para obtener un yogurt de buena calidad, este debe presentar un porcentaje de sinéresis inferior al 42%, ya que, al tener un porcentaje de sinéresis superior, se eleva la acidez. Entre las técnicas empleadas para reducir el porcentaje de sinéresis, las más empleadas son la adicción de solutos y la homogenización (Mori, 2017).

2.2.2. Mashua

Origen.

La mashua, es una planta herbácea originaria de la región andina, donde también fue domesticada Su hábitat es valles húmedos, su distribución natural se extiende desde Colombia hasta el norte de Argentina (Perú, Colombia, Argentina, Ecuador y Bolivia), entre los 2400 hasta los 4300 msnm, y desde hace algunas décadas se cultiva también en algunas regiones de Nueva Zelanda y Canadá. (Manrique *et al.*, 2013, p. 1).

Mera (2014), menciona que los Andes es una zona de agricultura tradicional, probablemente su estacionalidad anual en cuanto a temperaturas y precipitaciones, favorecieron la evolución de tubérculos. Las evidencias arqueológicas sugieren que sus tubérculos ya eran consumidos desde hace más de 7500 años (Manrique *et al.*, 2013, p. 1). “La mashua es un cultivo de alta sierra, aparentemente originaria de los Andes Centrales. Es una planta cultivada desde la época prehispánica en los Andes y está representada en la cerámica de esos tiempos” (Mera, 2014).

Clasificación taxonómica.

En cuanto a la clasificación taxonómica, Paredes (2012) cita que dentro de la familia Tropaeolaceae, el género más grande es el Tropaeolum, que incluye a más de 86 especies distribuidas por toda Sudamérica. Según, Temoche *et al.*, 2004, citado por (Pacco, 2015, p. 3), la ubicación taxonómica de las mashua es la siguiente:

Reino: Vegetal.

Clase: Angiospermas.

Sub clase: Dicotiledoneas.

Orden: Geraniales.

Familia: Tropaeolaceae.

Género: tropaeolum.

Especie: tuberosum R. et P.

Nombre Científico: tropaeolum tuberosum R. et P.

Nombres Comunes: “mashua”, “añu”, “cubios”, “navios”, “isaño”, “isañu”.

Variedades y colores.

Se han reconocido más de 100 variedades de mashua. Existen colecciones de germoplasma en Ecuador y Perú. Por el color se reconocen muchas variedades como: blanca, amarilla,

chaucha, morada y zapallo (Suquilanda, 2012, p. 22). En la tabla 1 se muestra las variedades de mashua de acuerdo a su coloración:

Tabla 1

Variedades de la mashua

Nombre	Color
Occe-añu	Plomizo
Yana-añu	Negro
Checche-añu	Gris
Ckello-añu, K'ello-añu	Amarillo
Muru-añu	Morado
Phutilla añu	Rojo
Puca-añu	Rojo
Yana-añu	Negro
Yurac-añu	Blanco
Zanahoria-añu	Similar a una zanahoria
Zapallo-añu	Similar a una calabaza
Quillu-mashua	Amarillo
Putsu-mashua	Fondo amarillo con rayas rojas
Sucusu-mashua	Fondo amarillo con rayas rosadas
Mashua yana-saco	Negra
Mashua-chaucha	Maduración temprana
Mashua-shira	Amarilla con punto morados
Mashua-zapallo	Amarilla y roja
Mashua-zapallo	Amarilla
Sangre de Cristo (Christ's blood)	Fondo amarillo con rayas rojas
Yawar waqac (weeping tears of blood)	Fondo Amarillo con rayas rojas
Huaka hasta o Huagra hasta	Curvada y larga
K'ella añu	Olor fétido
Take-añu o taqui-añu	Buena para el almacenamiento
Kita-añu	Mashua silvestre
Añu-añu	Mashua silvestre

Fuente: Tomado de Beltrán et al (citado en Flores, 2015). *Evaluación de la aceptabilidad organoléptica y capacidad antioxidante de una bebida alcohólica no fermentada, formulado con extracto fenólico de Mashua (Tropaelum Tuberosum) púrpura* (p. 20)

Composición química.

Según Doylet y Rodríguez (2018, p. 14), la Mashua posee un alto contenido en proteínas, carbohidratos, fibras y calorías. Es rica en vitaminas B, C y A (lo cual es influenciado por la variedad). Tiene un adecuado balance de aminoácidos esenciales. En la tabla 2, se observa la composición química de la Mashua en base húmeda y base seca.

Tabla 2

*Composición química de 68 entradas de mashua, pertenecientes al Banco de Germoplasma del INIAP**

Parámetro	Unidad	Valor
Humedad	%	88,70
Cenizas	%	4,81
Proteína	%	9,17
Fibra	%	5,86
Extracto Etéreo	%	4,61
Carbohidrato Total	%	75,40
Ca	%	0,006
P	%	0,32
Mg	%	0,11
Na	%	0,044
K	%	1,99
Cu	ppm	9,00
Fe	ppm	42,00
Mn	ppm	7,00
Zn	ppm	48,00
Almidón	%	46,92
Azúcar Total	%	42,81
Azúcares Reductores	%	35,83
Energía	kcal/100g	440,00
Vitamina C	mg/100 mf	77,37
Eq. Retinol	Eq/100 mf	73,56

Datos expresados en Base Seca

Fuente.: Tomado de Paredes (2012). *Evaluación del efecto del procesamiento: blanqueado y secado en el contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa en Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon (p. 41).

“En nuestro país son subutilizados y con escasa demanda por los consumidores, aun teniendo elevado valor nutritivo con aporte de compuestos fenólicos, antocianinas, proteínas, carbohidratos, ácido ascórbico y otros principios bioactivos” (Inostroza *et al.*, 2015, p. 84).

Capacidad antioxidante.

Chirinos, Rogez, Campos, Pedreschi y Larondelle (2007) encontraron que la mashua púrpura posee un alto contenido en compuestos antioxidantes comparables con los presentes en fuentes antioxidantes ya reconocidas. La mashua púrpura presenta contenidos fenólicos comparable a la frambuesa y mora. También menciona que la mashua tiene un alto potencial antioxidante y es una buena fuente de fitonutrientes.

Campos *et al.* (2006), concluyeron que la mashua morada posee mayor actividad antioxidante comparado a ciertos cultivos andinos, incluyendo papas coloreadas, olluco y oca. Además, la mashua púrpura presenta de ocho a diez veces más actividad antioxidante que mashua amarilla y sugieren que esto se debe a que la actividad antioxidante se correlacionaba con el alto contenido de antocianinas.

Las principales antocianinas encontradas en los diferentes genotipos de mashua fueron delphinidina di- y tri-glucósidos acilados con ácido acético. Las cianidinas y pelargonidinas también se encontraron en cantidades menores (Chirinos *et al.*, 2008).

Chirinos *et al.* (2008), concluyen que los compuestos encontrados en los diferentes genotipos estudiados derivaron del ácido gálico, galocatequina, epigalocatequina, procianidina B2 y epigalocatequina, diferentes derivados de ácido hidroxicinámico e hidroxibenzoico y derivados de rutina y / o miricetina.

Producción.

En el Perú, la producción de mashua durante el periodo enero – setiembre, ha ido en aumento gradualmente. En la figura 1 se muestra el crecimiento anual de la producción de mashua en el Perú, durante el período Enero – Setiembre, en el año 2003 la producción nacional alcanzo 37.076 mil toneladas, para el 2008 la producción llego a las 28,993 mil toneladas, el 2013 aumento a 30,967 mil toneladas y este año alcanzó un volumen de producción de 42, 327 mil toneladas.

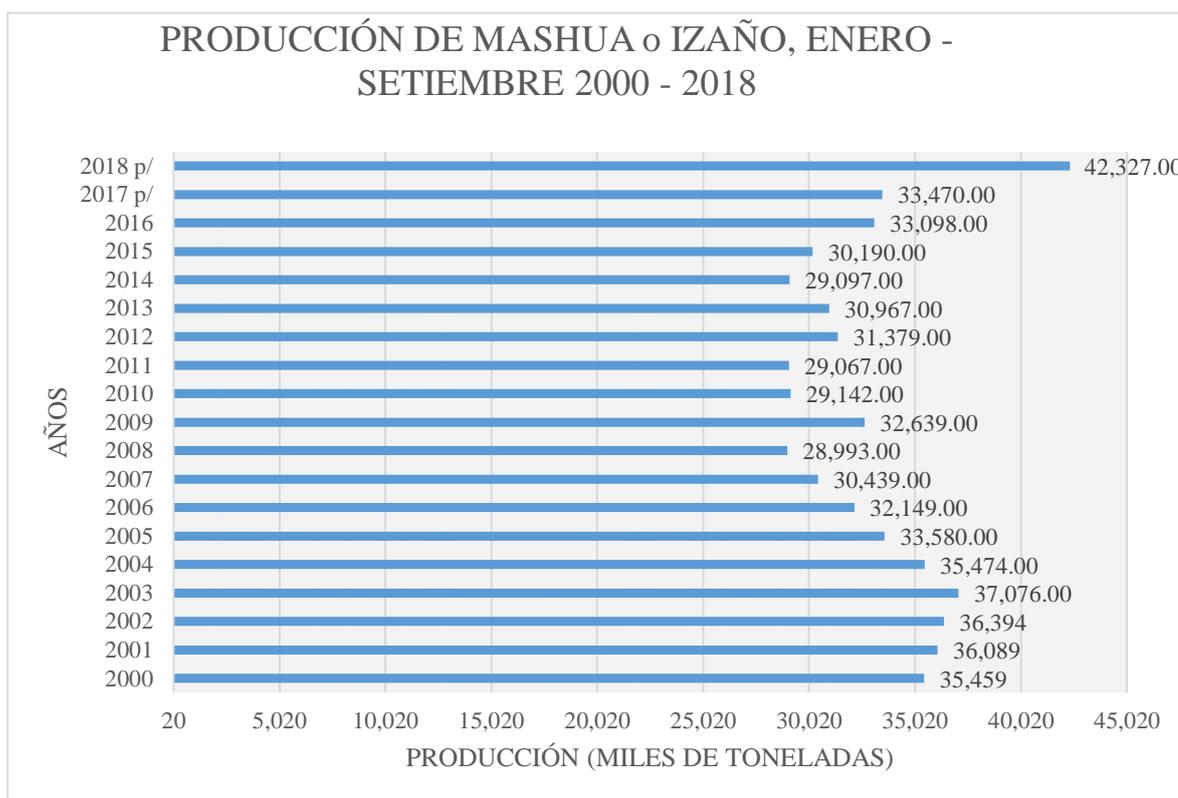


Figura 1. Producción de mashua, Enero – septiembre 2000 – 2018.

Fuente: Adaptado de Albújar (2018). *Boletín Estadístico Mensual “El Agro en Cifras”*. (p. 14)

Según Cuya (2009), la Mashua es destinada al consumo animal y humano, y se utiliza con ingredientes en sopas, guisos, postres, etc. También es utilizada como repelente de insectos, nematodos y otros patógenos (p. 5).

La Mashua tiene poco valor comercial, a pesar de su alto valor nutritivo, es rechazada debido a su sabor fuerte y los efectos antiandrosíacos, para los hombres, aunque no afecta la fertilidad sin embargo hay un descenso en los niveles de testosterona (Ramallo *et al.*, 2004).

Entre los usos terapéuticos de la Mashua, se menciona su uso en tratamientos de la inflamación de las vías urinarias, enfermedades de los riñones y prostatitis, a pesar de no existir estudios científicos que avalen dichas propiedades terapéuticas (Doylet y Rodríguez, 2018, p. 2).

Sin embargo, se usa en medicina popular como un agente inductor de la menstruación para las mujeres, para tratar enfermedades renales y úlceras cutáneas, etc. Además, tiene

propiedades antifúngicas, insecticidas, nematocidas, antibióticas y diuréticas (Ramallo *et al.*, 2004).

Chirinos, Pedreschi, Cedano, y Campos (2015), demostraron que los compuestos fenólicos de mashua son efectivos para limitar la oxidación lipídica del aceite de sacha inchi y la carne cruda de cerdo molido durante el almacenamiento y podrían usarse como fuente alternativa de antioxidantes naturales.

2.2.3. Stevia

Origen.

Stevia es planta ampliamente distribuida en Sudamérica y Centro América, existen aproximadamente 240 especies, siendo la *Stevia rebaudiana* la que más destaca por sus propiedades edulcorantes (Villamarín, 2016).

Šic *et al.* (2013) reporta que es originaria de la cordillera de Amambay ubicada entre el Sur de Brasil y el noreste de Paraguay, las comunidades guaraníes la consumen desde tiempos ancestrales como endulzante y medicina. En la figura 2 se muestra las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni.



Figura 2. Hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Fuente: Tomado de Lemus-Mondaca, Vega-Gálvez, Zura-Bravo y Ah-Hen (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener (p. 1122)

Según Lemus-Mondaca *et al.* (2012), la *Stevia rebaudiana Bertoni* es originario de la región de Amambay, en el noreste de Paraguay, zonas vecinas de Brasil y Argentina. Actualmente su cultivo se ha extendido a otras regiones del mundo, incluyendo Canadá y algunas partes de Asia y Europa.

Clasificación Taxonómica.

Según Zanon (2000), la *Stevia* presenta la siguiente clasificación taxonómica (citado por Gonzales y Tejada, 2010):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub. Clase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Stevia*

Especie: *S. rebaudiana*

Nombre científico: *Stevia Rebaudiana Bertoni*

Capacidad antioxidante.

Se sabe que los antioxidantes neutralizan a los radicales libres, a la vez estos radicales son causantes del estrés oxidativo y ello involucra varias enfermedades degenerativas y patológicas (diabetes, inflamación, envejecimiento y varios tipos de cáncer). A las hojas de stevia se le han realizado análisis los cuales confirman que posee propiedades antioxidantes en presencia de antocianinas, llegando a la conclusión de que las hojas de stevia son beneficiosas para la salud, al ser una fuente de antioxidantes naturales (Salvador-Reyes, Sotelo-Herrera y Paucar-Menacho, 2014).

En la investigación de Phansawan y Pounbangpho (2007), se estudiaron cinco plantas medicinales entre ellas la hoja de *S. rebaudiana Bertoni*, a las cuales se les sometió a una extracción de antioxidantes con diferentes solventes. Donde las hojas de *Stevia* fueron las

que presentaban una capacidad antioxidante superior, seguida de *C. alata* Linn. , *C. longa* Linn., *A. paniculata* (Burm.f.) Nees. Y *P. mirifica*. Respecto a los solventes extractantes, se obtuvo un valor superior de capacidad antioxidante con la acetona y metanol.

Lemus-Mondaca *et al.* (2012), mencionan que el extracto de Stevia presenta actividad antioxidante alta e inhibe la formación de hidroperóxido en el aceite de sardina con mayor eficacia que el extracto de té verde. Concluyendo que el extracto de Stevia tiene un gran potencial para ser empleado como antioxidante natural.

Usos.

Según Goyal, Samsher, y Goyal (2010), la stevia es muy versátil, y puede ser utilizada en medicamentos a base de hierbas, tónicos para diabéticos, en enjuagues bucales y cremas dentales. Debido a que no afecta los niveles de azúcar en sangre, no genera efectos secundarios neurológicos o renales y posee propiedades antifúngicas y antibacterianas.

2.2.4. Medición de la capacidad antioxidante

Definición.

La capacidad antioxidante es el número de moles de un radical libre determinado secuestrado por la solución de prueba de forma independiente por un antioxidante en la mezcla. La potencia antioxidante total que se analiza mediante las actividades reductoras combinadas de una sustancia dada (Shivakumar y Yogendra-Kumar, 2018).

Moharram y Youssef (2014), enfatizan en la diferencia existente entre la actividad antioxidante y antiradical, ya que este último caracteriza la capacidad de reacción de los compuestos con los radicales libres, mientras que la actividad antioxidante representa la capacidad de inhibición del proceso de oxidación.

Existen muchos procedimientos *in vitro* para evaluar las actividad antioxidante de las muestras de interés, los cuales son difíciles de comparar uno con otro, ya que los modelos de prueba de antioxidantes varían en diferentes aspectos (Dontha, 2016).

Clasificación.

Sobre la base del modo de acción, los antioxidantes se pueden clasificar en dos grupos principales, a saber, la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y los ensayos de transferencia de electrones simples (SET). Los antioxidantes pueden eliminar radicales u otras ROS por HAT y ET que conducen a los mismos resultados finales, independientemente del mecanismo involucrado, aunque la cinética y el potencial de reacciones secundarias varían (Moharram y Youssef, 2014; Shahidi, 2015).

Los ensayos basados en HAT miden la capacidad de un antioxidante para atenuar los radicales libres por donación de átomos de H. Dado que en los ensayos antioxidantes basados en HAT, tanto la sonda fluorescente como los antioxidantes reaccionan con $ROO \cdot$, la actividad antioxidante puede determinarse a partir de la cinética de competencia midiendo la curva de decaimiento de fluorescencia de la sonda en ausencia y presencia de antioxidantes, integrando el área bajo estas curvas, y encontrar la diferencia entre ellos (Moharram y Youssef, 2014).

Los ensayos en SET, en la mayoría de estos ensayos, la acción antioxidante se simula con una sonda de potencial redox adecuada, es decir, los antioxidantes reaccionan con una sonda fluorescente o coloreada (agente oxidante) en lugar de radicales peroxilo. Los ensayos espectrofotométricos basados en SET miden la capacidad de un antioxidante en la reducción de un oxidante, que cambia de color cuando se reduce. El grado de cambio de color se correlaciona con la concentración de antioxidantes en la muestra. ABTS, TEAC y DPPH son ensayos de decoloración, mientras que en el ensayo de fenoles totales Folin, FRAP y CUPRAC hay un aumento en la absorbancia a una longitud de onda pre-especificada cuando el antioxidante reacciona con el reactivo cromogénico. La tabla 3 muestra los métodos HAT y SET (Moharram y Youssef, 2014).

Tabla 3

Los métodos HAT y ET utilizados para evaluar la actividad antioxidante

S.	N°	Nombre del Método
I		Método basado Transferencia Átomo de Hidrógeno (HAT) (TAH)
	1)	Capacidad de Absorbancia de Radicales de Oxígeno (ORAC) (CARO)
	2)	Capacidad de Inhibición Peroxidación Lipídica (LPIC)
	3)	Parámetro Antioxidante Total de Captura de Radicales Peroxilo (TRAP)
	4)	Inhibición del Consumo de Oxígeno (IOC)
	5)	Actividad inhibición por blanqueo de crocina por radicales de óxido nítrico
	6)	Actividad antioxidante del radical hidroxil por p-NDA (p-butrisidunethyl aniline)
	7)	Radicales secuestrados de H ₂ O ₂
	8)	Secuestro de radicales por ABTS
	9)	Secuestro de radicales super óxido por formación alcalina (SASA)
II		Método Transferencia de Electrones (ET)
	1)	Capacidad Antioxidante Trolox Equivalente (TEAC) decolorización
	2)	Poder Antioxidante por Reducción Ferrica (FRAP)
	3)	Capacidad de Reducción del Cobre (II)
	4)	Secuestro de radicales libre por DPPH
	5)	Fenoles Totales por Folin-Ciocalteu
	6)	N, N-dimetil-p-fenil-N-diamina (DMPD)

Fuente. Tomado de Moharram y Youssef (2014). *Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review* (p. 35)

2.2.5. Análisis de supervivencia

Definición.

Según Hough (2010), el análisis de supervivencia es un conjunto de técnicas que son muy utilizados en estudios clínicos, biológicos, epidemiológicos y sociológicos, entre otras muchas aplicaciones esta técnica permite estudiar la variable donde ocurre un evento y su dependencia de otras posibles variables explicatorias.

Garitta *et al.* (2018), indican que el análisis de supervivencia es una rama de la estadística que es usada extensamente en estudios clínicos, de confiabilidad y ambientales donde el fenómeno de censura es un concepto clave y escasamente abordado. Esta metodología se basa en la inferencia estadística por máxima verosimilitud bajo modelos probabilísticos y en la actualidad empieza a ser utilizada en estudios de calidad sensorial y nutritiva de los alimentos, donde la función de supervivencia se define como la probabilidad de que el consumidor acepte un alimento después de un cierto tiempo de almacenamiento, y la censura ocurre al registrar las respuestas "si" o "no" de los consumidores.

Aplicación.

Hough (2010), menciona que esta técnica en un primer momento fue empleada para estimar la vida útil sensorial de un alimento, la variable de resultado de interés es el tiempo hasta que se produjo el evento de rechazo por parte de los consumidores, pero el tiempo puede ser sustituido por otras variables en el sistema en estudio por ejemplo, una distancia, una cantidad o una concentración en la cual induzca a un fallo o un defecto sensorial en el producto, por lo expuesto la optimización sensorial de un alimento se aplica a los parámetros de los dos eventos o sucesos siguientes: la cantidad adecuada de ingredientes que coincide con la aceptación o rechazo del producto por parte de los consumidores. De manera sencilla podríamos decir que conociendo la actitud del consumidor hacia el producto: "si" o "no" consumiría este producto, podemos estimar la concentración óptima del mismo. Para ello sólo se requiere disponer de muestras preparadas a diferentes niveles de porcentaje de concentración en estudio, tal como los siguientes trabajos que se pueden listar a continuación: Aplicación del análisis de supervivencia para estimar la concentración óptima de sal en el pan francés de Argentina, Optimización de la concentración del color rojo fresa en yogurt donde la aplicación de la estadística de análisis de supervivencia fue para estudiar los límites de tolerancia del consumidor a defectos sensoriales midiendo la concentración de la coloración oscura en la leche UHT y entre otros la optimización del nivel de concentración de sacarosa en jugo de naranja (Hough, 2010).

Optimización de concentración.

La modelación para estimar la vida útil sensorial es en función al rechazo o falla (conocido también como distribución acumulativa función de t) $F(t)$ y está definida como la probabilidad de que un consumidor rechaza un producto alimenticio almacenado antes del

tiempo t conocido como función de Rechazo (Hough, 2010), y la relación que tiene con la función de supervivencia $S(t)$ (también llamada a veces función de confiabilidad) es $F(t)=1-S(t)$. Para el caso de estudios de optimización, se emplea la misma función de rechazo solo cambiando la variable tiempo por la de concentración, si C es la concentración de defecto sensorial a la que un consumidor rechaza la muestra, la función de fallo $F(c)$ se puede definir como la probabilidad de que un consumidor (o proporción de consumidores) rechazan un alimento con el nivel de un defecto sensorial, por tanto, $F(c)= 1-S(c)$.

Hough (2010) y Garitta *et al.* (2018) coinciden en recomendar que para el análisis estadístico de los datos obtenidos se orientan a un determinado modelo paramétrico que ajusta razonablemente bien los datos. Este modelo que es más empleado en el área de alimentos es la de distribución de Weibull, aunque también se emplean los modelos de; log-normal, exponencial, log-logístico, etc.

Hough (2010) expone que para la modelación de la función de supervivencia $S(c)$ en el caso de optimización de un ingrediente para el modelo de Weibull es;

$$S(c) = e^{\left(-\left(\frac{c}{\alpha}\right)^\beta\right)} \quad (1)$$

Donde; c es la concentración del ingrediente, α y β son los parámetros del modelo conocidos como de escala y forma respectivamente. Así la función de rechazo estaría dada por;

$$F(c) = 1 - e^{\left(-\left(\frac{c}{\alpha}\right)^\beta\right)} \quad (2)$$

Otra manera de expresar la función $F(c)$ de modo que la ecuación sea más linealizada y que es empleada por varios programas estadísticos es cambiando los parámetros $\sigma =1/\beta$ y $\mu =\ln(\alpha)$ por tanto el modelo queda expresado como;

$$F(c) = 1 - e^{\left[-e^{\left(\frac{\ln(c)-\mu}{\sigma}\right)}\right]} \quad (3)$$

Un diferencial de esta metodología y que el modelo debe tener en cuenta es la presencia de datos censurados, que se produce cuando el evento de interés no se puede observar con exactitud, y su ocurrencia sólo es conocida durante un intervalo de tiempo determinado (Hough, Langohr, Gómez y Curia, 2003).

2.3. Definiciones de términos básicos.

- **Capacidad Antioxidante:** actividad biológica responsable de inhibir la oxidación de biomoléculas, promoviendo un efecto preventivo sobre determinadas enfermedades.
- **Antioxidante:** Pueden ser definidos como sustancias cuya acción consistiría en inhibir la tasa de oxidación de los nocivos radicales libres (disminuyen las defensas, producen daño celular con la posibilidad de producir cáncer, arteriosclerosis y envejecimiento).
- **DPPH:** 2,2-difenil-picril-hidracilo, es un polvo cristalino de color oscuro compuesto por moléculas estables de radicales libres, este compuesto se decolora ante la reacción con un radical oxidante cambiando de color por lo cual es aprovechado en los análisis colorimétricos.
- **In vitro:** un cultivo in vitro significa hacer el cultivo en recipientes de vidrio bajo condiciones asépticas en el laboratorio. Técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. Ejemplo la fecundación in vitro es ampliamente conocido.

2.4. Hipótesis de investigación

2.4.1. Hipótesis General

La adicción de *Tropaeolum Tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante y *Stevia rebaudiana* como edulcorante, elevará significativamente la capacidad antioxidante del yogur y se tendrá un producto aceptable.

2.4.2. Hipótesis Específicos

Mediante la adición de la *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” previamente acondicionada y la *Stevia rebaudiana* se obtendrá un yogur sensorialmente aceptable.

Con la incorporación *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante y *Stevia rebaudiana* como edulcorante, aumentara significativamente la capacidad antioxidante del yogur.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Diseño Metodológico

3.1.1. Tipo de Investigación

El trabajo de investigación es de tipo experimental, transversal y responde al carácter Cuantitativo, explicativo, aplicado y observacional porque se obtienen los datos y se observa todos los acontecimientos ocurridos durante el proceso de ejecución de la investigación.

3.1.2. Nivel de Investigación

Esta investigación es de nivel descriptivo y explicativo, ya que se explica el efecto Proporción de Mashua púrpura y stevia sobre la Capacidad antioxidante del yogur.

3.1.3. Materiales e insumos

Materias primas e insumos

- Mashua púrpura
- Leche de vaca
- Stevia cristalizada comercial
- Leche en polvo
- Cultivo lácteo

Reactivos

- Metanol (99.8%)
- Etanol absoluto
- Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) 1 mM (98.1% - Merck).
- Agua desionizada
- Agua destilada.
- Buffer fosfato 75 mM
- ABTS+
- AAPH

Equipos

- Potenciómetro (H18424- Hanna Instruments).
- Refractómetro digital (HI 96801 – Hanna Instruments).
- Balanza analítica (P A214 y P AJ21 02- Ohaus).
- Balanza electrónica (W A2 -e-Accüra)
- Centrifuga universal (MPW-251 Med. Instruments)
- Refrigeradora marca Electrolux
- Congelador marca Artiko
- Agita tubos (VM-300 Vortex Mixer)
- Licuadora
- Extractor
- Lector de microplaca

Materiales

- Vasos de precipitación (10, 50, 100, 250) ml
- Tubos de centrifuga de 15, 50 ml (Falcon)
- Micropipeta (100-1200 μ L)
- Micropipeta (2-200 μ L)Papel aluminio
- Micropipeta (10-20 μ L)
- Probeta (20,50, 250, 500) ml c/u
- Termómetro digital
- Bagueta
- Espátula
- Pizetas
- Materiales de procesamiento (cuchillo, tela, coladores utensilios de acero, etc.)

3.1.4. Diseño experimental

Para lograr los objetivos que se plantearon en la presente investigación, se estableció el diseño metodológico procedimental en dos etapas tal como se aprecia en la figura 3:

Fase 1: Elaboración de yogur

La mashua púrpura seleccionada fue sometida a un tratamiento térmico de cocción, se logró obtener un puré, el cual fue añadido a un yogur natural en diferentes concentraciones, hasta

que su color se asemeje al de un yogur comercial, para obtener el porcentaje óptimo de Stevia se realizó una evaluación sensorial de diferentes concentraciones seguido de un análisis estadístico de supervivencia.

Fase 2: Determinación de la capacidad antioxidante total del yogur

En la segunda fase una vez obtenida el tratamiento óptimo de yogur, será determinar su contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante. También se realizaron otras evaluaciones como pH, color, sinéresis, viscosidad y acidez titulable en un periodo de almacenamiento por 28 días.

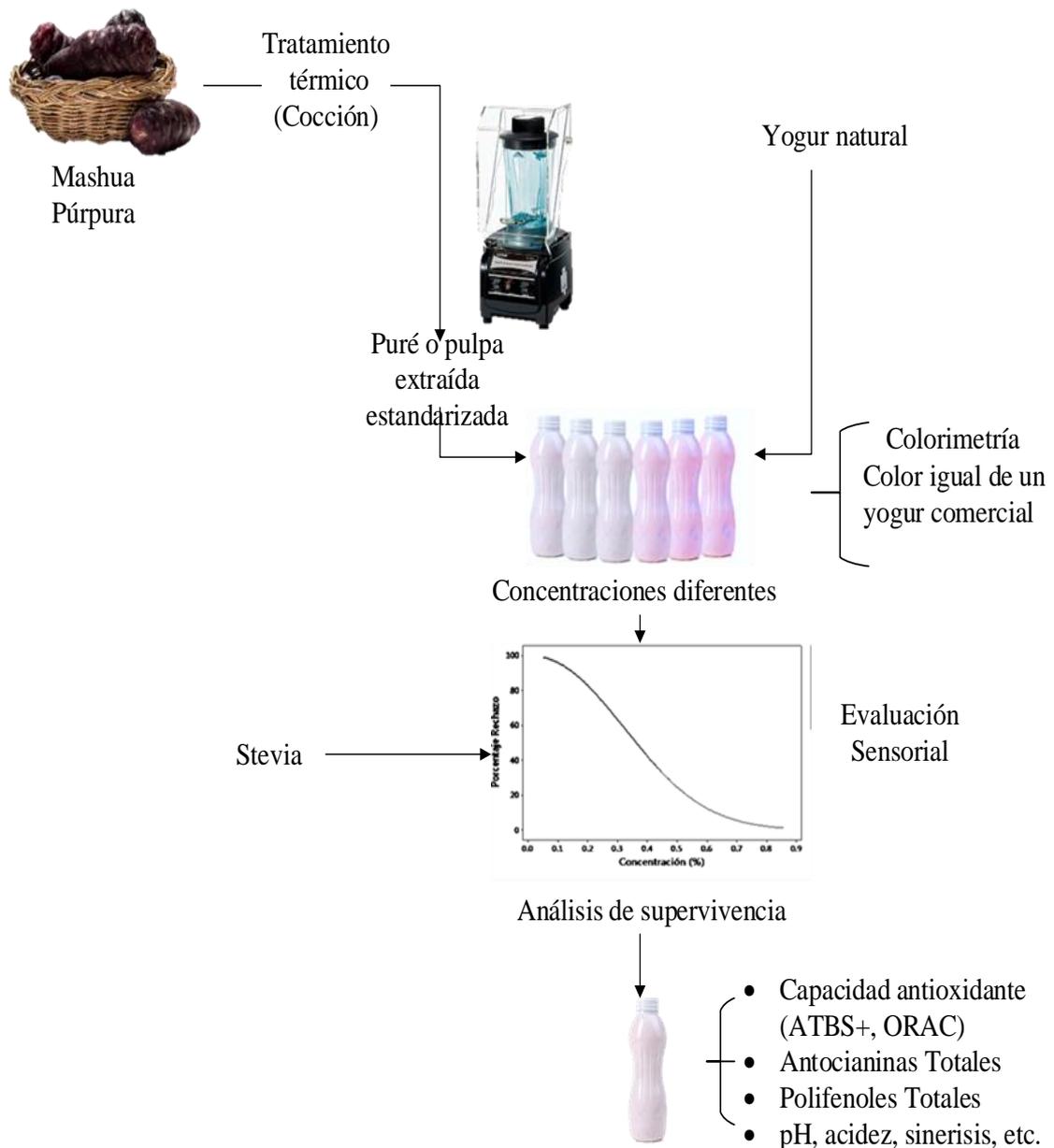


Figura 3. Esquema del proceso experimental de la investigación.

3.1.5. Enfoque

El estudio se realizará bajo un enfoque aplicado – cuantitativo, con el fin de evaluar el efecto sobre la capacidad antioxidante, generado por la adición de *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura” como colorante y de la *Stevia rebaudiana* como edulcorante en un yogur natural, para lo cual se procederá a realizar un extracto o puré de mashua púrpura, se realizaran diferentes tratamientos de las mezclas y en cada uno de ellas se realizará una evaluación sensorial para medir el grado de aceptabilidad del producto. Se seleccionará el yogur que tenga mayor aceptabilidad comparativa.

3.1.6. Variables evaluadas

El estudio presenta las siguientes variables operacionales:

Tabla 4

Operacionalización de las variables e indicadores del estudio

Variables	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos de medición	Unidad de medida
		Acidez	Titulador	%
<u>Independientes:</u> Proporción de Mashua púrpura y concentración de stevia.	Propiedades fisicoquímicas	Brix	Brixometro	°Bx
		pH	Potenciómetro	
	Atributos sensoriales	Color, sabor, acidez y aceptabilidad	Evaluación sensorial	Escala hedónica
	Capacidad anti radical	ABTS+ ORAC	Lector Microplacas	TEAC
<u>Dependientes:</u> Capacidad antioxidante del yogur.	Antocianinas	Diferencial de pH	Lector microplacas	Mg /L
	Contenido polifenoles	Folin-Ciocalteu	Lector Microplacas	mg EAG/g

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

La población está conformada por la Mashua púrpura, con características organolépticas adecuadas, procedentes del mercado central del distrito Huacho -Provincia Huaura.

3.2.2. Muestra

La unidad de análisis es el yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y coloreado con *Tropaeolum tuberosum* “Mashua Púrpura”.

3.3. Técnicas de recolección de datos

3.3.1. Técnicas a emplear

Obtención del extracto o puré de Mashua

Los tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* de coloración purpura (mashua negra) fueron adquiridos del mercado centenario y central de la Ciudad de Huacho (Lima, Perú), previamente fueron seleccionadas, lavadas, escurridas para luego someterlas a una cocción en una hervidora a temperatura de ebullición por un tiempo de 15 minutos donde la proporción agua/tubérculo fue de 1:1 (Volumen, Lt/peso, Kg), luego de retirar el agua se procedió a licuar los tubérculos cocidos empleando una licuadora semi industrial, el grado de finura del puré obtenido fue tal que paso por la malla de tamiz de 0.8 mm, se llenó en frascos de vidrios cuando se mantenían caliente y fue refrigerado (5°) o congelado (-25°C) hasta ser incluido en la preparación del yogur.

Elaboración del yogur.

El diagrama de flujo tentativo para la elaboración de yogur natural que después sería edulcorado con Stevia y coloreado con Mashua púrpura se presenta en la Figura 4, a continuación, se describe las operaciones:

- a) Materia prima:** Se empleó leche fresca entera de vaca comercializada en el mercado centenario de la Ciudad de Huacho a una temperatura de 5-8°C, también se empleó leche entera en polvo instantánea comercial (Gloria).

- b) Mezclado:** a la leche fresca entera de vaca se le agrega la leche en polvo en una proporción de 1.5 a 3% en peso, se agita hasta obtener una mezcla homogénea.
- c) Filtrado:** se utilizó una tela tipo gasa para filtrar las impurezas que pudiesen existir, debido a la manipulación propia de la leche al momento de ser recolectada de la ganadería y de los grumos que se podrían formar al añadir la leche en polvo.
- d) Tratamiento térmico:** La pasteurización se realizará a 90°C por 5 minutos, en una olla de acero inoxidable. La finalidad de esta operación es la destrucción y/o eliminación de microorganismos patógenos y la flora que no interese. Además, la pasteurización con los parámetros indicados favorece una buena coagulación y reduce la separación de suero.
- e) Enfriamiento:** Una vez que la leche recibió el tratamiento térmico, se debe enfriar hasta una temperatura de 43-45 °C en un tiempo más corto posible, esta temperatura es óptima para adicionar el cultivo y desarrollo de los microorganismos apropiados.
- f) Inoculación del cultivo:** Se empleará un cultivo de uso directo (CHR HANSEN) en un 2% en peso, se incorporará y agitará por un 1 minuto con la finalidad de conseguir la distribución uniforme de los microorganismos del cultivo en la leche.
- g) Incubación:** Esta operación consiste en mantener la mezcla a una temperatura promedio de 40 a 45 °C, durante 4 horas empleando un baño maría termo controlado, se terminó la incubación cuando el producto alcanzó una acidez de 0,64-0.67 % y pH 4.37, con un examen visual se observó que el yogurt formó un gel compacto
- h) Enfriamiento:** el producto fermentado con % de acidez adecuado es enfriado en una cámara refrigeradora a 7-8°C por un periodo de 8 horas.
- i) Batido:** Se romperá el coágulo formado, agitándolo lentamente con ayuda de un agitador manual, en esta etapa se adicionará el puré de Mashua estabilizada y Steve granulada en concentraciones previamente determinadas.
- j) Envasado:** se envasará en recipientes plásticos de yogurt de 500 y 1000 mL de capacidad, los cuales fueron desinfectados con anterioridad y esterilización con vapor.
- k) Almacenado:** el yogurt envasado fue conservado a una temperatura de refrigeración a 5 °C, para su posterior análisis.

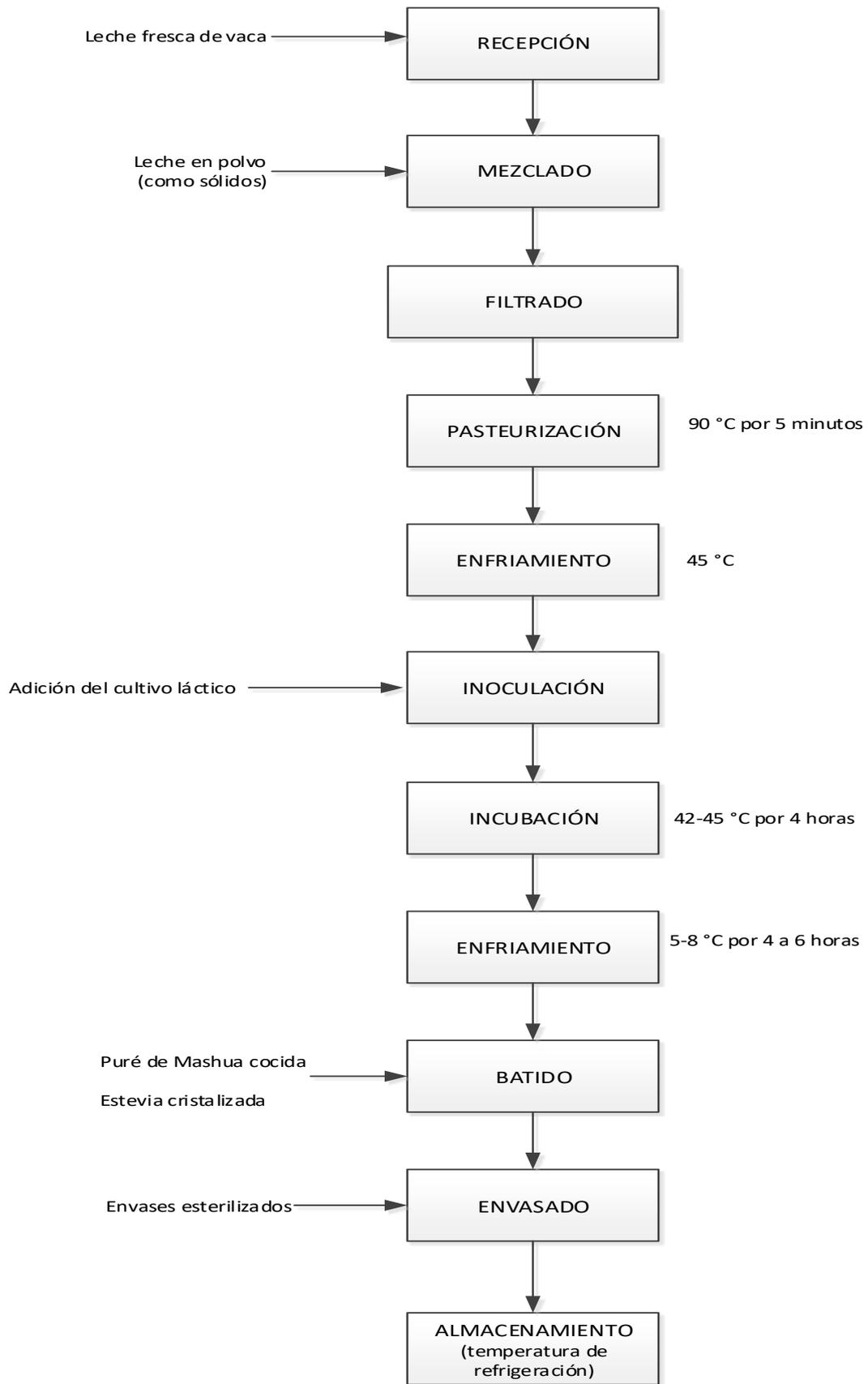


Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración del yogurt con Mashua y Stevia.

Análisis experimentales previos

a) Determinación de la proporción de puré de mashua adicionada

Para obtener qué proporción o cantidad de puré de mashua se debe agregar al yogur natural se realizó una comparación colorimétrica con yogur comerciales de fresa (3 marcas), sauco (2 marcas) y mora (2 marcas), para lo cual se prepararon 5 concentraciones de yogur con puré de mashua purpura de 16.67 a 83.55 g de puré mashua/Litro de yogurt natural, se determinó el color empleando el colorímetro CR-400 en el espacio CIEL*a*b*, con lo valores colorimétrico se ploteo una gráfica con coordenadas b* vs L* y en ella se pudo visualizar la semejanza colorimétrica entre el yogur problema y yogur comercial .

La concentración optima de g de puré mashua/Litro de yogurt natural fue calculado mediante el método grafico de punto de corte (Hough, 2010) con valores de distancia ΔE vs Concentración, los valores ΔE fueron calculado en base al yogur natural y las concentraciones de 16.67 a 83.55 g de puré mashua/Litro de yogurt natural fueron modelizado linealmente, la concentración ideal fue cuando el ΔE sea igual al del color del yogur comercial previamente seleccionado.

b) Aceptabilidad en la adición de stevia granulada

Un total de 80 personas participaron en esta etapa de estudio, todos habituales consumidores de bebidas entre ellas el yogur con sabor a frutas, cada una de ellas recibió 6 muestras de yogur con puré de mashua que contenía concentraciones diferentes de stevia entre 2.5 a 22.5 g Stevia/Litro yogur con puré de mashua, en una ficha se les pidió que calificaran la aceptabilidad con un “si” y un rechazo con un “no” (López Osornio y Hough, 2010), además que indicaran la razón por la cual rechazaban al yogur, en dicha ficha se les mencionaba que el producto era elaborado con adición del puré de mashua.

Las personas que participaron en esta prueba sensorial tenían un rango de edad entre 17 a 25 años, hombres y mujeres, todos de ellos eran alumnos de la UNJFSC, todas las evaluaciones se realizaron en un laboratorio acondicionado siendo horas entre las 10 y 11 de la mañana, las muestras fueron servidas en vasos transparentes con un contenido de 50 mL de yogur. Los vasos fueron debidamente codificados según numeración de tres dígitos aleatorizados (Cadena *et al.* 2013), la evaluación se acompañó con un vaso de agua para el enjuague bucal entre muestra y muestra.

El número de consumidores que evaluaron la aceptabilidad en ambas etapas están entre 50 y 80 tal como lo indica Hough (2010), en la que este intervalo es razonable para estos tipos de estudio. Con los datos de aceptación/rechazo (“sí” o “no”) por parte de los consumidores, y estas respuestas se evalúan utilizando la metodología de análisis de supervivencia empleando el modelo de distribución de Weibull de acuerdo a las ecuaciones 2 y 3.

c) Medición del Color:

La medición de los parámetros colorimétricos se realizó por triplicado en las muestras (pulpa o puré de mashua, yogur comercial o yogur fortificado con mashua) empleando un colorímetro CR-400 (Konica Minolta Inc., Japón), las muestras colocadas en un disco de vidrio óptico de 40 mm de diámetro se empleó para medir los parámetros de color CIEL*a*b* según lo expuesto por (Mathias-Rettig y Ah-Hen, 2014) para lo cual se usó el software OnColor QC (CyberChrome, Inc, USA), para la calibración se empleó una placa blanca estándar de cerámica (CRA43, Konica Minolta Inc., Japón) con un iluminante C y un observador 2 °, con los datos de un color, para compararlo con otra muestra para evaluar sus diferencias de sus parámetros $\Delta L^* = L^*_i - L^*_0$, $\Delta a^* = a^*_i - a^*_0$ y $\Delta b^* = b^*_i - b^*_0$ se calcula la distancia total entre dos colores vendrá dada por ΔE^* , cuya ecuación es:

$$\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \quad (4)$$

Donde L^*_0 , a^*_0 y b^*_0 corresponden a valores del blanco o control, L^*_i , a^*_i y b^*_i corresponde a los valores para las muestras a diferentes tiempos.

El color puede ser representado con coordenadas cilíndricas de croma, saturación o pureza (C^*) y tonalidad o tipo de color (H^*), que se calculan a partir de a^* y b^* , y junto con L^* definen las coordenadas de un espacio cilíndrico que contiene los tres atributos psico-físicos básicos del color (luminosidad, saturación y tonalidad), L^* representa la cantidad de luz o transmitida por un objeto dentro de un mismo tono y saturación; C^* representa la distancia radial y describe el grado en que un color se separa del gris neutro y se acerca a un color puro del espectro, y H^* es función de ángulo en sistema de coordenada polar y corresponde a la dominancia de unas radiaciones a determinadas longitudes de onda sobre otras (tonos: 0° rojo, 90° amarillo, 180° verde y 270° azul). C^* y H^* pueden ser calculados de acuerdo a las ecuaciones siguientes (Obón, Castellar, Alacid y Fernández-López, 2009):

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5} \quad (5)$$

$$H^* = \arctg \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (6)$$

Evaluación de la capacidad antioxidante.

a) Método de extracción en las muestras

Para las mediciones de la capacidad antioxidante y contenido total de fenoles es necesario una previa extracción, en lo cual se tomó las muestras de mashua y yogur son tratadas primero con ácido (HCl)-metanol/agua (50:50, v/v, pH 2) en un agitador orbital (Shaker) TOS-4030FD (MRC Laboratory Equipment, Israel) a velocidad máxima durante 1 h (temperatura ambiente) en condiciones de oscuridad cubriendo las muestras con papel de aluminio, luego este extracto crudo fue centrifugado a 10000 g durante 10 minutos (4°C) (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania), se realizó una segunda extracción luego de separar el sobrenadante, se usó Acetona/agua (70:30, v/v) y se procedió con los mismos pasos de la primera extracción, los dos sobrenadantes son mezclados en mismo volumen y se almacenaron a -40°C en un ultra congelador ULUF (Arctiko, Lammefjordsvej, Dinamarca) hasta el análisis. Se utilizó una relación solvente/sólido = 10 para las extracciones de las mashua fresca y mashua cocinada, para las muestras de yogur se empleó una relación solvente/sólido = 2.

b) Determinación de antocianinas monoméricas

Se empleó el método del pH diferencial propuesto por Lee, Durst, y Wrolstad (2005), basados en que los pigmentos antociánicos sufren transformaciones estructurales reversibles por el cambio de pH, ello se evidencia en el espectro de absorbancia. Así pues, la forma oxonio es coloreado y predomina a pH 1,0; y la forma hemiacetal sin color a pH 4,5. El método de pH diferencial está basado en esta reacción y permite una rápida medida de las antocianinas totales en presencia de pigmentos polimerizados degradados y otros compuestos interferentes. Para este método fue necesario hacer una extracción previa empleando Metanol/agua (80:20, v/v) y fue adaptada a una lectora de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA) con medidas de absorbancia a 520 y 700 nm para buffers con pH 1.0 y 4.5, para su cálculo se emplea la siguiente ecuación:

$$AT = \frac{(A)(MW)(FD)(10^3)}{(\epsilon)(l)} \quad (7)$$

Donde: $A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4.5}$

MW = peso molecular = 449,2 g mol⁻¹ para cianidin -3-glucoside

FD = Factor de dilución

l = altura o espacio de luz en el pozo de la microplaca en cm.

$\epsilon = 26900$ coeficiente de extinción molar L mol⁻¹ cm⁻¹ para cyd – 3 – glu.

10^3 = Factor de conversión de g a mg.

El resultado de las antocianinas totales (AT) es expresado en mg cianidin -3-glucoside equivalentes/g de mashua (o 100 g de yogur con puré de mashua).

c) Cuantificación de Polifenoles Totales

El análisis se realizara conforme a la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) pero siguiendo la metodología sugerida por Magalhaes, Santos, Segundo, Reis, y Lima (2010) empleando una microplaca de 96 pocillos y lectora multimodal Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA), El ensayo de Folin-Ciocalteu, también llamado método de equivalencia de ácido gálico (GAE), se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm, los resultados en forma triplicada son expresados en mg de Acido gálico equivalentes/g muestra (o 100 g de yogur). El protocolo del procedimiento se puede ver en el anexo.

d) Capacidad antioxidante, Método de ABTS+

La capacidad antioxidante por ABTS+ que mide el TEAC fue empleado inicialmente por Re *et al.* (1999), la cual tiene varias ligeras modificaciones y puede emplearse en yogur de acuerdo a lo ensayado por Jaster *et al.* (2018) y Liu (2017) para un ensayo micrometodo, la formación del radical se logra directamente Pesando 0.0192 g de ABTS más 0.0033 g de persulfato pototásico, se agregar agua ultra pura y se enrasa en una fiola de 5 mL, mantener por 16 horas en la oscuridad y a temperatura ambiente. Para la solución de trabajo se diluye el ABTS+ (7 mMol) en Buffer fosfato (5 mMol) o en etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.2 a 734 nm. Para las mediciones se toman 10 uL de muestra diluida en Buffer

Fosfato o etanol, y son colocados en cada pocillo de la microplaca por triplicado y se mezclan con 200 uL de la solución de trabajo de ABTS+, para la obtención de la curva de calibración se tomó como patrón al Trolox en concentraciones seriadas de 500, 375, 250, 187.5, 125, 62.5 y 31.25 μM , todas disueltas en Buffer Fosfato (5 mMol), la lectura se realizan a 734 nm con un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA), la capacidad antioxidante es expresado como TEAC en uMol Equivalente Trolox/g de puré de mashua o yogur.

e) Capacidad antioxidante, Método ORAC:

La Capacidad de Absorbancia de Radicales de Oxígeno (ORAC por su siglas en inglés) mide la capacidad de los antioxidantes en la muestra para proteger a la proteína del daño oxidativo. El mecanismo de la reacción se basa en la transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante al radical libre. En este método se empleó el procedimiento descrito por Ou, Hampsch-Woodill y Prior (2001) y Huang, Ou, Hampsch-Woodill, Flanagan, y Prior (2002) ambos mencionados por Chirinos *et al.* (2013) (Chirinos, Pedreschi, Rogez, Larondelle, y Campos, 2013) donde se usa el radical iniciador AAPH (2,2'-aziobis(2-amidinopropane) dihydrochloride) para generar el radical peroxilo $\text{ROO}\cdot$, el trolox como estándar que es un análogo al tocoferol es preparado en concentraciones seriadas de 300, 220, 150, 75, 37.5, 18.75 y 9.375 uMol Trolox/Lt, la medición fue realizada empleando microplaca opacas de polystireno con 96 pocillos (Costar UV) y un lector multi modal Synergy HTX (Biotek, Rochester, VT, USA) equipado con inyector y termostato automático, en cada pocillo se mezcla 150 uL de fluoresceína al 3 uM como sonda fluorescente y 25 uL de blanco (solución tampón de fosfato 75 mM, pH 7.4), 25 uL de muestra o estándar trolox la cual en un primer momento son incubados a 37°C por 15 minutos y finalmente se adiciona por inyección automática 25 uL de AAPH al 235 mM. La intensidad de la fluorescencia es medida cada 3 min durante 120 minutos con longitud de onda de excitación y emisión de 485 y 520 nm respectivamente empleando el lector de microplacas en modo fluorescencia manteniendo la temperatura de incubación a 37°C. Se construyó una curva de calibración con el estándar trolox trazando las diferencias calculadas de área debajo de la curva de la fluoresceína con respecto al del blanco, para poder obtener el valor de la capacidad antioxidante de la muestra se mide a partir del área formada por ella y ploteada desde la curva de calibración del trolox, los valores finales de ORAC se expresaron como uMol TE/g de muestra.

Evaluación de los parámetros de calidad del producto.

a) Determinación del pH

Para realizar esta medición se usó el potenciómetro digital marca Hanna Sci, el cual fue calibrado previamente con buffer a pH = 4,0 y pH = 7,0 con compensación de temperatura automática. El valor se obtuvo introduciendo directamente el electrodo dentro de la muestra.

b) Determinación de la acidez titulable

La acidez se determinó de acuerdo al método 16.023 (A.O.A.C., 1984). Basado en una titulación con NaOH 0,1N. En donde se pesó 9 g de muestra en un matraz de erlenmyer de 50 ml, posteriormente se añadió agua destilada y se agitó vigorosamente, se incorporaron tres gotas de fenolftaleína al 1 % y se tituló con NaOH 0,1 N, hasta obtener una coloración rosada. La acidez se expresó como porcentaje de ácido láctico, teniendo la siguiente relación propuesta por Vanegas-Azuero y Gutiérrez (2018):

$$\text{Acidez Titulable} = \% \text{ ácido láctico} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times 0.1 \times 0.09}{W}$$

Donde; VNaOH es el volumen del NaOH a 0.1N usado para la titulación y W es el peso de la muestra de yogur.

c) Determinación de la densidad

La medición de esta propiedad, se realizó a través de un método gravimétrico, empleando un picnómetro a temperatura de 20 °C, donde se pesan el picnómetro vacío, el picnómetro con agua destilada y el picnómetro con yogurt. La densidad se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\rho_{\text{Muestra}} = \frac{\text{Peso (picnómetro + muestra)} - \text{Peso(picnómetro vacío)}}{\text{Peso (picnómetro + agua)} - \text{Peso(picnómetro vacío)}}$$

d) Determinación de la viscosidad aparente

La evaluación de la viscosidad se efectuó por triplicado empleando un viscosímetro rotacional modelo Expo (Fungilab, Barcelona, España) con un husillo N°L-3 a una velocidad de corte 100 RPM y a 6±1°C (Azari-Anpar, Payeinmahali, Daraei Garmakhany y Sadeghi

Mahounak, 2017), en todas las muestras de yogurt, los valores obtenidos fueron expresados en Centipoise, Cps.

e) Medicion de la Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó sobre la base de una adaptación de la técnica sugerida por Yadav, Bajaj, Mandal, Saha, y Mann (2017). Se pesaron 2 g de yogurt a 5 °C en un micro tubo de centrifuga eppendorf y se centrifugó (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 10000g durante 10 minutos. El peso del sobrenadante obtenido se empleó para calcular el porcentaje de sinéresis mediante la expresión siguiente:

$$CRA = \% \text{ Sinéresis} = \frac{\text{Peso del sobrenadante}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

3.4. Técnicas para el procesamiento de la información

Para el proceso de análisis de datos, se utilizará el análisis de supervivencia, promedios, desviación estándar, coeficiente de variabilidad, utilizando programas de cálculo Microsoft Excel, Minitab V. 16 y también se empleará el Software del equipo lector de microplaca multimodal, GEN5. Para la presentación de resultados, Se utilizará gráficos lineales, diagramas de resultados por análisis.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Análisis de resultados

4.1.1. Características iniciales de la Materia Prima

Las características iniciales de la mashua purpura fresca y mashua purpura cocida son mostradas en la tabla 5, para conocer el estado y condiciones de ambas antes de las pruebas preliminares

Tabla 5

Características iniciales de la mashua púrpura fresca y cocida

Característica	Fresca	Cocida (puré)
pH	5.98-6.24	5.45-5.47
Acidez titulable (Porcentaje en ácido oxálico)	1.42± 0.07	1.31± 0.03
Humedad (%bh)	88.79±0.63	90.91±0.41
Polifenoles totales (mg Equiv. Acido Gálico/g mashua)	3.05±0.10	2.63±0.11
Antocianinas totales (mg/g)	0.71±0.05	0.57±0.04
<u>Capacidad antioxidante</u>		
ABTS+ (uMol Equiv. Trolox/g)	88.07±1.12	84.55 ± 7.35
ORAC (uMol Equiv. Trolox/g)	170.93 ± 10.79	117.52±13.97

De los resultados se puede apreciar que los valores de la capacidad antioxidante, contenido de polifenoles totales y antocianinas totales es afectado por el proceso de cocción, en ellas se establece que las antocianinas disminuyen en un 20%, lo fenoles totales en un 14%, la capacidad antioxidante por el método ABTS+ en 4% y el método ORAC en un 31% de reducción, también se puede ver que la acidez titulable disminuye después del proceso de cocción.

4.1.2. Determinación de la proporción de puré de mashua adicionada al yogur

Para determinar la concentración adecuada de puré de mashua que se debe añadir al yogur natural se procedió a comparar colorimétricamente los yogures comerciales de colores compatibles con la mashua purpura (fresa, mora y sauco), fue necesario preparar 5 concentraciones diferentes y crecientes de puré de mashua, en la tabla 6 se puede ver los parámetros colorimétricos del yogur con puré de mashua y yogur comercial.

Tabla 6

*Valores de color CIEL*a*b* del yogur comercial y yogur con puré de mashua*

Yogur	Parámetros colorimétricos			Color RGB
	L*	a*	b*	
Fresa comercial 1	69.29	18.69	3.94	
Fresa comercial 2	69.12	16.04	2.89	
Fresa comercial 3	67.64	16.76	1.64	
Saucu comercial 1	68.27	8.82	2.74	
Saucu comercial 2	68.60	9.47	2.84	
Mora comercial 1	67.24	8.17	0.108	
Mora comercial 2	68.78	8.37	-0.005	
Mashua (puré) T1	71.38	2.66	1.29	
Mashua (puré) T2	68.47	4.06	0.31	
Mashua (puré) T3	66.17	4.99	-0.43	
Mashua (puré) T4	64.32	5.20	-0.96	
Mashua (puré) T5	61.73	5.76	-1.63	

Los resultados de los parámetros colorimétricos comparados entre el yogur comercial y yogur con puré de mashua dan a entender que en el valor de L* que corresponde a la claridad o Luminancia los valores del yogur del puré de mashua son muy parecido a los de yogur comercial, en el caso de los valores de a* que indica el color rojo si $a^* > 0$ y hacia el verde si $a^* < 0$, se puede apreciar que el yogur del puré de mashua son menores que los yogur comerciales pero están en la coloración roja, en los valores de b* que mide el color amarillo si $b^* > 0$ y hacia el azul si $b^* < 0$, las concentraciones de yogurt de puré de mashua tienden a ser negativo es decir de coloración azul y es muy cercano y similar a lo mostrado por el yogur comercial de mora, por tanto los valores de L* y b* son los parámetros más indicativos

del color para comparar entre el yogur comercial de mora y yogur experimental de puré de mashua, esto se puede apreciar mejor en la siguiente figura 5.

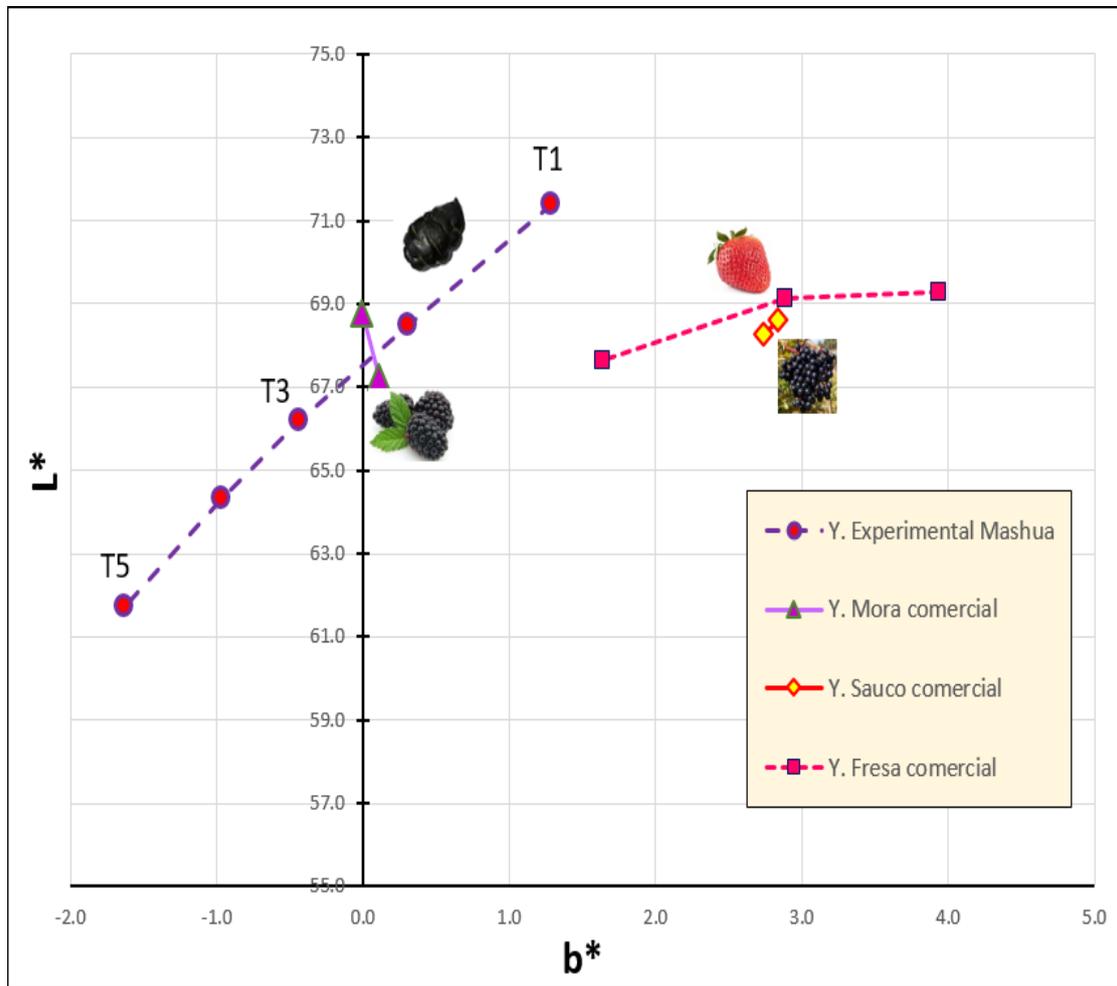


Figura 5. Comparación colorimétrica del yogur comercial y de puré de mashua en las coordenadas b^* vs L^*

La vista mostrada en la figura 5 confirma el acercamiento de los parámetros colorimétricos entre el yogur comercial de mora y el yogur de puré de mashua (entre las concentraciones T2 y T3), los del yogur comercial de fresa y sauco están más alejados.

Para establecer la concentración óptima del puré de mashua en el yogur natural y que el color sea semejante al del yogur comercial de mora se ploteo la diferencia de color ΔE^* frente a su respectiva concentración con una ecuación lineal, lo que permitió calcular una concentración donde el ΔE^* sea igual al del yogur comercial, los valores y el ploteo son mostrados en la siguiente tabla 7 y en la figura 6:

Tabla 7

Valores de diferencia de color ΔE^* del yogur comercial y experimental de mashua

Yogur Formulado	Concentración puré de mashua (g puré/Litro yogur)	Diferencia de color ΔE^*
Yogur natural (Blanco)	0	0
Yogur mashua T1	16.67	10.67
Yogur mashua T2	33.45	13.97
Yogur mashua T3	50.04	16.52
Yogur mashua T4	66.73	18.36
Yogur mashua T5	83.55	21.02
Yogur comercial de mora	¿...?	16.95

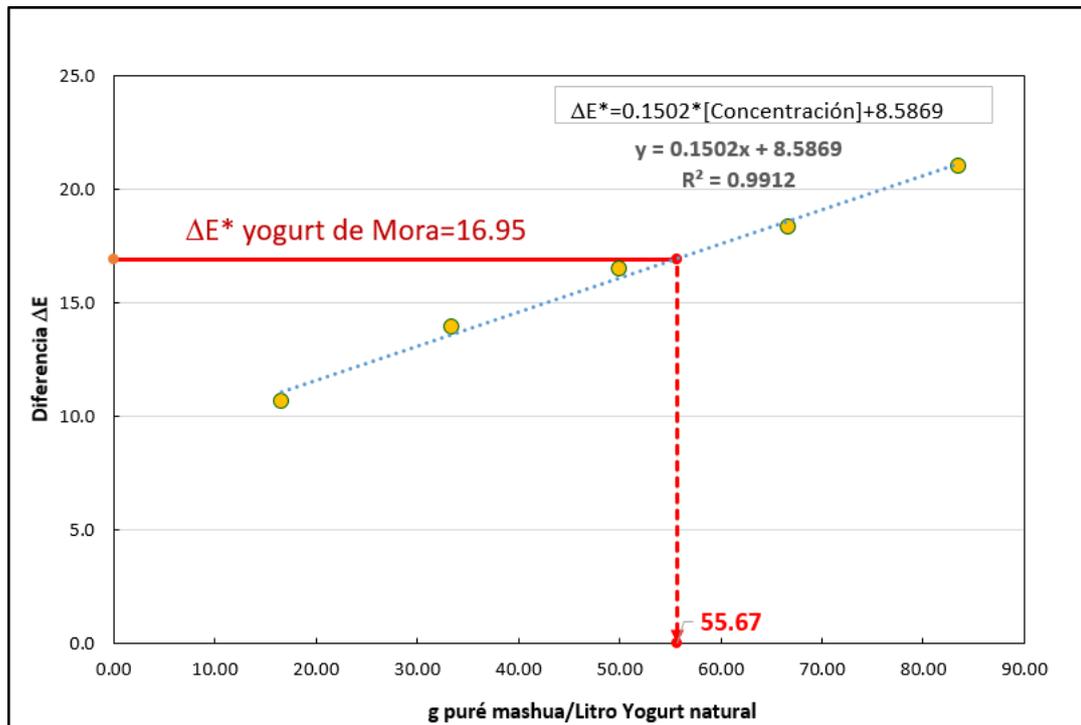


Figura 6. Relación de la concentración de mashua en el yogur frente al valor ΔE^* .

De acuerdo al resultado de la ecuación de la tendencia lineal de la concentración de puré de mashua por cada litro de yogur natural frente al valor de diferencia de color ΔE^* , se establece

una ecuación $\Delta E^* = 0.1502 \times [\text{Concentración}] + 8.5869$ ($r^2 = 0.9912$) del cual se puede calcular la concentración adecuada en:

55.67 gramos de puré de mashua/Litro de yogur natural.

4.1.3. Optimización en la adición de stevia granulada al yogur

Yogur con puré de mashua con una concentración de 55.67 g/litro de yogur natural fue reparado y en esta se adiciono stevia granulada en concentraciones de 2.5, 7.5, 12.5, 17.5, 20 y 22.5 g stevia/Litro de yogur con puré de mashua, se realizó la evaluación sensorial donde los consumidores emitieron su juicio sobre su aceptación o rechazo estas respuestas se muestra en la tabla 8, en donde se puede apreciar también los resultados del tipo de censura.

Tabla 8

Datos de aceptación/rechazo y tipo de censura de los consumidores para el yogur de mashua con diferentes concentraciones de stevia cristalizada

Consumidor	Concentración (g/Lt) Stevia						Tipo de Censura	
	2.5	7.5	12.5	17.5	20.0	22.5	(Rango y tipo)	
1	no	no	si	si	si	si	7.5 - 2.5	intervalo
2	no	no	no	no	si	si	17.5 - 20.0	intervalo
3	no	no	si	no	no	si	7.5 - 22.5	intervalo
4	no	no	no	si	si	si	12.5 - 17.5	intervalo
5	no	no	si	no	no	si	7.5 - 22.5	intervalo
6	no	si	si	no	si	no	22.5 - 22.5	Derecha
7	no	no	si	no	no	si	7.5 - 22.5	intervalo
...
76	no	no	no	no	si	si	17.5 - 20.0	intervalo
77	no	no	si	si	si	si	7.5 - 12.5	intervalo
78	no	no	no	si	no	no	22.5 - 22.5	Derecha
79	no	no	no	no	no	si	20.0 - 22.5	intervalo
80	no	no	no	si	si	si	12.5 - 17.5	intervalo

Adicionalmente se obtuvo 3 consumidores en la que sus respuestas no concordaban con ningún tipo de censura y que ante la pregunta de cuál es la causa de rechazo el 27.5 % respondió que es la falta de dulzor en el producto y el 72.5 % respondió que es el sabor fuerte de la stevia lo que le causaba rechazo al consumir el producto. En la figura 7 se aprecia la curva de aceptabilidad (curva de supervivencia) obtenida por análisis estadístico de supervivencia para las respuestas/tipo de censura que se obtuvo en la tabla 8.

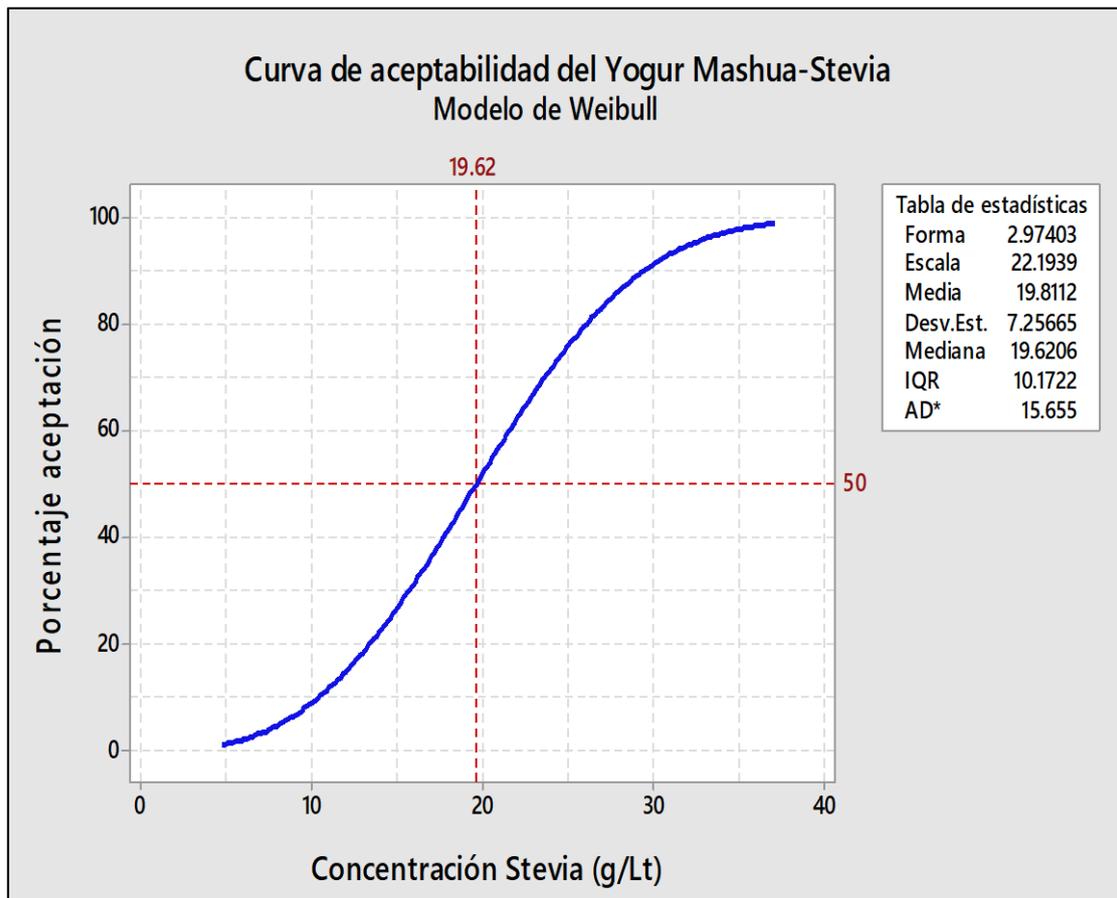


Figura 7. Curva de aceptabilidad/rechazo del yogur de mashua con diferentes concentraciones de stevia.

Los parámetros calculados y mostrados en esta figura para el modelo de Weibull, son:

Parámetro de Forma (β)= 2.974±0.439

Parámetro de escala (α)=22.194±1.086

Log-verosimilitud = -99.842

En la tabla 9 se detalla el resultado del porcentaje de aceptabilidad/rechazo según el modelo de Weibull para la concentración de stevia (g/Lt) en el yogur de mashua.

Tabla 9

Porcentaje de aceptación/rechazo para las concentraciones (percentil) modelizadas de acuerdo a la ecuación 2 (Ec. de Weibull)

Porcentaje Aceptación	Porcentaje Rechazo	Concentración (g Stevia/Lt)
25	75	14.598±1.061
30	70	15.692±1.021
40	60	17.707±0.969
50	50	19.620±0.971
60	40	21.551±1.044
70	30	23.623±1.209
75	25	24.771±1.335

De los resultados de la tabla 9 se puede apreciar que para una aceptación de 50% y 50% de rechazo se tiene una concentración (mediana) de 19.62±0.97 g de stevia/Litro de Yogur con puré de mashua, de acuerdo a Hough (2010) esta sería la cantidad ideal cuando los consumidores concuerdan con un porcentaje de aceptación/rechazo de 50%.

4.1.4. Obtención del yogur endulzado con *Stevia rebaudiana* y *Tropaeolum tuberosum* “mashua púrpura” como colorante.

De acuerdo a los resultados de la etapa de optimización donde se pudo establecer cuál es la proporción de puré de Mashua y concentración de stevia, se procede a elaborar el yogur de forma definitiva para lo cual se debe seguir el flujo presentado en la figura de acuerdo al siguiente procedimiento tecnológico:

Elaboración del yogur.

El diagrama de flujo tentativo para la elaboración de yogur natural que después sería endulcorado con Stevia y coloreado con Mashua púrpura se presenta en la Figura 8, a continuación, se describe las operaciones:

- a) **Materia prima:** Se empleó leche fresca entera de vaca comercializada en el mercado centenario de la Ciudad de Huacho a una temperatura de 5-8°C.

- b) Mezclado:** a la leche fresca entera de vaca se le agrega la leche en polvo en una proporción de 1.5 a 3% en peso, se agita hasta obtener una mezcla homogénea.
- c) Filtrado:** se utilizó una tela tipo gasa para filtrar las impurezas que pudiesen existir, debido a la manipulación propia de la leche al momento de ser recolectada de la ganadería y de los grumos que se podrían formar al añadir la leche en polvo.
- d) Tratamiento térmico:** La pasteurización se realizará a 90°C por 5 minutos, en una olla de acero inoxidable. La finalidad de esta operación es la destrucción y/o eliminación de microorganismos patógenos y la flora que no interese.
- e) Enfriamiento:** Una vez que la leche recibió el tratamiento térmico, se debe enfriar hasta una temperatura de 43-45 °C en un tiempo más corto posible, esta temperatura es óptima para adicionar el cultivo y desarrollo de los microorganismos apropiados.
- f) Inoculación del cultivo:** Se empleará un cultivo de uso directo (CHR HANSEN) en un 2% en peso, se incorporará y agitará por un 1 minuto con la finalidad de conseguir la distribución uniforme de los microorganismos del cultivo en la leche.
- g) Incubación:** Esta operación consiste en mantener la mezcla a una temperatura promedio de 40 a 45 °C, durante 4 horas empleando un baño maría termo controlado, se terminó la incubación cuando el producto alcanzó una acidez de 0,64-0.67 % y pH 4.37, con un examen visual se observó que el yogurt formó un gel compacto
- h) Enfriamiento:** el producto fermentado con % de acidez adecuado es enfriado en una cámara refrigeradora a 7-8°C por un periodo de 8 horas.
- i) Batido:** Se romperá el coágulo formado, agitándolo lentamente con ayuda de un agitador manual, en esta etapa se adicionará el puré de Mashua estabilizada (55.67 g/litro de yogur natural) y Stevia (19.62±0.97 g de stevia/Litro) granulada.
- j) Envasado:** se envasará en recipientes plásticos de yogurt de 500 y 1000 mL de capacidad, los cuales fueron desinfectados con anterioridad y esterilización con vapor.
- k) Almacenado:** el yogurt envasado fue conservado a una temperatura de refrigeración a 5 °C, para su posterior análisis.

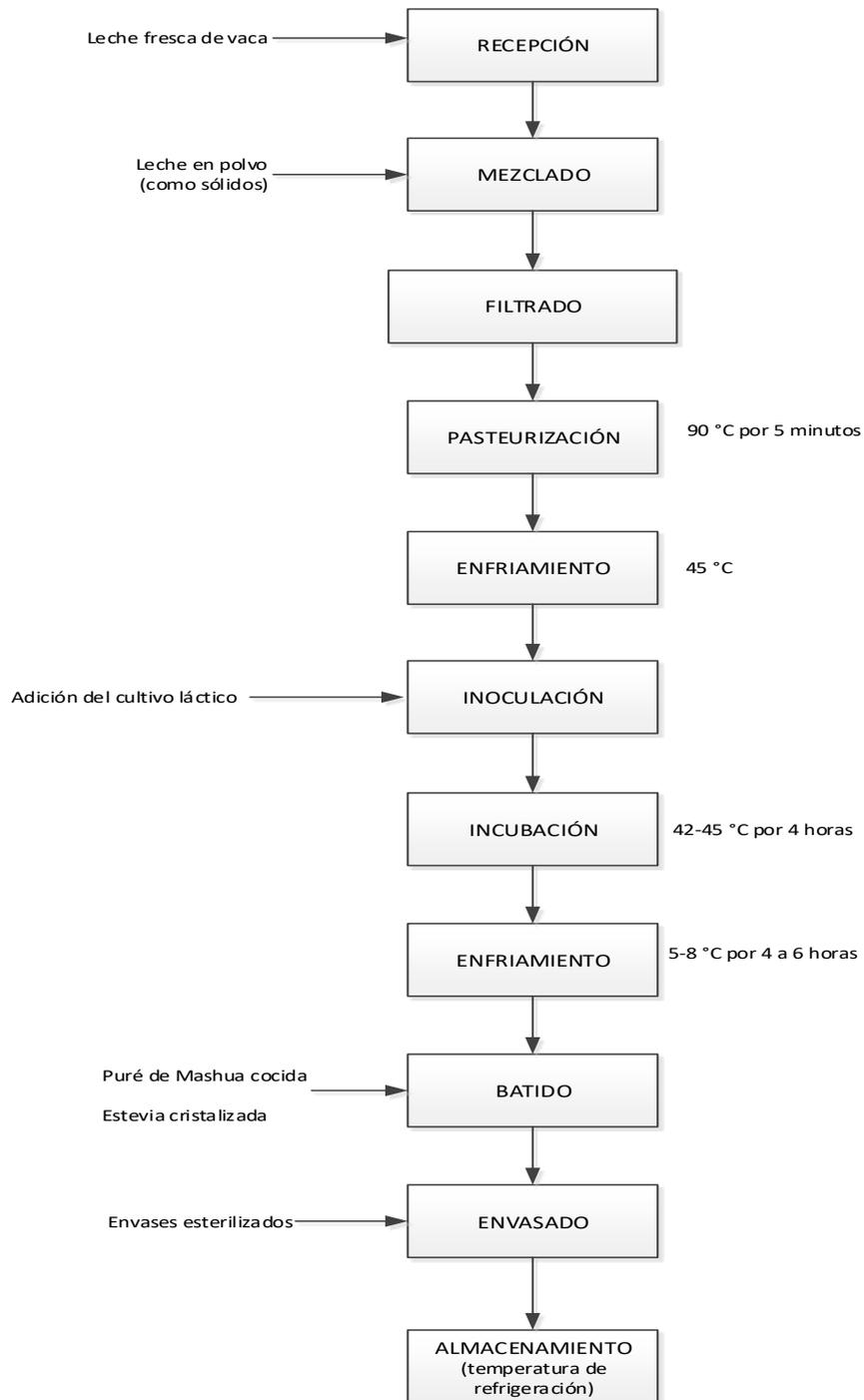


Figura 8. Diagrama de flujo para la elaboración del yogur con Mashua y Stevia.

4.1.5. Evaluación de los parámetros de calidad y capacidad antioxidante del yogur

Se prepararon yogur con 55.67 gramos de puré de mashua y se añadió 19.62 g de stevia por cada Litro de yogur natural, estos fueron envasados en botellas de 500 y 1000 mL y almacenados en refrigeración a 5°C, la evaluación fue realizada a 1, 7, 14, 21 y 28 días, como control de almacenaron y evaluaron en los mismos periodo de tiempo yogur natural

sin ninguna adición de puré de mashua ni de stevia granulada, los primeros datos evaluados son los parámetros fisicoquímicos como; pH, Acidez titulable, densidad, Capacidad de Retención de agua (sinéresis) y Viscosidad y que son mostrados en la tabla 10, en los resultados obtenidos se aprecia que en el pH es influido en aumentar cuando se adiciona el puré de mashua y la stevia aunque en el yogur con mashua a partir del día 14 disminuye rápidamente incluso más bajo que en el yogur natural, con respecto a la acidez titulable se aprecia que al incluir el puré de mashua con stevia el yogur disminuye su acidez en ambos casos sus valores no varían significativamente entre el primer día y el día 28 de almacenamiento.

Con respecto a la densidad es claro que al incluir más sólidos el valor aumenta cuando se añaden el puré de mashua y stevia durante su almacenamiento se aprecia un comportamiento similar en ambos productos aumentan su valor hasta el día 14 y luego empiezan a disminuir, los resultados para la capacidad de Retención de agua (CRA) se aprecia que los valores son mayores cuando se añade el puré de mashua mas stevia y durante su almacenamiento en ambos yogur aumentan el valor aunque el yogur natural lo realiza de modo más acelerado, la viscosidad también es un parámetro que indica que la adición de mashua mas stevia influye en aumentar los valores de viscosidad, sin embargo durante el almacenamiento hay comportamiento distintos en los dos productos, el yogur natural tiende a aumentar ligeramente hasta el día 21 y luego desciende, por el contrario la viscosidad en el yogur con mashua-stevia va disminuyendo conforme pasan los días, los resultados del análisis ANVA y prueba de Tukey se puede ver en los anexos.

Tabla 10

Parámetros fisicoquímicos del yogur natural y con mashua-stevia durante almacenamiento

Muestra yogur		pH	Acidez Titulable (% Ac. Láctico)	Densidad (g/cc)	CRA (Sinéresis)	Viscosidad Cps
Control (Natural)	1 día	4.37	0.67	1.042	33.13	701.11
	7 días	4.32	0.68	1.051	47.61	823.86
	14 días	4.30	0.68	1.053	52.57	844.25
	21 días	4.27	0.69	1.036	54.30	876.28
	28 días	4.21	0.68	1.035	65.03	453.25
Mashua- Stevia	1 día	4.40	0.61	1.051	39.62	998.63
	7 días	4.28	0.62	1.057	48.46	686.40
	14 días	4.19	0.64	1.068	66.62	563.19

21 días	4.20	0.70	1.047	62.39	472.41
28 días	4.16	0.63	1.045	58.62	286.07

En la mayoría de los parámetros evaluados correspondiente a su comportamiento fisicoquímico se puede apreciar que el yogur con mashua mas stevia tiene un comportamiento más o menos estable hasta el día 14 a partir del cual ya se puede apreciar variaciones en los valores que fueron evaluados.

En la tabla 11 se presentan los resultados de la evaluación de la capacidad antioxidante del yogur natural y el de mashua-stevia (métodos ORAC y ABTS+) y su comportamiento durante almacenamiento, en ella se incluye las evaluaciones del contenido de polifenoles totales y el de contenido de antocianinas totales para el caso de yogur que contenía mashua, los resultados del análisis ANVA y prueba de Tukey se puede ver en los anexos.

Tabla 11

Efecto en la capacidad antioxidante la inclusión de puré de mashua purpura y endulzado con stevia durante su almacenamiento

Muestra yogur		Antocianinas Totales mg AT/100 g	Polifenoles Totales mg EAG/100 g	ABTS+ uMol /100 g	ORAC uMol/100 g
Control (Natural)	1 día	---	501.04	337.35	359.96
	7 días	---	506.10	307.09	364.27
	14 días	---	448.58	357.11	350.59
	21 días	---	404.09	325.68	218.40
	28 días	---	392.34	298.32	234.61
Mashua-Stevia	1 día	0.77	951.36	420.56	259.57
	7 días	0.83	949.04	453.34	404.77
	14 días	0.70	902.83	447.35	352.05
	21 días	0.63	898.44	366.46	349.31
	28 días	0.56	872.31	317.62	263.80

Los resultados muestran que en las antocianinas hay un aporte de 0.77-0.83 mg de cyanidin -3-glucoside equivalentes por cada 100 g de yogur y que va disminuyendo conforme pasan los días de almacenamiento, el contenido de polifenoles totales se presenta tanto en el yogur

natural como en el de mashua pero se puede indicar que hay una influencia en el aumento de este valor cuando se añade el puré de mashua en ambos se aprecia que durante el periodo de almacenamiento se van disminuyendo como en el caso del yogur con mashua el valor inicia con 951.36 y a los 28 días el contenido disminuye hasta 872.31 mg EAG/100 de yogur, con respecto a la capacidad antioxidante primeramente con el método ABTS+ se puede apreciar que el yogur natural ya presenta por si solo actividad antioxidante que se va ir disminuyendo durante el periodo de almacenamiento presentando una ligera estabilidad hasta el día 21 luego va descendiendo más rápido y el día 28 tiene un valor de 298.32 uMol Equiv. Trolox/100 g de yogur natural, para el caso del yogur con mashua-stevia se puede apreciar que la actividad antioxidante se eleva hasta 453.34 uMol E. T. /100 g de yogur para el día 7 y permanece estable hasta el día 4 desde ahí empieza una disminución hasta que el día 28 llega a 317.62 uMol E. T. /100 g yogur de mashua-stevia. El método ORAC para la capacidad antioxidante en los dos productos evaluados indican que la adición del puré de mashua y stevia influye aumentando el poder antirrábica pero de un manera moderada, y si se compara con el otro método de ABTS los valores son menores, este efecto y comparación se puede apreciar en la figura 9.

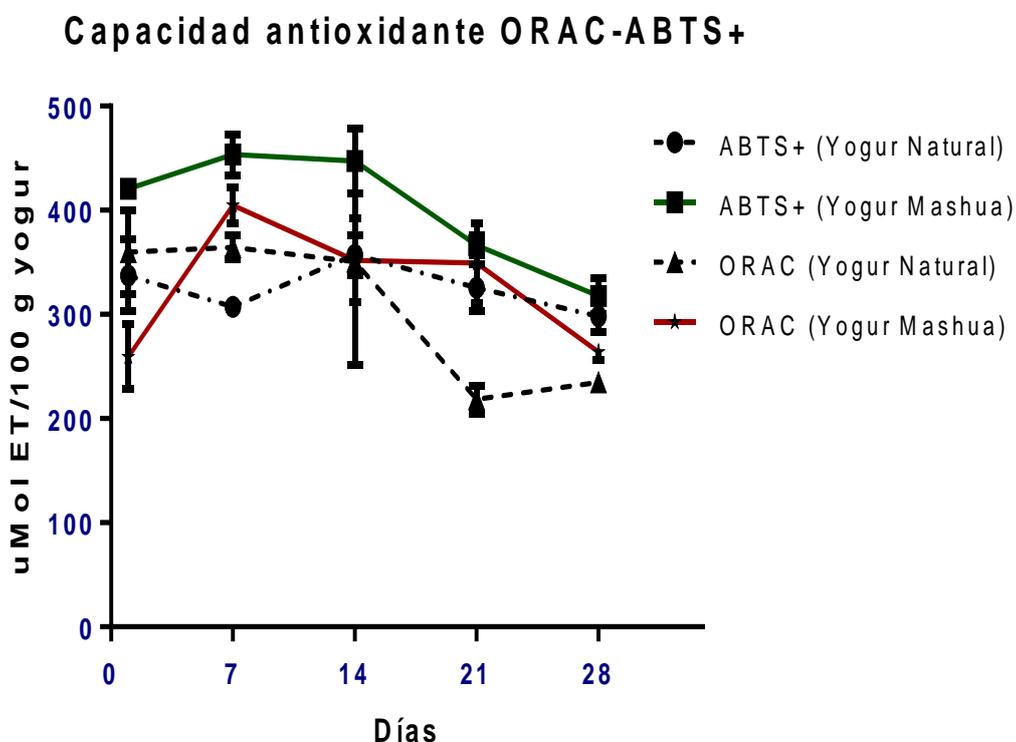


Figura 9. Capacidad antioxidante por el método ORAC y ABTS+ en el yogur natural y adicionado con mashua-stevia.

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

5.1. Discusión

5.1.1. Del efecto en la propiedad fisicoquímicas del yogur natural y enriquecido

Las propiedades evaluadas como pH, acidez titulable, densidad, Capacidad de Retención de agua y viscosidad dan cuenta que un principio la adición del puré de mashua en el yogur hacen que el pH aumenta al igual que la densidad, CRA, y viscosidad, en cuanto a la acidez titulable el efecto fue disminuir este valor, pero durante el periodo evaluado en almacenamiento el pH disminuye y la acidez aumenta, al respecto Yadav *et al.* (2017) manifiesta que el aumento de la acidez durante el almacenamiento puede deberse a un aumento de la actividad metabólica y otros cambios bioquímicos producidos por las bacterias del ácido láctico a temperatura refrigerada. Sigdel, Ojha, y Karki (2018), citan que la post-acidificación del yogur durante el almacenamiento a 5 ° C se produce porque las bacterias del ácido láctico son activas a esta temperatura y producen ácido láctico, lo que produce un descenso del pH y un aumento de la acidez. La densidad durante el periodo de almacenamiento desciende lentamente y la Capacidad de Retención de Agua (sinéresis) aumenta hasta el día 14 para luego disminuir lentamente al día 28, un efecto similar fue reportado por Kermiche *et al.* (2018) en yogur con pulpa de melón y también por Liu y Lv (2018) en yogur con pulpa de flores de arándanos, ambos explican que el aumento de CRA puede estar relacionado con el desarrollo de una estructura de red entre las proteínas de la fruta y el yogur. En otras palabras, la separación de CRT o de suero inferior se refiere a una red de gel débil, así como a la capacidad de absorción de agua de las frutas agregadas. En cambio una disminución estaría asociada a un aumento continuo de la acidez y una disminución en el pH del producto toda vez que cuando se terminan las fuentes de azúcar, los microorganismos comienzan a consumir proteínas que conducen a la producción de algunos productos, lo que disminuirá el pH y aumento de acidez por lo que este efecto se aprecia en la disminución de la viscosidad del yogur, Karnopp, Oliveira, de Andrade, Postinger, y Granato (2017) agrega que la viscosidad aumenta cuando se añade frutas en el yogur iniciador y que luego va disminuyendo cuando las interacciones químicas de la proteína se vea afectada por el pH del medio.

5.1.2. Del efecto en la capacidad antioxidante del yogur

a) Efecto contenido polifenoles y capacidad antioxidante en el yogur natural

De acuerdo a los resultados expuestos en la tabla 11 el yogur natural presenta contenido de polifenoles (501.04 mg EAG/100 g yogur natural) y capacidad antioxidante (ABTS: 337.35 y ORAC: 359.96 uMol ET/100 g yogur natural), según Tavakoli, Habibi Najafi, y Mohebbi (2019) esto se debe a que durante la fermentación de la leche con el cultivo iniciador de yogur hay cambios moleculares que dan como resultado diferentes compuestos como péptidos, aminoácidos libres y ácidos grasos que poseen capacidad antioxidante, Senadeera *et al.* (2018) indica además que es probable la presencia de polifenoles en la leche y que en su mayoría se derivan de los piensos, de las proteínas y de los compuestos reductores. Durante el periodo de almacenamiento los compuestos fenólicos experimentan una reducción de 21.7% entre el primer día y 28 días, además que hasta el día 14 no hay cambios significativos ($p < 0.05$), en cuanto a la capacidad antioxidante del yogur natural (Control) según el método ABTS+ experimenta una reducción de 11.5% durante los 28 días de almacenamiento y se mantiene sin cambios significativos hasta el día 21, y de acuerdo al ensayo ORAC la capacidad antioxidante del yogur natural se reduce en 34.8% durante el periodo de almacenamiento y se mantiene estable hasta los 14 días. Según Kharchoufi, Mahmoud, Loupassaki, y Hamdi (2017) la disminución de la capacidad antioxidante está relacionada con el efecto de unión entre el polifenol y la proteína láctea. La unión proteínas polifenoles induce a la reducción del número de hidroxilo libre.

b) Efecto contenido polifenoles y capacidad antioxidante en el yogur enriquecido

Los resultados del contenido de polifenoles totales y de la capacidad antioxidante para el yogur con la inclusión de puré de mashua y stevia indican que aumentan el contenido de polifenoles en un 89.8% (de 501.04 a 951.36 mg EAG/100 g) con respecto al yogur natural, esto debido que la mashua es una excelente fuente de polifenoles, proporciona una buena fuente de antioxidantes y ofrecer efecto potencial de protección contra la oxidación de lípidos, Chirinos *et al.* (2008). La disminución de los polifenoles totales del yogur enriquecido es muy lenta en los 28 días de almacenamiento solo se reduce en un 8.3% y no expone diferencia significativa ($p < 0.05$), con respecto a la capacidad antioxidante según el método de ABTS+ el enriquecimiento del yogur ejerce un efecto en el aumento de 24.6% (de 337.35 a 420.56 uMol ET/100 g yogur) y su estabilidad durante los 28 días de

almacenamiento indican una disminución de 24.5% además que se mantiene estable hasta los 14 días a 5°C, este incremento de la actividad antioxidante por el efecto de la adición de puré de mashua y stevia es leve en comparación con la adición de pulpa de flor de arándano (Liu y Lv, 2018), extracto de cascara de granada (El-Said, Haggag, Fakhr El-Din, Gad y Farahat, 2014), al adicionar de té prensado (Liu, 2017), al adicionar extracto liofilizado de stevia (Carvalho *et al.*, 2018) y cuando se agregó azafrán al yogur (Gaglio *et al.*, 2018), todas empleando el ensayo ABTS+.

El ensayo de capacidad antioxidante según ORAC da cuenta que al enriquecer el yogur este se reduce en un 27.9% (de 359.96 a 259.57 uMol ET/100 g yogur), según (Yadav *et al.*, 2017), que observo algo similar al agregar extractos de semillas de uvas al yogur indica que la disminución en los valores de ORAC del yogur podría ser el resultado de interacciones proteína-polifenol, incluidas las proteínas de caseína y suero, Estas interacciones podrían haber sido responsables de afectar la capacidad de los sitios activos antioxidantes para donar hidrógeno para secuestrar los radicales con la eliminación del radical DPPH o con el método ORAC. Se observa también que durante el periodo de almacenamiento la capacidad antioxidante del yogur es estable significativamente ($p < 0.05$), hasta los 21 días del cual empieza a disminuir, Kharchoufi *et al.* (2017) cita que esta reducción de la actividad antioxidante en complejos de polifenoles y proteínas, también disminuye la biodisponibilidad de los antioxidantes. Este fenómeno también puede ocurrir en otros productos que contienen polifenoles y proteínas. La interacción, que resulta en complejos de proteína-polifenol, puede ser reversible e irreversible dependiendo del pH, la temperatura y las concentraciones de proteína y flavonoides. Las proteínas que contienen más grupos de prolina y flavonoides son responsables del agotamiento de la actividad antioxidante.

Con relación al contenido de antocianinas totales en el yogur enriquecido y que es aportado por la adición del puré cocido de mashua indican que ejerce un aporte de 0.77 mg AT/100 g de yogur, y durante el periodo de almacenamiento de 28 días hay una reducción de 27.3% además que su reducción es progresiva a 5°C y manifestándose que sería el componente menos estable en el yogur, algo similar encontró Oliveira, Alexandre, Coelho, y Lopes (2014) al preparar yogur con fresa donde en el mismo periodo de almacenamiento se dio una disminución del 24% en el contenido total de antocianinas, Jaster *et al.* (2018), indica que el mantenimiento de las antocianinas y la actividad antioxidante durante el tiempo de almacenamiento debe destacarse como una de las características más importantes de estos

estudios, ya que muestra la posibilidad de proporcionar un producto con mayor valor nutricional para el consumidor.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

Para obtener un yogur endulzado con stevia y añadido con puré cocido de mashua como colorante, la preparación debe de ser de acuerdo al método tradicional hasta obtener yogur natural sin aditivos y adicionar 55.67 gramos de puré de mashua por cada litro de yogur natural y además agregar 19.62 ± 0.97 g de stevia cristalizada, obteniendo un producto aceptable con una coloración semejante al yogur comercial de mora.

Los parámetros fisicoquímicos del yogur con stevia y mashua, tales como pH, acidez titulable, densidad y la capacidad de retención de agua, se mantienen normales o estables hasta el día 14 de almacenamiento a 5°C, a partir del cual se presentan diferencias significativas para los 21 y 28 días de almacenamiento.

El yogur natural presenta contenidos de polifenoles y actividad antioxidante posiblemente debida a que en la fermentación resulta compuestos como péptidos, aminoácidos y ácido grasos, el efecto de enriquecer con mashua y stevia dio que el yogur experimente un aumento de 89.8% en contenido de polifenoles totales y un aporte de 0.77 mg Antocianinas Totales por cada 100 gramos de yogur, siendo los compuestos fenólicos más estables que las antocianinas durante el almacenamiento.

La capacidad antioxidante es aumentada cuando se añaden la stevia y mashua, según el método de ABTS+ el poder antirradical aumenta de 337.35 hasta 420.56 uMol equivalente Trolox por cada 100 g de yogur y esto representa un incremento de 24.6% y se mantiene estable hasta los 14 días de almacenamiento a 5°C. Por el contrario, la capacidad antioxidante por el método ORAC fue menor que el yogur natural indicando que este ensayo no es adecuado para este tipo de yogur.

6.2. Recomendaciones

Consumir yogur enriquecido con puré cocido de mashua y endulzado con stevia por ser un producto lácteo rico en compuestos polifenoles y que su consumo sea entre los 14 días de almacenamiento a refrigeración.

Elaborar yogur enriquecido con productos nativos que impartan colores semejantes a los comerciales ofreciendo así productos naturales sin colorantes sintéticos y sin adición de azúcar.

Investigar el método más adecuado para medir la actividad antioxidante de yogur enriquecido con productos que contengan alto contenido de polifenoles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, D., Rodríguez, A., y Fernández, A. (2010). Efecto de las Variables de Proceso sobre la Cinética de Acidificación, la Viabilidad y la Sinéresis del Suero Costeño Colombiano. *Información tecnológica*, 21, 29-36.
- Albújar, E. (2018). Boletín Estadístico Mensual “El Agro en Cifras”. Retrieved from <http://www.minagri.gob.pe/portal/boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras>
- Andrade, H. (2014). *Estudio de factibilidad para la creación de una pequeña empresa productora y comercializadora de yogurt endulzado a base de stevia en la ciudad de Ibarra*. (Trabajo de pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.
- Azari-Anpar, M., Payeinmahali, H., Daraei Garmakhany, A., y Sadeghi Mahounak, A. (2017). Physicochemical, microbial, antioxidant, and sensory properties of probiotic stirred yoghurt enriched with Aloe vera foliar gel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13209. doi:doi:10.1111/jfpp.13209
- Cadena, R. S., Cruz, A. G., Netto, R. R., Castro, W. F., Faria, J. d. A. F., y Bolini, H. M. A. (2013). Sensory profile and physicochemical characteristics of mango nectar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research International*, 54(2), 1670-1679. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.012>
- Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Arbizu, C., Roca, W., y Cisneros-Zevallos, L. (2006). Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(10), 1481-1488. doi:10.1002/jsfa.2529
- Carbajal, A. (2013). *Elaboración de yogurt con aguaymanto (physalis peruviana) y determinación de vida útil sensorial mediante el análisis de supervivencia*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Perú.
- Carvalho, M. W., Arriola, N. D. A., Pinto, S. S., Verruck, S., Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., y Amboni, R. D. d. M. C. (2018). Stevia-fortified yoghurt: Stability, antioxidant

activity and in vitro digestion behaviour. *International Journal of Dairy Technology*, 0(0). doi:doi:10.1111/1471-0307.12559

Cerna, J. (2015). *Elaboración de yogurt saborizado con Mito (Carica Candicans Gray) y su evaluación de estabilidad*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Perú.

Chirinos, R., Campos, D., Betalleluz, I., Giusti, M. M., Schwartz, S. J., Tian, Q., . . . Larondelle, Y. (2006). High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection (HPLC–DAD)/HPLC–Mass Spectrometry (MS) Profiling of Anthocyanins from Andean Mashua Tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz and Pavón) and Their Contribution to the Overall Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7089-7097. doi:10.1021/jf0614140

Chirinos, R., Campos, D., Warnier, M., Pedreschi, R., Rees, J.-F., y Larondelle, Y. (2008). Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 111(1), 98-105. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.038>

Chirinos, R., Pedreschi, R., Cedano, I., y Campos, D. (2015). Antioxidants from Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) Control Lipid Oxidation in Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Oil and Raw Ground Pork Meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2612-2619. doi:10.1111/jfpp.12511

Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y., y Campos, D. (2013). Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products*, 47, 145-152. doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.025>

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R., y Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2), 217-225. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.12.005>

- Churayra, L. (2012). *Efecto de la adición de proteína concentrada de quinua (Chenopodium quinoa Willd) en las propiedades físico químicas y vida útil del yogurt*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Altiplano Puno, Puno, Perú.
- Cuya, R. (2009). *Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la Mashua (Tropaeolum tuberosum R&P)*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Dontha, S. (2016). *A review on antioxidant methods* (Vol. 9).
- Doylet, R., y Rodríguez, L. (2018). *Estudio comparativo de la composición química y carácter reductor de dos variedades de Tropaeolum tuberosum (Ruíz y Pavón, Kuntze) Mashua*. (Trabajo de grado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- El-Said, M. M., Haggag, H. F., Fakhr El-Din, H. M., Gad, A. S., y Farahat, A. M. (2014). Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(2), 207-212. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aogas.2014.11.007>
- Flores, N. (2015). *Evaluación de la aceptabilidad organoléptica y capacidad antioxidante de una bebida alcohólica no fermentada, formulado con extracto fenólico de Mashua (Tropaeolum Tuberosum) púrpura*. (Tesis de grado). Universidad Nacional Del Centro Del Perú, Huancayo, Perú.
- Gaglio, R., Gentile, C., Bonanno, A., Vintaloro, L., Perrone, A., Mazza, F., . . . Di Grigoli, A. (2018). Effect of saffron addition on the microbiological, physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 0(0). doi:10.1111/1471-0307.12569
- Garitta, L., Langohr, K., Elizagoyen, E., Gugole Ottaviano, F., Gómez, G., y Hough, G. (2018). Survival analysis model to estimate sensory shelf life with temperature and illumination as accelerating factors. *Food Quality and Preference*, 68, 371-376. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.014>

- Gonzales, J., y Tejada, S. (2010). *Extracción de esteviosido por columnas de intercambio iónico a partir de hojas estevia (stevia rebaudiana bertonii)*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Del Altiplano, Puno, Perú.
- Goyal, S. K., Samsher, y Goyal, R. K. (2010). Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr*, 61(1), 1-10. doi:10.3109/09637480903193049
- Guimarães, D., Iodelis, A., y Aguiar, L. (2016). *Análisis de los Parámetros Reológicos y Sensoriales de Yogur de Guayaba Enriquecido con Cereales*.
- Hernández, G. P., y Salazar, M. B. (2017). *Efecto de las betalaínas y fenoles solubles totales de pitahaya (Hylocereus polyrhizus) como antioxidantes en yogur*. (Tesis de pregrado). Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
- Hough, G. (2010). *Sensory Shelf Life Estimation of Food Products* (1st Edition ed.). Boca Ranton: CRC Press.
- Hough, G., Langohr, K., Gómez, G., y Curia, A. (2003). Survival Analysis Applied to Sensory Shelf Life of Foods. *Journal of Food Science*, 68(1), 359-362. doi:10.1111/j.1365-2621.2003.tb14165.x
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., y Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J Agric Food Chem*, 50(16), 4437-4444. doi:10.1021/jf0201529
- Inostroza, L. A., Castro, A. J., Hernández, E. M., Carhuapoma, M., Yuli, R. A., Collado, A., y Córdova, J. S. (2015). Actividad antioxidante de Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. *Ciencia e Investigación*, 18(2), 7.
- Jaster, H., Arend, G. D., Rezzadori, K., Chaves, V. C., Reginatto, F. H., y Petrus, J. C. C. (2018). Enhancement of antioxidant activity and physicochemical properties of yogurt enriched with concentrated strawberry pulp obtained by block freeze concentration. *Food Research International*, 104, 119-125. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.006>

- Karnopp, A. R., Oliveira, K. G., de Andrade, E. F., Postinger, B. M., y Granato, D. (2017). Optimization of an organic yogurt based on sensorial, nutritional, and functional perspectives. *Food Chemistry*, 233, 401-411. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.112>
- Kermiche, F., Boulekbache –Makhlouf, L., Félix, M., Harkat-Madouri, L., Remini, H., Madani, K., y Romero, A. (2018). Effects of the incorporation of cantaloupe pulp in yogurt: Physicochemical, phytochemical and rheological properties. *Food Science and Technology International*, 24(7), 585-597. doi:10.1177/1082013218776701
- Kharchoufi, S., Mahmoud, M. A. A., Loupassaki, S., y Hamdi, M. (2017). Quality mentoring of Greek yoghurt fortified with pomegranate juice and arils (*Punica granatum L.*) during storage. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 44, 2430 - 2437.
- Lee, J., Durst, R., y Wrolstad, R. (2005). *Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study* (Vol. 88).
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., y Ah-Hen, K. (2012). Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132(3), 1121-1132. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>
- Liu, D. (2017). Effect of Fuzhuan brick-tea addition on the quality and antioxidant activity of skimmed set-type yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 71(S1), 22-33. doi:10.1111/1471-0307.12395
- Liu, D., y Lv, X. X. (2018). Effect of blueberry flower pulp on sensory, physicochemical properties, lactic acid bacteria, and antioxidant activity of set-type yogurt during refrigeration. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(1), e13856. doi:10.1111/jfpp.13856
- López Osornio, M. M., y Hough, G. (2010). Comparing 3-Point Versus 9-Point Just-About-Right scales for determining the optimum concentration of sweetness in a beverage. *Journal of Sensory Studies*, 25(s1), 1-17. doi:10.1111/j.1745-459X.2009.00268.x

- Magalhaes, L. M., Santos, F., Segundo, M. A., Reis, S., y Lima, J. L. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83(2), 441-447. doi:10.1016/j.talanta.2010.09.042
- Manrique, I., Arbizu, C., Vivanco, F., Gonzales, R., Ramírez, C., Chávez, O., . . . Ellis, D. (2013). *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav. Catálogo de la colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP) In P. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima (Ed.), (Primera edición, diciembre 2013 ed., pp. 122).
- Martinez, S. (2016). *Evaluación de la viscosidad y el color del yogurt batido con adición de goma de tara (caesalpinia spinosa) como estabilizante a diferentes concentraciones*. (Tesis de pregrado), Universidad Nacional José María Arguedas, Andahuaylas, Perú.
- Mathias-Rettig, K., y Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2), 39-48. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07
- Mera, J. G. (2014). *Elaboración del tubérculo Mashua (tropaeolum tuberosum) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante*. (Tesis de pregrado). Universidad De Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
- Moharram , H. A., y Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.
- Mori, C. L. (2017). *Efecto de la carragenina y sacarosa en la actividad de agua, pH, sinéresis y acidez del yogurt*. (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., y Fernández-López, J. A. (2009). Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering*, 90(4), 471-479. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013>
- Oliveira, A., Alexandre, E., Coelho, M., y Lopes, C. (2014). Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins. *Food Chemistry*.

- OMS/FAO. (2011). *Comisión del Codex Alimentarius: Leche y productos lácteos* (Segunda ed.). Roma: FAO.
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., y Prior, R. L. (2001). Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. doi:10.1021/jf010586o
- Pacco, W. (2015). *Evaluación del efecto del soleado y la cocción en la capacidad antioxidante del puré deshidratado de Mashua (Tropaeolum tuberosum R. et P.)*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.
- Paredes, J. (2012). *Evaluación del efecto del procesamiento: blanqueado y secado en el contenido de glucosinolatos y la actividad mirosinasa en Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavon (Mashua, en sus variedades amarilla y morada)*. (Tesis de pregrado). Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú.
- Parra, R. (2012). Yogur en la salud humana. *Revista Lasallista de Investigación*, 162-177.
- Phansawan, B., y Pounghangpho, S. (2007). Antioxidant capacities of Pueraria mirifica, Stevia rebaudiana Bertoni, Curcuma longa Linn., Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees and Cassia alata Linn for the development of dietary supplement. *Kasetsart Journal Natural Science*, 41, 548–554.
- Ramallo, R., Wathelet, J.-P., Le Boulengé, E., Torres, E., Marlier, M., Ledent, J.-F., . . . Larondelle, Y. (2004). Glucosinolates in isano (~ Tropaeolum tuberosum) tubers: qualitative and quantitative content and changes after maturity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(7), 701 - 706. doi:10.1002/jsfa.1691
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rojas Castro, W. N., Chacon, A., y Pineda-Castro, M. (2007). *Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra* (Vol. 18).

- Rojas, K., y Pérez, E. (2018). *Aplicación de los colorantes Tropaeolum tuberosum (Mashua) y Dactylopius coccus (Cochinilla) en la tinción de pared celular presente en un frotis bacteriano*. (Tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima, Perú.
- Salluca, T. G., Peñarrieta, J. M., Alvarado, J. A., & Bergenståhl, B. (2008). Determination of total phenolic compounds content and the antioxidant capacity of andean tubers and roots (Isaño, Oca, Ulluco and Arracacha). *Revista Boliviana de Química*, 25, 59-62.
- Salvador-Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., y Paucar-Menacho, L. (2014). Estudio de la Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. *Scientia Agropecuaria*, 5(3), 157 - 163.
- Senadeera, S. S., Prasanna, P. H. P., Jayawardana, N. W. I. A., Gunasekara, D. C. S., Senadeera, P., y Chandrasekara, A. (2018). Antioxidant, physicochemical, microbiological, and sensory properties of probiotic yoghurt incorporated with various *Annona* species pulp. *Heliyon*, 4(11), e00955. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00955>
- Shahidi, F. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, v. 18, pp. 757-781-2015 v.2018. doi:10.1016/j.jff.2015.01.047
- Shivakumar, A., y Yogendra Kumar, M. S. (2018). Critical Review on the Analytical Mechanistic Steps in the Evaluation of Antioxidant Activity. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(3), 214-236. doi:10.1080/10408347.2017.1400423
- Šic, J., Voća, S., Dobričević, N., Ježek, D., Bosiljkov, T., y Brncic, M. (2013). *Stevia rebaudiana Bertoni - A Review of Nutritional and Biochemical Properties of Natural Sweetener* (Vol. 78).
- Sigdel, A., Ojha, P., y Karki, T. B. (2018). Phytochemicals and syneresis of osmo-dried mulberry incorporated yoghurt. *Food Science & Nutrition*, 6(4), 1045-1052. doi:10.1002/fsn3.645
- Suquilanda, M. (2012). *Producción orgánica de cultivos andinos*. Manual Técnico. Ecuador.

- Tavakoli, M., Habibi Najafi, M. B., y Mohebbi, M. (2019). Effect of the milk fat content and starter culture selection on proteolysis and antioxidant activity of probiotic yogurt. *Heliyon*, 5(2), e01204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01204>
- Vanegas-Azuero, A.-M., y Gutiérrez, L.-F. (2018). Physicochemical and sensory properties of yogurts containing sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and β -glucans from *Ganoderma lucidum*. *Journal of Dairy Science*, 101(2), 1020-1033. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13235>
- Villamarín, D. (2016). *Desarrollo y composición química de las plantas de Stevia reubaudiana Bertoni inoculadas con Trichoderma asperillum*. (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, Yautepec de Zaragoza, México.
- Yadav, K., Bajaj, R. K., Mandal, S., Saha, P., y Mann, B. (2017). Evaluation of total phenol content and antioxidant properties of encapsulated grape seed extract in yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 71(1), 96-104. doi:10.1111/1471-0307.12464

ANEXOS

Anexo 1

PROTOCOLO PARA CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

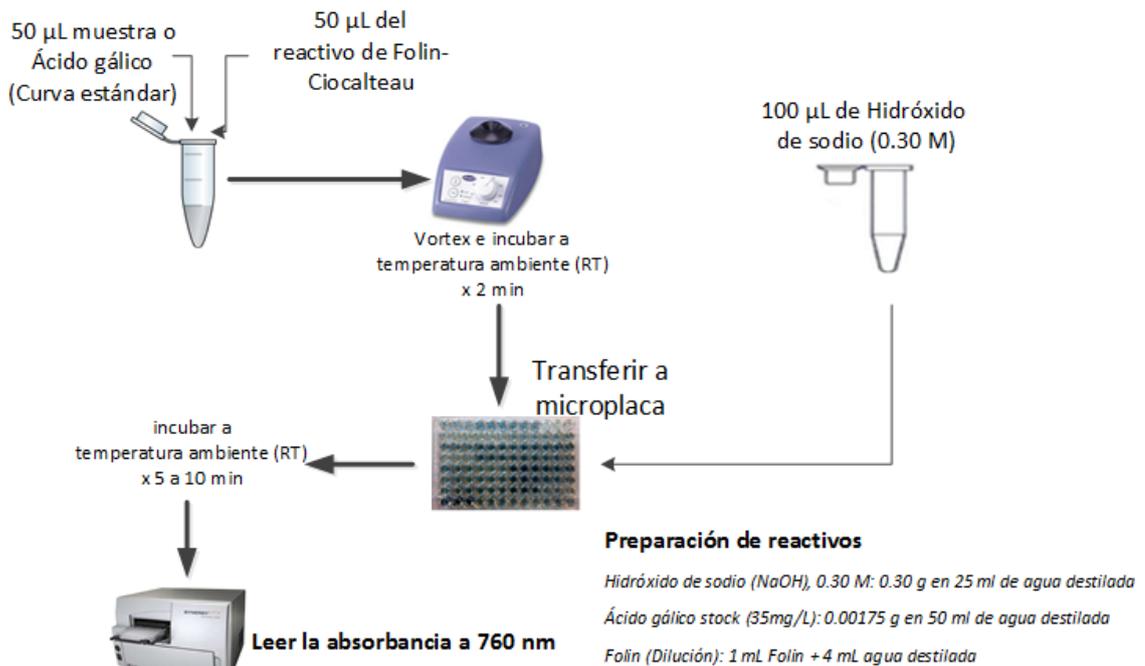


UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN - HUACHO

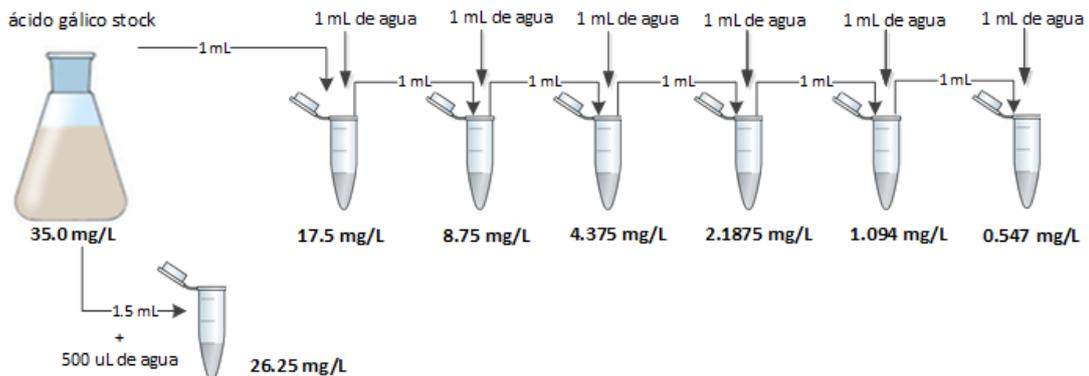
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAM:

FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Polifenoles totales



Dilución seriada: Curva estándar

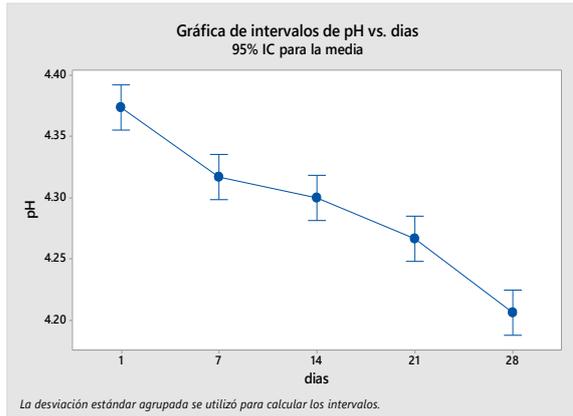


Referencia

Magalhães, L.M.; Santos, F.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L.F.C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83(2), 441-447.

Anexo 2

ANVA Y PRUEBA TUKEY EN PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS PARA EL YOGUR NATURAL

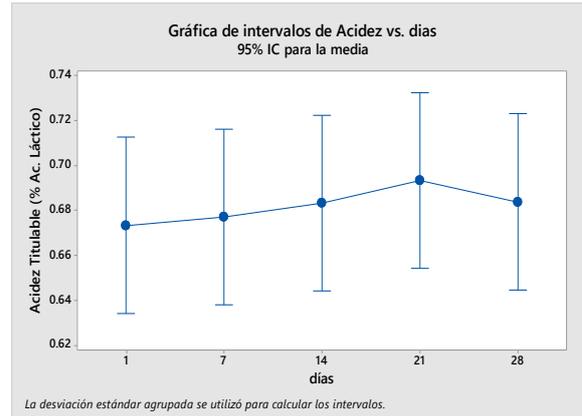


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.045627	0.011407	55.19	0.000
Error	10	0.002067	0.000207		
Total	14	0.047693			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
1	3	4.37333	A
7	3	4.3167	B
14	3	4.30000	B C
21	3	4.26667	C
28	3	4.20667	D

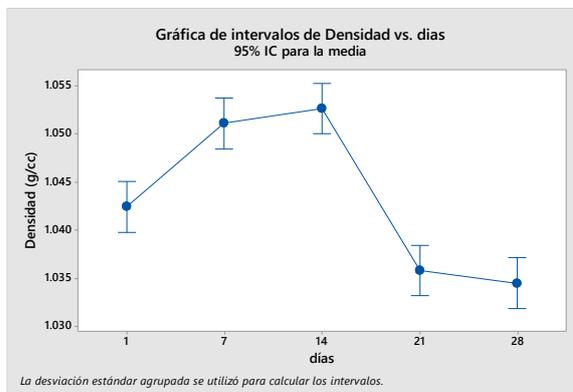


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.000690	0.000172	0.19	0.940
Error	10	0.009227	0.000923		
Total	14	0.009917			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
21	3	0.6933	A
28	3	0.68379	A
14	3	0.6833	A
7	3	0.67721	A
1	3	0.6734	A

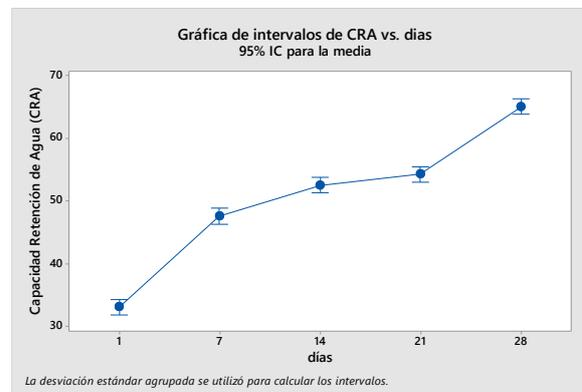


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.000844	0.000211	50.82	0.000
Error	10	0.000042	0.000004		
Total	14	0.000885			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
14	3	1.05264	A
7	3	1.05109	A
1	3	1.04244	B



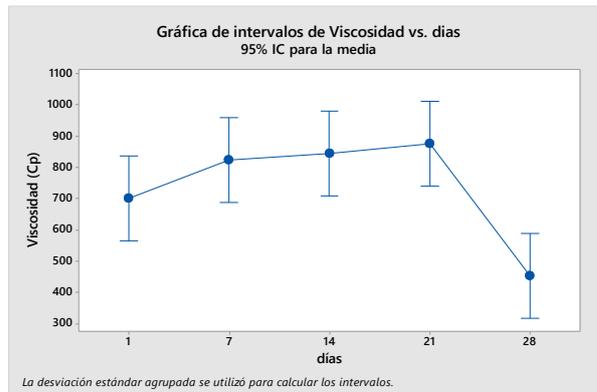
Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	1619.94	404.985	437.51	0.000
Error	10	9.26	0.926		
Total	14	1629.20			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
28	3	65.032	A
21	3	54.299	B
14	3	52.57	B

21	3	1.03585	C	7	3	47.615	C
28	3	1.03452	C	1	3	33.1291	D



Análisis de Varianza

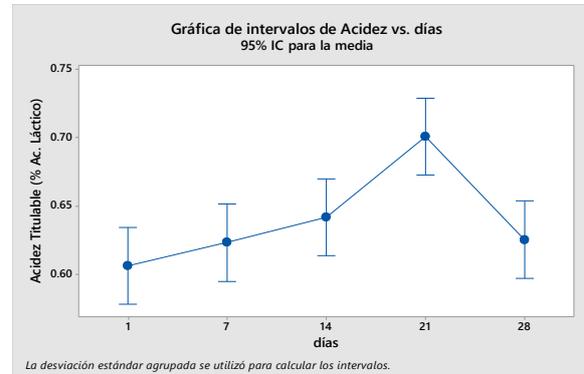
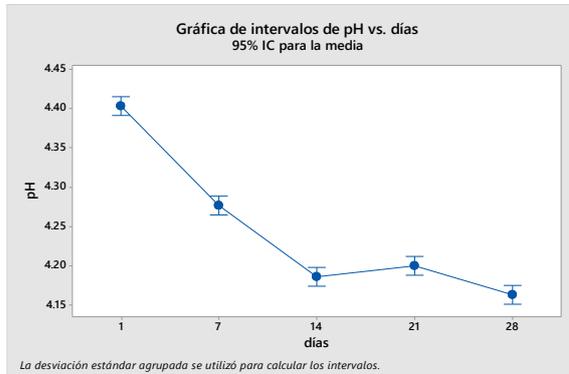
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	360627	90157	8.14	0.003
Error	10	110695	11069		
Total	14	471322			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
21	3	876	A
14	3	844.2	A
7	3	823.9	A
1	3	701.11	A B
28	3	453.3	B

Anexo 3

ANVA Y PRUEBA TUKEY EN PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS PARA EL YOGUR CON MASHUA



Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.114493	0.028623	330.27	0.000
Error	10	0.000867	0.000087		
Total	14	0.115360			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

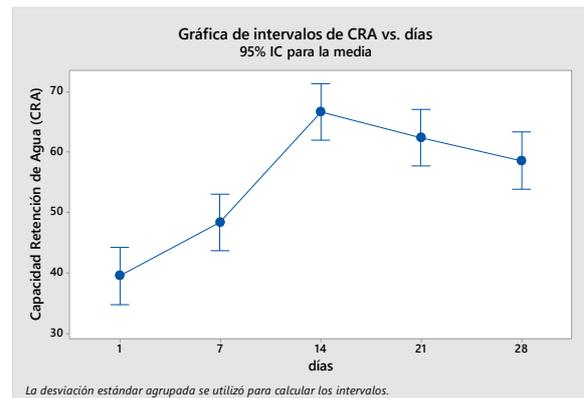
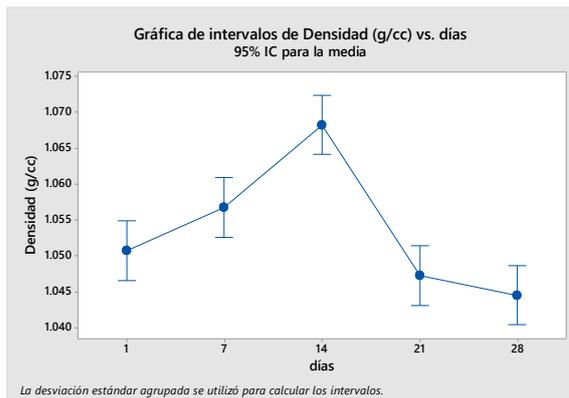
Días	N	Media	Agrupación
1	3	4.40333	A
7	3	4.27667	B
21	3	4.20000	C
14	3	4.18667	C D
28	3	4.16333	D

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.016015	0.004004	8.31	0.003
Error	10	0.004819	0.000482		
Total	14	0.020834			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
21	3	0.7010	A
14	3	0.64196	B
28	3	0.62551	B
7	3	0.6234	B
1	3	0.60641	B



Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
días	4	0.001065	0.000266	25.74	0.000
Error	10	0.000103	0.000010		
Total	14	0.001169			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

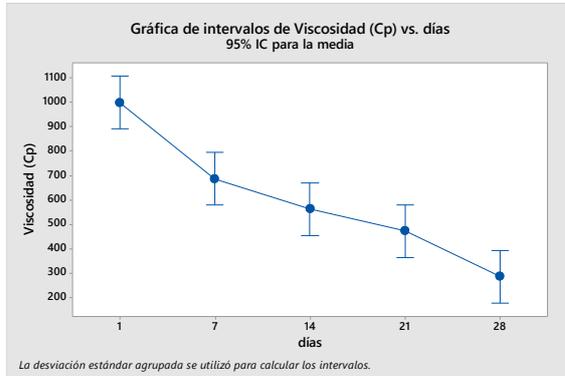
Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
días	4	1446.4	361.59	27.33	0.000
Error	10	132.3	13.23		
Total	14	1578.6			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
14	3	1.06828	A
7	3	1.05681	B
1	3	1.05078	B C
21	3	1.04728	C
28	3	1.04458	C

Días	N	Media	Agrupación
14	3	66.62	A
21	3	62.39	A
28	3	58.62	A
7	3	48.462	B
1	3	39.6191	B



Análisis de Varianza

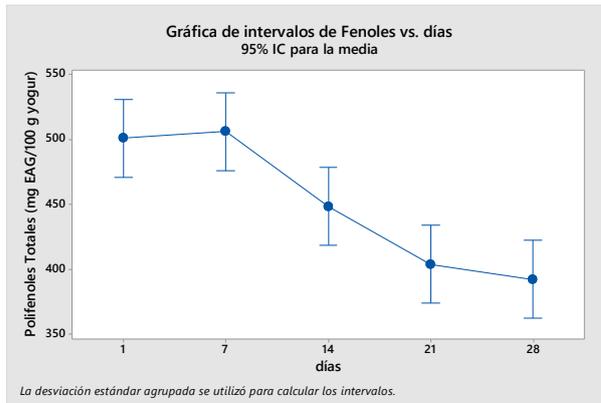
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	847637	211909	30.22	0.000
Error	10	70117	7012		
Total	14	917754			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
1	3	998.6	A
7	3	686.4	B
14	3	563.2	B
21	3	472.4	B C
28	3	286.1	C

Anexo 4

ANVA Y PRUEBA DE TUKEY PARA POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGUR NATURAL

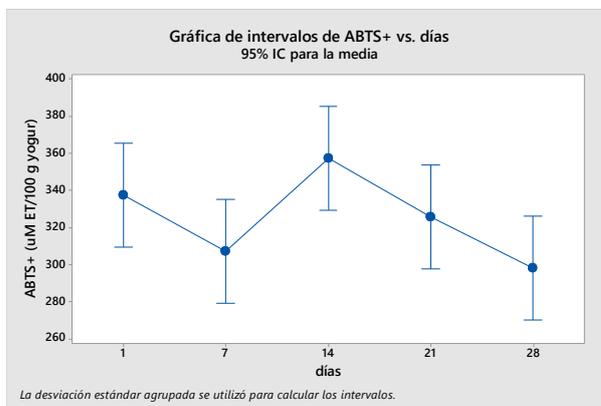


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
días	4	33557	8389.1	15.41
Error	10	5445	544.5	
Total	14	39001		

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

días	N	Media	Agrupación
7	3	506.1	A
1	3	501.0	A
14	3	448.6	A B
21	3	404.1	B
28	3	392.34	B

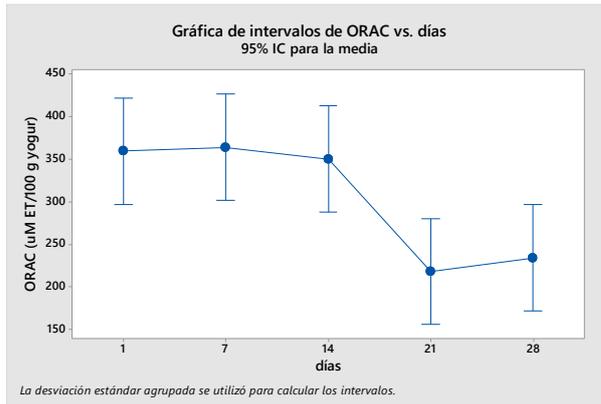


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
días	4	6648	1662.0	3.54
Error	10	4694	469.4	
Total	14	11342		

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

días	N	Media	Agrupación
14	3	357.1	A
1	3	337.3	A B
21	3	325.7	A B
7	3	307.09	A B
28	3	298.32	B



Análisis de Varianza

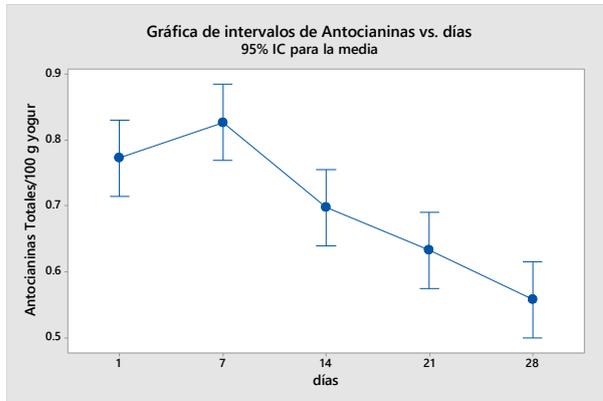
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
días	4	63195	15799	6.73
Error	10	23484	2348	
Total	14	86679		

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

días	N	Media	Agrupación
7	3	364.27	A
1	3	360.0	A
14	3	350.6	A
28	3	234.61	A B
21	3	218.40	B

Anexo 5

ANVA Y PRUEBA DE TUKEY PARA ANTOCIANINA, POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGUR CON MASHUA-STEVIÁ

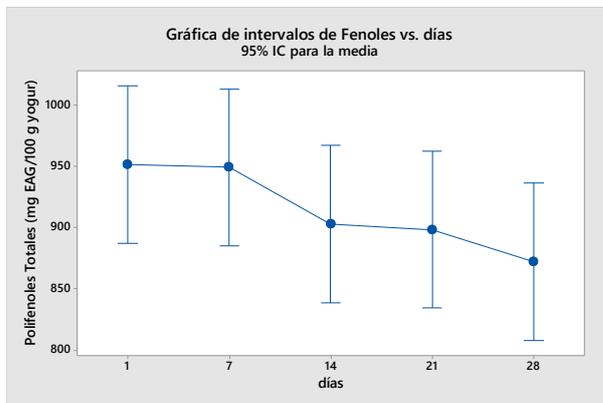


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	0.13807	0.034518	17.12	0.000
Error	10	0.02016	0.002016		
Total	14	0.15823			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

días	N	Media	Agrupación
7	3	0.8268	A
1	3	0.7724	A B
14	3	0.6975	B C
21	3	0.6331	C D
28	3	0.5577	D

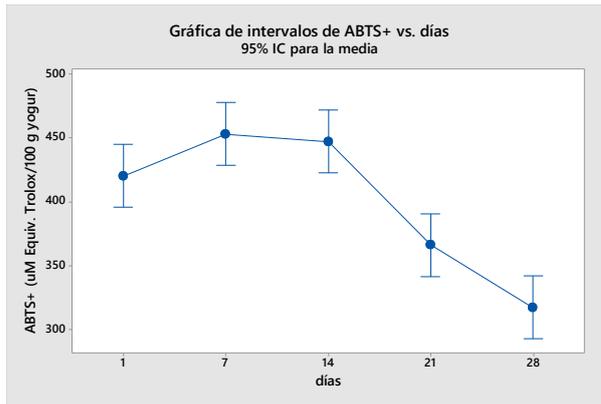


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Días	4	14175	3544	1.43	0.293
Error	10	24746	2475		
Total	14	38920			

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
1	3	951.4	A
7	3	949.0	A
14	3	902.8	A
21	3	898.4	A
28	3	872.3	A

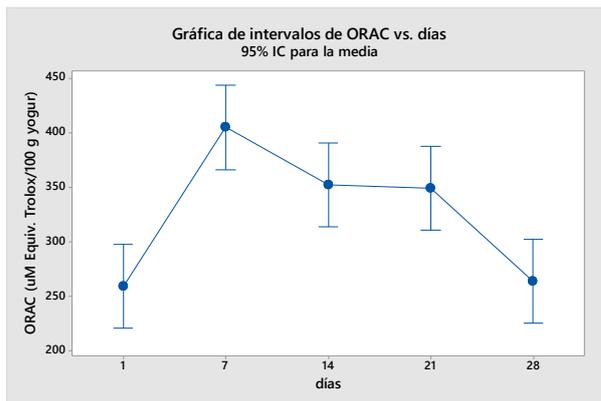


Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
Días	4	40248	10062.1	27.54
Error	10	3653	365.3	
Total	14	43902		

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
7	3	453.3	A
14	3	447.4	A
1	3	420.56	A
21	3	366.46	B



Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F
Días	4	47128	11782.1	13.20
Error	10	8928	892.8	
Total	14	56056		

Agrupar método de Tukey y una confianza de 95%

Días	N	Media	Agrupación
7	3	404.77	A
14	3	352.0	A
21	3	349.3	A
28	3	263.80	B
1	3	259.6	B