

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“DESARROLLO DE UN PURÉ FUNCIONAL A BASE DE GUANABANA Y CHÍA”**

**Por:**

**LUZ ABIGAHIL GARCÍA PINTO**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:  
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Saltillo, Coahuila, México**

**Marzo del 2018**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“DESARROLLO DE UN PURÉ FUNCIONAL A BASE DE GUANABANA Y CHÍA”**

Por:

LUZ ABIGAHIL GARCÍA PINTO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

La cual fue revisada y aprobada por:

**COMITÉ ASESOR**

**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**

**Asesor Principal**

**M.E. Laura Olivia Fuentes Lara**

**Coasesor**

**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**

**Coasesor**

**Dr. José Dueñez Alanís**

**Coordinador de la División de Ciencia Animal**

Saltillo, Coahuila, México

Marzo del 2018

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“DESARROLLO DE UN PURÉ FUNCIONAL A BASE DE GUANABANA Y CHÍA”**

Por:

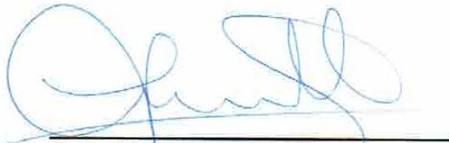
LUZ ABIGAHIL GARCÍA PINTO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**JURADO CALIFICADOR**



---

**Dra. Xochitl Ruelas Chacón**



---

**M.E. Laura Olivia Fuentes Lara**

**Presidente**



---

**QFB. María Carmen Julia García**

**Vocal**

**Vocal**



---

**M.C. Oscar Noé Reboloso Padilla**

**Vocal Suplente**

Saltillo, Coahuila, México

Marzo del 2018

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	9
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	10
<b>1.1 JUSTIFICACIÓN</b> .....	12
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	13
2.1. Alimento Funcional.....	13
2.2. Guanábana .....	15
2.3. Chía.....	16
2.4. Aceite esencial de limón.....	18
2.5. Agentes antimicrobianos naturales .....	19
2.7. Puré.....	25
2.8. Evaluación sensorial .....	25
<b>3. MATERIALES Y METODOS</b> .....	31
3.1. Materiales Biológicos .....	31
3.2. Materiales de laboratorio y reactivos.....	31
3.3. Procedimientos .....	34
3.3.1 Caracterización de puré.....	34
3.3.2 Análisis Físico Químico.....	36
3.3.3 Análisis Bromatológico.....	39
3.3.4 Análisis Microbiológico.....	47
3.3.5 Análisis Sensorial.....	52
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	53
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	71
<b>6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	73
<b>7. ANEXOS</b> .....	75

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales componentes funcionales.....	14
Cuadro 2. Composición química mayoritaria de aceites esenciales.....	19
Cuadro 3. Tendencias de los consumidores que tienen impacto directo en la tecnología y conservación de alimentos.....	20
Cuadro 4. Ingesta diaria admisible (mg/kg/día) .....	24
Cuadro 5. Formulación para la preparación del puré de guanábana con chía.....	35
Cuadro 6. Identificación de muestras. ....	36
Cuadro 7. Diluciones de la solución madre. ....	47
Cuadro 8. Identificación de códigos (muestras). ....	53
Cuadro 9. Códigos de la prueba hedónica .....	67
Cuadro 10. Comparación de productos tipo puré.....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de la Stevia.....	22
Figura 2. Estructura química de la Sucralosa.....	23
Figura 3. Digestión en aparato Kjeldhal .....	41
Figura 4. Equipo Soxleth .....	43
Figura 5. Aparato de reflujo en determinación de Fibra Cruda.....	44
Figura 6. Medios de cultivo PDA Y STD.....	48
Figura 7. Autoclave .....	49
Figura 8. Medio de cultivo en cajas Petri.....	49
Figura 9. Frascos con las diluciones de las muestras .....	50
Figura 10. Preparación de diluciones .....	50
Figura 11. Incubación de bacterias mesófilas .....	51
Figura 12. Incubación de hongos y levaduras.....	51
Figura 13. Jueces semi-entrenados .....	52
Figura 14. Indicaciones de la prueba sensorial .....	52
Figura 15. Colorimetría comparación de resultados de la muestras .....	54
Figura 16. Viscosidad resultados de las muestras .....	54

Figura 17. Porcentaje de pH resultados de las muestras .....	55
Figura 18. °Brix comparación de resultados de las muestras .....	56
Figura 19. Acidez Titulable comparación de resultados de las muestras .....	57
Figura 20. Vitamina C comparación de resultados de las muestras.....	58
Figura 21. Materia seca total (%) comparación de resultados de las muestras ....	59
Figura 22. Humedad (%) comparación de resultados de las muestras .....	60
Figura 23. Ceniza (%) comparación de resultados de las muestras .....	61
Figura 24. Proteína (%) comparación de resultados de las muestras .....	61
Figura 25. Extracto etéreo (%) comparación de resultados de las muestras .....	62
Figura 26. Fibra cruda (%) comparación de resultados de las muestras .....	63
Figura 27. Carbohidratos (%) comparación de resultados de las muestras .....	64
Figura 28. Fibra neutro detergente (%) comparación de resultados de las muestras .....	65
Figura 29. Azúcares reductores (%) comparación de resultados de las muestras	66
Figura 30. Calorías (%) comparación de resultados de las muestras .....	66
Figura 31. Resultados Friedman de la Evaluación Sensorial .....	68
Figura 32. Desviación estándar.....	75
Figura 33. Datos Análisis Bromatológico STEVIA .....	75
Figura 34. Datos Análisis Bromatológicos SPLENDA .....	76
Figura 35. Preparación de medios de cultivo .....	76
Figura 36. Identificación de cajas Petri.....	76
Figura 37. Preparación de material para siembra de muestra de cultivo .....	77
Figura 38. Vaciado de medios.....	77
Figura 39. Siembra de muestras diluidas en medio de cultivo .....	77
Figura 40. Muestras en placas .....	77
Figura 41. Ausencia de colonias en Agar PDA (Dilución -3,-4,-5) STEVIA .....	77
Figura 42. Ausencia de colonias en Agar Bilis y Rojo Violeta .....	77
Figura 43. Ausencia de colonias en Agar PDA (Dilución -3, -4, -5) SPLENDA .....	77

## **DEDICATORIA**

### ***"ALMATERRA MATER"***

La realización de mi tesis y la culminación de mi carrera en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, tienen una dedicatoria muy especial a mis padres, Alejandro García Anguiano y Amparo Pinto García, gracias a ellos pude lograr un sueño del que muchos dudaron pero que mis papás siempre creyeron, confirmando esto al brindarme el beneficio de su confianza, aconsejando, apoyando y respetando mis decisiones, simplemente gracias por dejarme en vida la mejor herencia que un hijo puede recibir, educación.

A mi abuelo Jorge García Larios por todo su cariño y confianza que me dio en vida, por creer en mí al tomar la decisión de salir a estudiar lejos de ellos y a mi abuela Abigahil García Papías que a pesar de no conocerla siempre me acompañó y cuidó de mí, a ellos dos que son parte importante en mi vida y que se me seguirán protegiendo desde el cielo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por haberme dado unos padres como los que tengo, y la oportunidad de vivir esta experiencia en la mejor Universidad, por darme la suerte y la bendición de conocer personas que me acogieron como parte de su familia y me ayudaron a sentirme como en casa en esta bella ciudad, Saltillo, Coahuila.

A mis hermanos, Georgina, Jorge e Idolina García Pinto, por ser parte importante en este trayecto de mi vida, por apoyarme cuando lo necesitaba y estar en las buenas y en las malas, gracias a ellos que me demostraron que la familia es primero y que a pesar de todo siempre estaremos unidos.

A mis maestros, ellos que me hicieron amar y sentir que no me equivocaba al estudiar esta carrera, a mi asesora Xochitl Ruelas Chacón, por dedicarme tiempo para lograr la realización de mi Tesis y por causar mi interés por explorar más allá de lo que vemos en la carrera.

A mi familia, tíos y primos por ayudarme y demostrarme su cariño y por supuesto a mis abuelos en vida, a María de la Luz Anguiano Rodríguez y Alejandro Pinto Ayala, todos ellos me motivaron a salir adelante y poder hacerlos sentir orgullosos.

A mi pareja, Ramses Rangel Flores, que gracias a esta estancia de 4 años y medio en la Universidad lo conocí, le agradezco su paciencia y su interés por estar conmigo no solo acompañándome en las buenas y malas, sino también por escucharme, comprenderme y apoyarme en mis decisiones.

A mis amigos de Jalisco, Mariela, Juan Luis, Aarón, Ramses, Yesenia y Andrea, que me brindaron su amistad incondicional a pesar de la distancia y acogiéndome como amiga siempre que regresaba a mi pueblo, demostrando interés por mi bienestar, siempre dispuestos a intercambiar y escuchar nuestras experiencias de estudiantes sin dejar la diversión atrás.

A mis nuevos amigos y mi segunda familia en Saltillo, Harry, Piquis, Wito, Gabo, Pablo, Jazmín (chalequita), Charly, Aarón, James, Nohemi, Daniela, Lizbeth, Juan Pablo, Tamara, Laurita, Marcela, Alejandra, Lily, a todos ellos por convertir estos 4 años y medio inolvidables para mí, ser parte de una historia hermosa para recordar toda la vida.

## RESUMEN

En la realización del puré a base de guanábana y chía, se elaboraron diferentes formulaciones: Cuatro muestras con distintos porcentajes de edulcorante de STEVIA y otras 4 con edulcorante SPLENDA. Para poder elegir la mejor muestra de acuerdo a los objetivos y aceptación por parte del panel de jueces, se realizaron diferentes determinaciones para conocer el contenido de su composición porcentual y compuestos bioactivos. El conocimiento de lo anteriormente mencionado nos permite comparar con la literatura que explica, qué es un alimento funcional y sus propósitos de este tipo de alimento, lo cual bajo ciertos argumentos el puré de guanábana y chía se puede manejar como un alimento funcional, que no solo aporta nutrientes sino también brinda compuestos que desarrollan actividades específicas en el cuerpo humano, brindando beneficios a la salud al consumir este puré nuevo.

Para las ocho formulaciones elaboradas, se realizó un análisis físico-químico que abarco: colorimetría, viscosidad, sólidos solubles totales, pH, acidez titulable, vitamina C, así como un análisis bromatológico, donde se determinaron el contenido en porcentaje de materia seca total, humedad, cenizas, grasa, proteína, carbohidratos, fibra, azúcares reductores y contenido calórico. Además de lo anterior también se realizaron análisis microbiológicos para mesófilos aerobios, hongos y levaduras. Se realizó un análisis sensorial de nivel de agrado (hedónica) donde participaron 16 jueces semi-entrenados, con la finalidad de elegir una muestra de las 8 formulaciones que se desarrollaron.

**PALABRAS CLAVES:** *Puré/ Alimento funcional/ Antimicrobiano natural/ Guanábana.*

## 1. INTRODUCCIÓN

La *Annona muricata* o mejor conocida como "guanábana" pertenece a la familia de *Annonaceae*, género *Annona*, que a pesar de contener una gran variedad de propiedades y de presumir sustancias anti-cancerígenas aún no hay suficientes respaldos científicos que lo validen. La distribución de esta fruta tropical en México se encuentra dentro de los estados de Chiapas, Guerrero, Jalisco, Querétaro, Tabasco, Veracruz y Yucatán, su origen es nativo de Mesoamérica.

La pulpa de la guanábana posee una alta actividad antioxidante, por lo que realizar un alimento a base de esta fruta deja una responsabilidad importante de no afectar sus propiedades medicinales y organolépticas y lograr un producto agradable para los consumidores. Con los cambios en la dieta humana, es necesario contribuir a nuestra salud con alimentos que aporten beneficios y que a su vez, nuestro paladar los acepte para su consumo. La calidad es importante en el desarrollo de un nuevo o innovador alimento, ya que es la medida en que los niveles del conjunto de características que ofrece un producto o servicio satisfacen unas necesidades expresadas o implícitas de los consumidores (Rivera, 1995).

En la actualidad existe una tendencia mundial hacia un mayor consumo de frutas y hortalizas, motivado primordialmente por una creciente preocupación de una dieta más equilibrada, con menor proporción de carbohidratos, grasas y aceites y con una mayor participación de la fibra dietética, vitaminas y minerales. Esto se fundamenta, en parte, en que tras la vida moderna que se lleva actualmente se necesitan menores cantidades calóricas, motivo que surge por un mayor confort y sedentarismo. Es por eso que cada vez se consumen productos más frescos y sanos, lo más parecido a su forma original y menos procesados, debido a que se ha asociado el consumo de conservadores químicos con intoxicaciones, cáncer y otras enfermedades degenerativas, como son los benzoatos, nitritos y nitratos, anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>), entre otros. Esto genera buscar alternativas de conservación que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento (Álvarez-Parrilla, 2005). Obtener un alimento procesado o manipulado sin añadir aditivos o enriquecidos con vitaminas y

minerales de forma artificial es una tarea complicada, pues se pone en riesgo su vida de anaquel, pero existen sustancias que además de brindar propiedades benéficas también aportan una mayor vida de anaquel a los alimentos, por sus compuestos químicos que de forma natural contiene, como el aceite esencial de limón.

Desafortunadamente la obesidad en México es un tema que concierne a toda la sociedad y el crear productos que ya no solo cuenten con un buen sabor, olor, aroma y textura si no también con beneficios al cuerpo y bajos en calorías es un trabajo complicado. La clave es utilizar materias primas con ciertas características que beneficien al cuerpo por ejemplo la chíá, que además de poseer un buen contenido y calidad de fibra, otorga la textura gelatinosa que en ocasiones buscamos en alimentos como mermeladas o purés de frutas y en combinación con edulcorante no calóricos en lugar de la sacarosa, ayuda a contribuir en mejorar la salud humana.

Entonces incluir alimentos en la dieta que realmente no perjudiquen la salud y que por lo contrario contribuyan a mejorarla, si es posible, sin embargo, crear alimentos con este objetivo es una tarea difícil, pues además de realizar un extenso análisis de laboratorio para que pueda ser aprobado por las normas alimentarias, este también debe de ser aprobado por el juez más importante, el consumidor.

## **1.1 JUSTIFICACIÓN**

Durante el paso de los años la alimentación humana ha cambiado, debido a diferentes circunstancias como; falta de tiempo de elaboración, gustos por los sabores y aromas de los alimentos, enfermedades como diabetes y obesidad, entre otras, por lo que actualmente se busca obtener una alimentación más sana, consecuencia e interés de los consumidores que demandan adquirir alimentos que realmente sean nutritivos y con mayor aportación a la salud, es decir, consumir alimentos que además de sus componentes nutritivos contienen componentes adicionales que favorecen a la salud biológica, física y mental.

Encontrar alimentos que brinden funciones específicas además de su valor nutritivo es una buena tendencia moderna y que conlleva un gran trabajo.

De esta forma el desarrollar un puré a base de guanábana y chía en la forma más natural posible utilizando ingredientes no calóricos otorga poder nombrarlo "alimento funcional" gracias a las características de la materia prima en cuanto sus propiedades, que juegan un papel importante en funciones específicas del cuerpo y la salud humana.

## **1.2. OBJETIVOS**

### **Objetivo general:**

Desarrollar un puré como alimento funcional a base de guanábana y chía, gracias a sus propiedades y beneficios a la salud humana.

### **Objetivos específicos:**

- Evaluar formulaciones de puré de guanábana (pulpa de guanábana, splenda, stevia, chía y conservador (aceite de limón)
- Determinar un análisis bromatológico, pH, color, SST, AT, y viscosidad.
- Analizar la vida de anaquel de la mermelada funcional durante un período de tres a seis meses.

- Evaluar la calidad sensorial de la mermelada

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1. Alimento Funcional**

El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental. Los alimentos de este tipo son reconocidos porque llevan un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar del gobierno japonés (Arai, 1996).

Algunas de las principales funciones son las relacionadas con un óptimo crecimiento y desarrollo, la función del sistema cardiovascular, los antioxidantes, el metabolismo de xenobioticos, el sistema gastrointestinal, entre otros (Palou et al., 2000). En opinión de los expertos, muchas de las enfermedades crónicas que afligen a la sociedad de un modo particular, por ejemplo cáncer, obesidad, hipertensión, trastornos cardiovasculares, se relacionan de un modo muy estrecho con la dieta alimenticia (Jones, 2002).

En Europa se define alimento funcional a aquel que satisfactoriamente ha demostrado impactar benéficamente una o más funciones específicas en el cuerpo (cuadro 1), más allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad (Roberfroid, 2000). El siguiente cuadro contiene información de algunos componentes que impactan benéficamente al cuerpo, por ejemplo los flavonoides que se pueden encontrar en los cítricos y su aportación al cuerpo es potencialmente importante.

<b>Clase/Componente</b>	<b>Origen</b>	<b>Beneficio potencial</b>
<b>Carotenoides</b>		
<b>Beta caroteno</b>	Zanahoria	Neutraliza los radicales libres que podrían dañar a las células
<b>Luteína</b>	Vegetales verdes	Contribuye a una visión sana
<b>Lycopeno</b>	Tomate	Podría reducir el riesgo de cáncer de próstata
<b>Fibras dietéticas</b>		
<b>Fibra insoluble</b>	Cáscara de trigo	Podría reducir el riesgo de cáncer de colon
<b>Beta glucano</b>	Avena	Reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular
<b>Ácidos grasos</b>		
<b>Omega 3, ácido graso DHA</b>	Aceites de peces	Podrían reducir el riesgo de enf. Cardiovascular y mejorar funciones mentales y visuales
<b>Ácido linoléico</b>	Queso, productos cárnicos	Podrían mejorar la composición corporal, podrían reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer
<b>Flavonoides</b>		
<b>Catequinas</b>	Te	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<b>Flavonas</b>	Cítricos	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<b>Esteroles vegetales</b>		
<b>Ester estanol</b>	Maíz, soya, trigo	Reduce los niveles de colesterol sanguíneo
<b>Prebióticos/Probióticos</b>		
<b>Fructooligosacáridos</b>	Achicoria, cebolla	Podría mejorar la salud gastrointestinal
<b>Lactobacilos</b>	Yogurt	Podría mejorar la salud gastrointestinal
<b>Fitoestrógenos</b>		
<b>Isoflavonas</b>	Alimentos con soya	Podrían reducir los síntomas de la menopausia

**Cuadro 1. Principales componentes funcionales**

Fuente: Hasler, 2000

En México es un tema importante la alimentación, pues desgraciadamente se encuentra en una posición desconcertante de desnutrición siendo el quinto factor de riesgo en las causas de muerte a nivel mundial y de la mano con Estados Unidos tienen el mayor índice de obesidad mundial. Finalmente, el término de alimentos funcionales en México se utiliza familiarmente entre la comunidad científica pues a la fecha no hay leyes que reglamenten específicamente el uso de estos alimentos

## **2.2. Guanábana**

La guanábana, *Annona muricata* L. pertenece a la familia *Annonaceae* y es originaria de América, posiblemente de las Antillas (Hoyos, 1994). Su etimología procede del arawak *wanabán* (Tierra Americana, 1999), *Annona* del nombre taíno *anona*, y *muricata* del latín, en el que significa erizado, por el aspecto espinoso de la cáscara.

Su importancia económica abarca el árbol y el fruto, los cuales se proyectan en las industrias de perfumería, farmacología y alimentos, por lo que también se aprovechan las hojas y semillas.

En Venezuela la pulpa de guanábana se consume fresca o se procesa y comercializa congelada (Vit *et al.*, 2002). Las hojas y las semillas tienen usos en medicina tradicional por su capacidad antitumoral, parasiticida y antidiarreica (Bories *et al.*, 1991; Santos Pimenta *et al.*, 2003).

El fruto de guanábana (*Annona muricata* L.) es apreciado en el mercado nacional e internacional, pero su comercialización está limitada por su corta vida de anaquel. El fruto alcanza su madurez de consumo a los cinco días después de ser cosechado en madurez fisiológica, cuando se almacena a 25 °C y de ocho a nueve días a 13 ± 2 °C. Se ha reportado hasta un 60 % de pérdidas poscosecha debido a la naturaleza perecedera y a la fragilidad a daños físicos de este fruto. Por lo anterior, la exportación de guanábana se debe realizar el día de la cosecha y el transporte debe ser vía aérea a 13 °C, lo cual resulta costoso (Vidal y Nieto,

1997). La demanda internacional de guanábana se ha incrementado, principalmente por los Estados Unidos (SIAP–SAGARPA, 2008); por lo que es importante la investigación de tecnologías que puedan extender la vida de anaquel y el manejo poscosecha de la guanábana.

Recientemente, las propiedades anticancerígenas de la guanábana *Annona muricata* (Arroyo *et al.*, 2005) aumentan el interés esta fruta, muy apreciada ya por sus atributos sensoriales en numerosas preparaciones tradicionales, desde el batido de fruta, jugos, helados y conservas (Hoyos, 1994; Scannone, 2005).

La distribución se encuentra en las tierras bajas del trópico por los estados de Chiapas, Guerrero, Jalisco, Querétaro, Tabasco, Veracruz, Yucatán y Nayarit. Según su fenología esta fruta florece de octubre a enero y fructifica de diciembre a abril (Species Plantarum, 1753.).

### **2.3. Chía**

La chía (*Salvia hispánica L*), pertenece a la familia *Labiatae*, donde se encuentran plantas aromáticas como la menta, el tomillo, el romero y el orégano. La semilla de chía empezó a ser usada para la alimentación humana en la época precolombina, alrededor del año 3500 a.C. y toma importancia por ser uno de los cultivos básicos en el centro de México y América central entre los años 1500 y 900 a.C . El uso de la semilla y sus subproductos se remonta a la época de los Mayas y los Aztecas, quienes empleaban la semilla como alimento, medicina, ofrenda a los dioses y materia prima para producir un aceite que era empleado como base en pinturas decorativas y ungüentos cosméticos. Fue a finales del siglo pasado que el interés por la chía resurgió, por considerarla buena fuente de Omega-3, fibra alimentaria, proteína y antioxidantes (Ayerza & Coates, 2006)

En medio acuoso, la semilla queda envuelta en un polisacárido mucilaginoso copioso, el cual es excelente para la digestión que, junto con el grano en sí mismo forma un alimento nutritivo (Hentry *et al.*, 1990).

Los ácidos grasos insaturados presentes en la chía versan sobre tres principalmente: ácido  $\alpha$ -linolénico (C18:3n-3), ácido linoleico (C18:2n-6) y ácido erúcico (C18:1n-9), siendo el  $\alpha$ -linolénico el de mayor abundancia en la semilla de chía, lo que representa una importancia nutricional destacable porque éste participa como precursor de otros ácidos grasos esenciales y además da origen a ciertas prostaglandinas, Leucotrienos y Tromboxano con actividad antiinflamatoria, anticoagulante y antiagregante (PGE3, PGI3, TXA4 Y LTB5) (Rodríguez *et al.*, 2003).

En las últimas décadas, el interés de las investigaciones se han centrado principalmente en el alto contenido de los ácidos grasos poli-insaturados (PUFA's, por sus siglas en inglés) de 14 átomos de carbono cadena larga, entre los cuales se destaca los ácidos grasos: el Omega-3, que se encuentra en pescados azules y se caracterizan por tener los ácidos grasos de cadenas más largas como EPA y DHA, mientras que en las fuentes vegetales se encuentra como ALA, y el Omega-6, ambos ácidos grasos son de gran importancia por ser considerados esenciales para el ser humano, ya que el organismo humano no posee las enzimas necesarias para sintetizarlos y se hace necesario obtenerlos a partir de la dieta, además de tener una alta demanda en la salud, por intervenir en la prevención de enfermedades cardiovasculares, siendo anti-trombótico, anti-inflamatorio, anti-rítmico, favoreciendo la estabilización plaquetaria, entre otros (Galli Marangoni, 2006).

Las fuentes de alimentos más ricas en Omega-3 son los aceites de pescado, en especial los de aguas frías, en estos animales se pueden encontrar en forma de EPA y DHA debido al consumo de los pescados del fitoplancton. Mientras que una de las mejores fuentes vegetales reportadas es el aceite de chía (<60%), seguido por la linaza (57%) por la colza, la soya, el germen de trigo y las nueces (entre 7 y 13%) (Travieso, 2010).

La chía contiene aproximadamente un 20% de proteína, nivel que resulta más alto que el que contiene algunos cereales tradicionales como el trigo (13,7%), el maíz (9,4%), el arroz (6,5%), la avena (16,9%) y la cebada (12,5%). Las semillas de

chía además de tener un alto contenido de proteínas se han hecho interesantes comparada con otras semilla como el trigo, la avena, la cebada y el centeno por no tener gluten (Ayerza & Coates, 2006). Encontrando así la importancia de incluir a nuestra dieta esta semilla por su relación en alimentación-nutrición.

#### **2.4. Aceite esencial de limón**

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces. Son mezclas complejas de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos. Además son compuestos olorosos, muy solubles en alcohol y poco solubles en agua. Para la extracción de estos compuestos se pueden utilizar distintos solventes (acetato, etanol, y cloruro de etileno).

En la norma ISO 855 (1981), el aceite esencial de limón se define como extraído sin calentar, mediante el tratamiento mecánico, del pericarpio fresco del fruto de *Citrus limon* (Linneo) N.L. Burmann. Sus características están íntimamente relacionadas con su composición química.

Posiblemente el efecto que más condiciona las propiedades bacteriostáticas/bactericidas de los subproductos como el aceite esencial, sea la propia composición de los mismos. En este sentido, son muchos los estudios que destacan la capacidad antimicrobiana de los compuestos terpénicos y flavonoides presentes en frutas cítricas (Espina *et al*, 2011; Viuda-Martos *et al*, 2008; Burt, 2004). Cabe señalar que los aceites esenciales de los cítricos (naranja, limón) son inhibidores del desarrollo de *Aspergillus flavus* eliminando la producción de aflatoxina. El cuadro 2 muestra la composición mayoritaria de aceites esenciales como el de limón utilizado en es el desarrollo de la preparación del puré a base de guanábana y chía

Compuestos	Porcentajes (%)		
	Limón	Mandarina	Naranja
<b>Mirceno</b>	0.84	0.73	0.92
<b>Limoneno</b>	59.10	74.38	85.50
<b>γ-Terpineno</b>	9.66	--	--
<b>Carvona</b>	0.06	1.87	0.65

**Cuadro 2. Composición química mayoritaria de aceites esenciales**

Fuente: (Adams, 2001).

Son diversos los estudios que profundizan en el valor funcional de los compuestos fotoquímicos presentes en diversos vegetales. En este sentido, los subproductos agroindustriales son también fuente de compuestos bioactivos de gran importancia para la dieta humana. Este es el caso de las frutas cítricas, ricas en fibra, vitaminas y minerales, carotenoides y los flavonoides (Iguar *et al*, 2013; Trípoli *et al*, 2007). Los estudios han demostrado una significativa reducción del riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas, por ejemplo el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes y Alzheimer asociada al consumo de frutas y vegetales (Ladaniya, 2008).

## **2.5. Agentes antimicrobianos naturales**

El principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma, apariencia y mayor comodidad. Es por esto el deseo de la sociedad moderna de consumir alimentos frescos, por lo que ha incrementado la popularidad de los alimentos “mínimamente o parcialmente procesados”.

Este tipo de alimentos siguen los pasos mínimos de preparación, tratando de cambiar lo menos posible las cualidades de “alimento fresco” en la medida que sea posible, pero al mismo tiempo haciéndolo un alimento seguro y con una vida de anaquel suficiente para su transporte hasta el consumidor (Alzamora, 1997). Otras tendencias del mercado de alimentos se muestran en el Cuadro 3.

<b>TENDENCIAS ACTUALES</b>	<b>CARACTERISTICAS</b>
<b>Convenientes y de alta calidad</b>	Fáciles de almacenar con vida útil satisfactoria
<b>De procesos menos severos</b>	Calentamiento menos intenso y daño mínimo por congelación
<b>Con menos aditivos artificiales</b>	Uso antimicrobiano naturales, timol, carvacrol, eugenol, etc.
<b>Más frescos</b>	Uso de congelación
<b>Más saludables</b>	Con menos grasas saturadas y menos cantidades de azúcares.

**Cuadro 3. Tendencias de los consumidores que tienen impacto directo en la tecnología y conservación de alimentos.**

Fuente: Welti, 1977

La mayoría de estas nuevas tendencias tienen implicaciones microbiológicas importantes dado que los cambios que tienen que realizarse conducen a que los factores de conservación sean aplicados de manera menos severa o en menor concentración. Por lo tanto la estabilidad y la seguridad de estos alimentos podrían verse disminuida en términos de vida útil de anaquel y en la producción de alimentos con mayor riesgo para la salud y cada vez más dependientes de una acertada formulación, procesamiento, distribución y almacenamiento (Gould, 1996).

## **2.6. Clasificación de los edulcorantes no calóricos**

Los edulcorantes no calóricos, en especial los naturales, constituyen hoy una de las áreas más dinámicas dentro del campo de los aditivos alimentarios, dada la

gran expansión que ha experimentado en estos últimos años el mercado de los alimentos bajos en calorías o para diabéticos. La clasificación de los edulcorantes puede estar dada por su aporte calórico o por su origen (químico o natural).

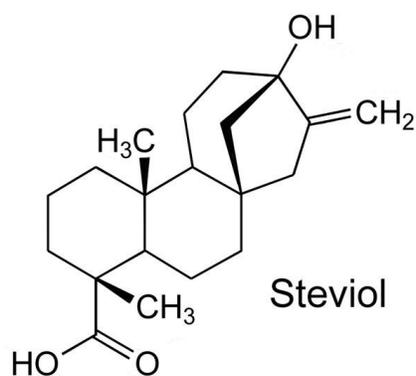
Para que un edulcorante natural o artificial sea utilizable por la industria alimentaria, tiene que cumplir con ciertos requisitos que no sólo se refieren a la inocuidad, entre ellos tenemos: que su sabor dulce sea percibido inmediatamente; que tenga la capacidad de degradarse rápidamente; debe ser lo más parecido posible al azúcar común en cuanto al sabor; que su aporte calórico sea sensiblemente más bajo al del azúcar común. Otra de las características importantes es que debe ser lo suficientemente estable para mantener sus cualidades al ser combinado con otros alimentos, así como al ser procesado debe mantener su termo estabilidad (Alonso, 2010).

- **Esteviósido (STEVIA)**

La Stevia rebaudiana Bertoni es una especie sudamericana oriunda del Paraguay, sur de Brasil y noreste de Argentina, es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia *asteraceae*. En las citadas regiones se cultiva comercialmente, aconteciendo lo mismo en Japón y China. Se la conoce mundialmente como yerba dulce o 'ka-á-he-é' en su denominación vernácula. El esteviósido fue identificado por los franceses Bridel y Lavieille en 1931.

La stevia en particular es un aditivo alimentario bajo en calorías o podría llamarse así el fármaco potencial adecuado para los diabéticos (Yong-Heng *et al.*, 2014).

Los compuestos responsables del dulzor de la Stevia rebaudiana son los glucósidos de esteviol aislados e identificados como esteviósido, esteviolbiósido, rebaudiósido A, B, C, D, E y F y dulcósido, son los responsables del sabor dulce de la planta, estos principios aislados son hasta 300 veces más dulces que la sacarosa (Osorio,2007).



**Figura 1. Estructura química de la Stevia**

Fuente: Biociencyta (2014). Steviol. [Figura] recuperado de <https://biociencyta.wordpress.com/2014/03/18/69/>.

Los glucósidos de esteviol pasan por el cuerpo sin producir ningún tipo de acumulación o impacto calórico significativos. Éstos no se digieren y pasan a través del tubo digestivo alto completamente intactos. Las bacterias intestinales en el colon hidrolizan los glicósidos de esteviol en esteviol al cortar sus unidades de glucosa. Luego, el esteviol es absorbido por la vena porta y, principalmente, es metabolizado por el hígado a glucorónido de esteviol, y, finalmente, es eliminado a través de la orina (Geuns *et al.*, 2007).

Tanto el rebaudiósido como el esteviósido son degradados por la flora intestinal de las ratas siendo completamente absorbidos. Los estudios de toxicidad tanto en animales como en humanos revelan que el producto es muy seguro. Asimismo, los esteviósidos presentan efecto hipoglucemiante suave y mejoran la curva de tolerancia a la glucosa en ayunas.

Los análisis en laboratorio demostraron que la Stevia es extraordinariamente rica en hierro, magnesio y cobalto (Ibnu *et al.*, 2014 y Barba *et al.*, 2014); no contiene cafeína y posee efectos antioxidantes con la presencia de antocianinas en 3-glucosidos (Carbonell-Capella *et al.*, 2013).

Los estudios realizados en seres humanos demostraron que las dosis diarias de glicósidos de esteviol de hasta 1000 mg/día por persona al día fueron bien toleradas por personas con niveles de metabolización de glucosa normales y por

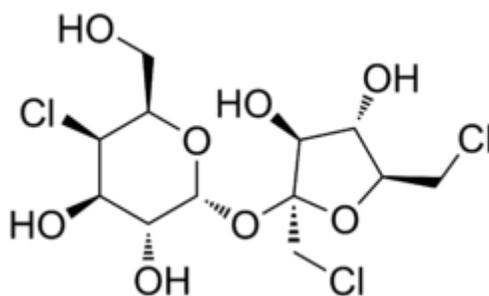
personas que padecen diabetes mellitus tipo 2. Esta dosis equivale a 16,6 mg/kg de peso corporal por día para una persona de 60 kg (lo que corresponde a, aproximadamente, 330 mg de equivalentes de esteviol por persona al día o a 5,5 mg de equivalentes de esteviol/kg de peso corporal por día) (Maki *et al.*, 2008).

El consumo de stevia es importante para la gente que desea perder peso, no solo porque ayuda a disminuir la ingesta de calorías, sino porque reduce los antojos y la necesidad de estar comiendo dulces.

- **Sucralosa (SPLENDIA)**

Otros edulcorantes sintéticos son la 'sucralosa' (se obtiene por clorinación de la sacarosa), descubierto en 1976, aprobado por la FDA en 1988 para su uso en 15 categorías de bebidas y de alimentos diferentes, sin embargo dichas categorías en el año de 1999 fueron ampliadas y la FDA aprobó su uso como edulcorante de uso general (Gil, 2010).

Es fabricado a partir de la sacarosa, químicamente se conoce como 4-cloro-4-desoxi-alfa-D-galactopiranosido de 1,6-dicloro-1,6-didesoxi-beta-D-fructoforanosilo y su fórmula molecular es  $C_{12}H_{19}Cl_3O_8$ .



**Figura 2. Estructura química de la Sucralosa**

Fuente: Calito, M (2015). Estructura Química de la Sucralosa. [Figura] recuperado de <https://yoyladiabetes.wordpress.com/2015/10/26/azucar-dietetica-sucralosa/>.

Los niveles de consumo diario de estos productos son expresados mediante el valor de IDA (Ingesta Diaria Admisible) que representa la cantidad de sustancia

que puede ser consumida todos los días durante toda la vida de una persona sin producir daño a la salud. La misma se expresa en mg/kg de peso corporal/día. Esta IDA es estipulada por los organismos internacionales regulatorios sobre alimentos, estableciendo por ejemplo para la sacarina un IDA de 0-5 mg/kg/día (Cuadro 4.)

<b>Edulcorante</b>	<b>FAO</b>	<b>EFSA</b>
Acesulfame de K+	0-15	0-9
Ciclamato de Na/Ca	0-11	0-7
Aspartame	0-40	0-40
Sacarina de Na/Ca	0-5	0-5
Sucralosa	0-15	0-15
<b>EFSA: European Food Safety Authority</b>		
<b>FAO: Food &amp; Agriculture Organization</b>		

**Cuadro 4. Ingesta diaria admisible (mg/kg/día)**

Fuente: Alonso, 2010.

La sucralosa es conocida con el código universal E-955 y es comercializada mediante el nombre de Splenda (Mora, 2011).

Como características principales de la sucralosa se menciona las siguientes:

- ✓ La sucralosa es 600 veces más dulce que la sacarosa (González, 2010).
- ✓ No se absorbe bien en el organismo, ya que el organismo no la descompone ni tampoco la utiliza como una fuente de energía, razón por la cual la sucralosa no aporta calorías (González, 2010).
- ✓ La sucralosa ingerida se elimina mayoritariamente por medio de las heces sin sufrir modificación alguna, y el pequeño porcentaje ingerida que no fue eliminado por medio de las heces, se elimina por medio de la orina, a excepción de las minoritarias cantidades de metabolitos que se eliminan transcurridas 24 hrs a partir de su consumo (González, 2010).

Como ya se mencionó anteriormente la excreción de la sucralosa es mediante las heces en mayor cantidad que la excreción en la orina. La sucralosa no se absorbe en un 85% y la misma se excreta intacta mediante las heces. (Rodero & Azoubel, 2009). Sin embargo, otros estudios se refieren a una alteración a nivel del metabolismo por medio del hígado cuando la sucralosa es consumida en grandes dosis (González, 2010).

En la actualidad parte de la población mundial, presenta problemas con enfermedades como el sobrepeso, la diabetes, hipertensión, obesidad, etc., por lo que ha generado la preocupación en un cambio de estilo de vida y de una dieta equilibrada, presentándose para dicha población la opción de consumir productos que contengan edulcorantes, siendo uno de estos la sucralosa. Siendo necesario nuevos estudios para dar una total seguridad de su consumo en los seres humanos (Rodero & Azoubel, 2009).

### **2.7. Puré**

Es el producto sin fermentar, pero fermentable, obtenido mediante procedimientos idóneos, por ejemplo tamizando, triturando o desmenuzando la parte comestible de la fruta entera o pelada sin eliminar el jugo. La fruta deberá estar en buen estado, debidamente madura y fresca, o conservada por procedimientos físicos o por tratamientos aplicados de conformidad con las disposiciones pertinentes de la autoridad competente, (NORMA Oficial Mexicana NOM-173-SCFI-2009).

### **2.8. Evaluación sensorial**

El Análisis Sensorial o evaluación sensorial, es una ciencia relativamente nueva, a pesar de que se presume su existencia desde los comienzos de la humanidad, cuando el hombre y los animales elegían sus alimentos, buscando una alimentación agradable y estable. Brillât-Savarin, gastrónomo francés y autor de la Fisiología del gusto, fue el punta pie a principios del siglo pasado del análisis sensorial, pero los primeros estudios científicos se han desarrollado en Estados Unidos hace unos cincuenta años.

Esta ciencia permite obtener datos objetivos y cuantificables de las características de un producto evaluadas a través de los sentidos. Para obtener un sistema completo de calidad, además de los ensayos físico-químicos y microbiológicos absolutamente necesarios, el análisis sensorial engloba y enlaza todos los eslabones de la cadena de calidad, siendo una herramienta más, que de forma objetiva, determina el perfil del producto. Revisando el origen etimológico de sensorial, se sabe que la palabra sensorial deriva del latín *sensus*, que quiere decir sentido.

### **Definición**

Se define a la evaluación sensorial como el análisis de alimentos u otros materiales por medio de los sentidos (Anzaldúa - Morales, 1994). También se define como la ciencia relacionada con la evaluación de los atributos organolépticos mediante los sentidos (ISO/FDIS 5492:2007). El Instituto de Tecnólogos de Alimentos de EE.UU. (IFT) se refiere a la evaluación sensorial como la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto y oído. Cabe señalar que tras la diferencia de palabras utilizadas para definir el análisis sensorial, todas concuerdan en que si es una evaluación a través de los sentidos.

Las pruebas sensoriales son realizadas por personas entrenadas que utilizan sus cinco sentidos: vista, olfato, gusto, tacto y oído, evaluando y definiendo características del alimento analizado.

### **Atributos sensoriales**

En la evaluación sensorial de los alimentos, cada sentido resulta ser el instrumento que proporciona una información valiosa y específica acerca de los mismos, por lo tanto es realmente importante que lo realicen personas entrenadas. Las propiedades sensoriales son los atributos de los alimentos que se detectan por medio de los sentidos y son, por tanto, la apariencia, el olor, el aroma, el gusto y las propiedades quinestésicas o texturales (Anzaldúa-Morales, 1994).

- **Apariencia**

Representa todos los atributos visibles de un alimento, se puede afirmar que constituye un elemento importante en la selección de un alimento. La primera impresión que se recibe siempre es la visual que cumple el rol de factor de decisión al momento de la compra. De la combinación de las propiedades ópticas, la forma física y el modo de presentación surge la imagen del producto que se quiere describir con el objeto de asignarle identidad y calidad (Hutchings, 1977).

- **Olor**

Es la percepción por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas por los alimentos (Anzaldúa-Morales, 1994). Una peculiaridad del olor es la intensidad o potencia de éste. Además la relación entre el olor y el tiempo es muy importante, ya que el olor es una propiedad sensorial que presenta dos atributos contradictorios entre sí, como ser la persistencia, o sea, que aún después de haberse retirado la sustancia olorosa, la persona continúa percibiendo el olor. La otra característica, tiene más bien que ver con la mente y es que las personas se acostumbran a los olores después de un cierto tiempo. Esto puede impedir la percepción de otros atributos (Silva Boavida, 2001).

- **Gusto**

El gusto se detecta en la cavidad oral, específicamente en la lengua, donde se perciben los cinco gustos básicos: Dulce, Salado, Ácido, Amargo y Umami. El sabor está directamente relacionado con los sentidos del gusto y el olor y es de gran importancia en la evaluación sensorial de los alimentos.

Entonces, el sabor consiste en la percepción de las sustancias olorosas o aromáticas de un alimento después de haberse puesto éste en la boca. Dichas sustancias se disuelven en la mucosa del paladar y la faringe, y llegan a los centros sensores del olfato a través de las trompas de Eustaquio (Anzaldúa-Morales, 1994). Los componentes volátiles son percibidos por la nariz, cuando los alimentos están en la boca, por vía retronasal determinan el aroma.

- **Textura**

Esta propiedad o atributo de los alimentos se define como la propiedad sensorial de los alimentos que es detectada por los sentidos del tacto, la vista y el oído y que se manifiesta cuando el alimento sufre una deformación (Anzaldúa-Morales, 1994). La textura, al ser evaluada sensorialmente, debe ser considerada en diferentes etapas, ya que, se manifiestan diferentes propiedades de textura en diferentes momentos (Bourne, 1982).

### ***Tipo de jueces***

Existen diferentes tipos de jueces, también se conocidos como panelistas o evaluadores.

**Juez experto:** es aquel que posee una gran experiencia en probar un tipo de alimento, posee una gran sensibilidad para determinar diferencias entre muestras, distinguir y evaluar las características del alimento (Ackerman, 1990).

**Juez entrenado:** Es una persona que posee bastante habilidad para la detección de alguna propiedad sensorial o algún sabor o textura particular. Esta persona ha recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial y sabe exactamente lo que se desea medir en una prueba de evaluación sensorial (Anzaldúa- Morales, 1994). Para la realización de un ensayo, no conviene que sean menos de 7 evaluadores o más de 15 (Larmond, 1977).

**Evaluador semientrenado:** Son evaluadores entrenados pero que solamente van a diferenciar entre muestras y no a medir propiedades o usar escalas (Larmond, 1977; Anzaldúa-Morales, 1994).

Las pruebas con jueces semientrenados deben efectuarse con un mínimo de 10 jueces y un máximo de 20, cuando mucho 25, con tres o cuatro repeticiones por cada juez para cada muestra (Larmond, 1973, 1977).

**Consumidor:** Son personas tomadas al azar. Deben emplearse solamente para pruebas afectivas y nunca para discriminativas o descriptivas (Anzaldúa-Morales, 1994).

Para formar un panel de evaluadores para análisis sensorial, los candidatos han de someterse a un proceso de formación que generalmente consta de cuatro etapas: preselección, selección, entrenamiento y comprobación (Ruiz Pérez-Cacho, 2000). Todos estos pasos y el posterior ensayo se llevarán a cabo bajo la dirección de un líder de panel, que entrenará, guiará y monitoreará a los panelistas, con la responsabilidad ulterior del desarrollo del propiamente dicho.

### ***Condiciones de la evaluación sensorial***

Para que los resultados de la prueba sensorial sean válidos es necesario tener en cuenta ciertos detalles a la hora de comenzar una evaluación.

- La sala de evaluación donde se realiza el análisis debe contribuir a crear una atmósfera de trabajo idónea para la evaluación sensorial (Silva, 2000). Las cabinas deben ser individuales, libre de olores y ruido molestos, con color de pared gris neutro, la iluminación general que sea uniforme y difusa. Además, el lugar debe ser cómodo, agradable. Se aconseja también, que haya una sala de preparación de muestras y lo más importante, buena disposición de los evaluadores, con compromiso por las tareas. (IRAM 20003:1995 (ISO 8589:2006)).
- Las muestras deben estar adecuadamente presentadas, codificadas con números (no menos de tres dígitos) al azar. Las mismas tienen que presentar la temperatura de evaluación adecuada y todas las muestras deben ser dispuestas al evaluador uniformemente entre sí.
- No se deben evaluar muchas muestras por sesión, para evitar la fatiga y cansancio en el evaluador.

## ***Clasificación de pruebas***

La evaluación sensorial se lleva a cabo de diferentes tipos de pruebas, las cuales dependerán del tipo de información que se desea obtener en el análisis. Actualmente existen tres tipos de pruebas: las pruebas afectivas, las de discriminación y las descriptivas (Anzaldúa – Morales, 1994).

- Pruebas afectivas son aquellas que buscan establecer el grado de aceptación de un producto a partir de la reacción del juez evaluador.
- Pruebas de discriminación son aquellas en las que se desea establecer si dos muestras son lo suficientemente diferentes para ser catalogadas como tal.
- Pruebas descriptivas intentan definir las propiedades de un alimento y medirlas de la manera más objetiva.

### **3. MATERIALES Y METODOS**

El puré de guanábana con chía fue elaborado en el laboratorio del departamento de Ciencia y Tecnología de alimentos, en donde también se realizó el análisis Físico– Químico, Microbiológico y Sensorial; para las determinaciones bromatológicas se utilizó el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento del mismo nombre de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

#### **3.1. Materiales Biológicos**

- Pulpa de guanábana
- Chía
- Agua
- Splenda
- Stevia Nutra light
- Aceite esencial de limón

#### **3.2. Materiales de laboratorio y reactivos**

- Cuchillo
- Tabla
- Guantes de Latex
- Bolsas Ziploc
- Plumón
- Pipeta
- Balanza analítica
- Balanza
- Espátula
- NutriBullet
- Vaso de precipitado
- Probeta 100 mL

## Físico- Químico

- Colorímetro Minolta CR-400
- Potenciómetro ATAGO (Bellevue, WA, USA)
- Soporte Universal
- Potenciómetro digital Hanna-H1223
- Probeta 100 mL
- Vaso de precipitado 600 mL
- Vaso de precipitado 200 mL
- Matraz Erlenmeyer 250 mL
- Matraz Erlenmeyer 125 mL
- Bureta
- Mortero
- Embudo
- Plumón.
- Agua destilada
- Fenolftaleína al 1%
- Hidróxido de sodio 0.1 N (NaOH)
- Ácido Clorhídrico (HCl)
- Reactivo Thielman

## Bromatológico

- Estufa de secado marca Robert Shaw opera entre 55-60°C.
- Estufa con horno Flamineta Marca Premiere.
- Estufa de secado Marca Thelco Modelo 27 (con circulación de aire a temperatura de 100-103°C).
- Balanza analítica marca Ohaus, modelo CS500, capacidad 5000g.
- Balanza analítica marca Ohaus, modelo: Scout Pro SP202. Capacidad máxima 200 g.
- Balanza analítica marca Explorer.
- Mufla Thermo scientific marca Thermolyne opera entre 500-600°C.
- Aparato Kjeldhal.
- Aparato Soxleth.
- Aparato de reflujo marca Labconco.
- Espectrofotómetro de absorción atómica, marca Varían, No. De serie AA-125.
- Soporte Universal
- Charolas de aluminio
- Mortero
- Desecador

- Crisoles
- Espátula
- Papel filtro
- Sifón
- Dedal de asbesto
- Matraz bola
- Matraz Erlenmeyer: 500, 250 mL
- Matraz Kjeldhal
- Tubos de ensaye
- Tela de Lino
- Bureta 100 mL
- Probeta 100 mL
- Vaso de precipitado 600 mL
- Vaso de Berzelius 600 mL
- Embudo
- Micro- pipetas
- Perlas de vidrio
- Granallas de Zinc
- Agua destilada
- Ácido Sulfúrico
- Ácido Bórico
- Hidróxido de sodio
- Hexano
- Fructosa
- Reactivo de selenio
- Reactivo de Thielmann
- Indicador Mixto
- Reactivo D.N.S

### **Microbiológico**

- Agar para métodos estándar BD Bioxon
- Agar Dextrosa y Papa BD Bioxon
- Agar de Bilis y Rojo Violeta RB Bioxon
- Peptona de Caseína
- Ácido Tartárico
- Agua Purificada
- Agua Destilada
- Autoclave
- Parrilla de agitación, Marca Talboys
- Matraz Erlenmeyer 1000 mL
- Mechero de Bunsen
- Espátula
- Alcohol
- Aluminio
- Algodón
- Cajas Petri
- Frascos
- Tubos de ensaye
- Balanza

## **Evaluación sensorial**

- Vasos desechables No. 00.
- Charolas de plástico rectangular plana con 26 cm de largo por 23 cm de ancho.
- Vaso de unigel No. 8.
- Cucharas neveras desechables.
- Popotes.
- Servilletas.
- Etiquetas No. 4
- Hojas de evaluación (formato:).
- Bolígrafos.
- Incentivos (dulces o botana)

### **3.3. Procedimientos**

Para la elaboración del puré de guanábana se realizó una formulación para 4 muestras con distintos porcentajes de edulcorantes de dos tipos (Cuadro 5). Se realizaron Análisis Físico - Químico, Bromatológico, Microbiológico y Sensorial.

#### **3.3.1 Caracterización de puré**

El puré de guanábana y chía es un producto innovador, por lo que las formulaciones con las que se trabajó son nuevas (Cuadro 5).

Para preparar 100 mL de puré en cada una de las 4 muestras por edulcorante (Splenda y Stevia) se realizó la siguiente metodología:

1. Se mezcló 0.1 mL de aceite de limón en 40 mL de agua.
2. Se agregó el edulcorante (Splenda o Stevia) en sus diferentes porcentajes para las 4 muestras de cada uno de los edulcorantes y se agito hasta quedar todo totalmente disuelto.
3. Una vez que se disolvió todos los ingredientes necesarios en agua fue agregada la pulpa y se mezcló en el Nutribullet durante 10 segundos.
4. Al tener todo mezclado y disuelto se adiciono la chía para después dejarla reposar en el refrigerador bien tapado e identificado cada una de las muestras.

		Muestra A1	Muestra A2	Muestra A3	Muestra control
		(%)	(%)	(%)	A4 (%)
<b>Pulpa de guanábana</b>		60	60	60	60
<b>Agua</b>		40	40	40	40
<b>Chía</b>		5	5	5	5
<b>Stevia</b>		0.0543	0.065	0.0757	0.065
<b>Aceite de limón</b>		0.1	0.1	0.1	0.1
		Muestra B1	Muestra B2	Muestra B3	Muestra control B4
		(%)	(%)	(%)	(%)
<b>Pulpa de guanábana</b>		60	60	60	60
<b>Agua</b>		40	40	40	40
<b>Chía</b>		5 %	5 %	5 %	5
<b>Splenda</b>		0.0543	0.065	0.0757	0.065
<b>Aceite de limón</b>		0.1	0.1	0.1	0.1

***Cuadro 5. Formulación para la preparación del puré de guanábana con chía.***

### 3.3.2 Análisis Físico Químico

Se realizaron para las diferentes muestras las determinaciones de: Colorimetría, Viscosidad, Sólidos Solubles Totales (SST), pH, % Acidez Titulable y Vitamina C; las muestras con las que se trabajaron se identificaron como se muestra en el siguiente cuadro.

STEVIA		SPLENDA	
Muestra	% Edulcorante	Muestra	% Edulcorante
A1	0.0543	B1	0.0543
A2	0.065	B2	0.065
A3	0.0757	B3	0.0757
A4	0.065	B4	0.065
Las muestras A4 y B4, son muestras control, es decir, ausencia de aceite esencial de limón.			

**Cuadro 6. Identificación de muestras.**

- *Colorimetría*

La medida del color se realizó sobre el producto y por duplicado en cada una de las muestras. Se utilizó un colorímetro Minolta CR-400. El sistema proporciona tres valores de color L (componente negro blanco) y coordenadas de cromaticidad a (componente +rojo a -verde) y b (componente +amarillo a -azul). El patrón de calibración fue una placa blanca CR-400 con coordenadas L, a° y b° de 97.05, 0.46 y 1.78, respectivamente. Se calculó el promedio para cada componente siguiendo la metodología propuesta por Maftconazad et al (2007).

- *Viscosidad*

Para medir la viscosidad se utilizó el Viscosímetro Marca Brookfield (Brookfield Engineering Labs, INC., Middlboro, MA, USA) con la aguja del número 6 puesto que fue la que aceptó las 4 muestras de puré en los dos tipos de edulcorantes.

- *Solidos Solubles Totales (SST)*

El contenido de solidos solubles totales (SST) de la muestra se evaluó por el método de AOAC (1984) empleando un refractómetro ATAGO (ATAGO, Bellevue, WA, USA) con temperatura de 22.1 °C y 22.7° para la muestras con Splenda y Stevia respectivamente. Los resultados fueron expresados en °Brix por triplicado en cada una de las muestras.

- *Determinación de pH*

Se determinó el pH con un potenciómetro digital marca Hanna modelo HI223, mediante inmersión directa del electrodo en la muestra, realizando la determinación por duplicado para cada muestra.

- *Acidez Titulable (%)*

Se obtuvo el jugo de la muestra a analizar y se filtró a través de un embudo utilizando gasas para este procedimiento, después se tomaron 10 mL de jugo y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 mL (se repitió el procedimiento 3 veces)

Se añadieron 4 gotas de fenolftaleína de 1% (a cada una de las muestras) y se agregó en una bureta un volumen conocido NaOH 0.1 N para poder titular la muestra hasta el punto de viraje (rosa) y registrar el gasto de ácido. Se realizó por duplicado con cada muestra.

➤ *Calculo*

$$\% \text{ Acido} = \frac{V * N * \text{Meq} * 100}{\text{Alicuota valorada}}$$

Dónde:

- V= volumen de NaOH gastado en mL
- N= normalidad del NaOH
- Meq= miliequivalente del ácido que se encuentra en mayor proporción de la muestra 0.064 para el ácido cítrico, 0.067 para el ácido málico y 0.075 para el ácido tartárico

- Alícuota valorada: Peso en g o volumen de la muestra en mL
- *Vitamina C*

La cantidad de vitamina C se determinó por el método 967.21 AOAC (método de titulación con 2,6 dicloroindofenol -reactivo de Thielmann-) por duplicado para cada muestra.

Se pesaron 20 g de muestra y se colocaron en un mortero más 10 mL de HCl al 2% para triturarla cuidadosamente (hasta obtener una consistencia de papilla de bebe). Se agregaron 100 mL de agua destilada para homogenizar, se filtró el contenido del mortero a través de una gasa recibiendo el filtrado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, midiendo el volumen exacto.

Se tomó 10 mL del filtrado para colocarlos en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y en una bureta se agregó un volumen conocido de reactivo Thielman, se tituló hasta la aparición de una coloración rosa que permanezca durante 30 segundos mínimo, registrando el gasto para los cálculos.

➤ Cálculo:

$$\text{Vitamina C mg/100g de} = \frac{\text{VRT} \cdot 0.088 \cdot \text{VT} \cdot 100}{\text{VA} \cdot \text{P}}$$

Dónde:

VRT= volumen gastado en mL del reactivo Thielman

0.088= miligramos de ácido ascórbico equivalentes a 1 mL de reactivo de Thielman

VT= volumen total en mL del filtrado de vitamina "C" en HCl

VA= volumen en mL de la alícuota valorada

P= peso de muestras en gramos

### 3.3.3 Análisis Bromatológico

Se realizó el análisis de materia seca parcial para las 4 muestras de cada uno de los tratamientos (Splenda y Stevia) utilizando el 100% de las muestras y para las determinaciones de MST, ceniza y proteína se efectuó por duplicado teniendo en su totalidad 16 muestras a analizar con excepción de los análisis de grasa y fibra para lo cual se trabajó solo con 14.

- *Materia seca parcial (MSP)*

Para la obtención del porcentaje de humedad, primero se calculó el contenido de materia seca parcial y lograr además de su obtención, una conservación de la materia seca para las siguientes determinaciones de las muestras.

El instrumento utilizado para el registro de los pesos de la muestra fue una balanza en donde en primer lugar se pesaron la charolas de aluminio registradas con la identificación de cada una de las muestras y posteriormente añadirlas en ellas. Después en una estufa con circulación de aire caliente se conservaron durante 24 horas a una temperatura de 60 °C y se tomó el peso final para registrar todos los datos y calcular MSP. Para la finalización de esta determinación se molió en un mortero las muestras y se almaceno en recipientes de vidrio sellados para su conservación.

- Cálculo MSP (g):

$$\text{Peso de muestra seca} - \text{Peso de charola}$$

- *Materia seca total o sólidos totales*

Mediante crisoles de porcelanas a un peso constante se realizó la determinación de materia seca total, por lo que a los crisoles de porcelana se dejaron enfriar en un desecador por 20 minutos, al término de este tiempo se pesaron en una balanza analítica y se les colocó 2 g de cada una de las muestras por duplicado.

Los crisoles de porcelana se colocaron en la estufa con una temperatura de 100-105 °C se utilizaron unas pinzas, las muestras estuvieron dentro por 24 horas, después de este tiempo se sacaron de la estufa y se colocaron nuevamente en el desecador por 20 minutos para enfriarlas, se pesaron y se registró el peso de los crisoles con muestra.

➤ Cálculos

$$\% MTS = \frac{(\text{Peso de crisol} + MS) - (\text{Peso de crisol solo})}{g \text{ de muestra}} \times 100$$

$$\% H = 100 - \% MTS$$

Dónde:

- MTS= Materia seca total
- H= Humedad
- *Cenizas totales (minerales)*

Para esta determinación se utilizó las muestras de materia seca total, estas se pre- incineraron en las parrillas eléctricas hasta dejar de expulsar humo y se traspasaron a la mufla donde se mantuvieron hasta llegar a los 600 °C por 3 horas, dejando enfriar para sacar las muestras, al término de este periodo se pasaron al desecador por 20 minutos y se pesaron los crisoles en una balanza analítica

➤ Calculo :

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{(\text{Peso de crisol} + \text{ceniza}) - (\text{Peso de crisol solo})}{g \text{ muestra}} \times 100$$

- *Proteínas método Kjeldhal*

Este método consiste en 3 partes para la determinación del contenido de nitrógeno, la primera es la digestión y posteriormente pasa a la destilación y para

finalizar se realiza la titulación de esta manera poder hacer los cálculos adecuados.

- Digestión

Se pesó 1 g de muestra en papel filtro en la balanza analítica y se colocó dentro de un matraz Kjeldhal cada una de las muestras, se añadió 3 perlas por cada matraz a los cuales se agregaron una cuchara de mezcla reactiva de selenio más 30 mL de ácido sulfúrico concentrado, finalmente las muestras en el matraz fueron llevadas y colocadas en el aparato Kjeldhal en la parte de la digestión manteniéndose ahí hasta obtener un cambio de color de uno oscuro a un verde cristalino claro (Figura 3.)



**Figura 3. Digestión en aparato Kjeldhal**

- Destilación

Una vez terminada la digestión la muestra se diluye con 300 mL de agua destilada. En un matraz Erlenmeyer de 500 mL se agrega 50 mL de ácido bórico ( $H_3BO_4$ ) al 4% y 5 gotas de indicador mixto (rojo de metilo y verde de bromocresol). Después en el matraz Kjeldhal se agregaron 110 mL de hidróxido de sodio al 45% (NaOH) más 3 granallas de zinc (sin agitar). Posteriormente se conectó a la parte destiladora en el aparato Kjeldhal hasta obtener 250 mL de amoníaco en forma líquida en un matraz Erlenmeyer del destilado de las muestras.

- Titulación

Se tituló con ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) al 0.10526315 N hasta obtener un cambio de color del obtenido en la destilación a rosa pálido y registrar el gasto del ácido para realizar los cálculos.

- Cálculo:

$$\%N = \frac{(ml \text{ gastados de } H_2SO_4 - ml \text{ blanco})(0.014)(N)}{g \text{ muestra}} \times 100$$

$$\%P = \%N * FC$$

Dónde:

- %N= Contenido de nitrógeno
  - N= Normalidad del ácido
  - %P= Contenido de proteína
  - FC= Factor de conversión de nitrógeno a proteína (6.25)
- *Grasa total o extracto etéreo método Soxhlet*

Se pesó 2 gramos de muestra seca sobre papel filtro por muestra en una balanza analítica y después colocarlas dentro de un dedal, se introdujo en un sifón. Se utilizó un matraz bola a un peso constante, dejándolo enfriar por 20 minutos en un desecador para poder pesarlo y registrar su peso.

Una vez pesado el matraz para cada una de las muestras se agregaron tres perlas de vidrio a cada uno de estos y se añadió hexano hasta la mitad del matraz y de esta forma conectarlo al refrigerante del equipo Soxhlet dejando ahí las muestra por un periodo de 8 horas (Figura 4).



**Figura 4. Equipo Soxleth**

Cuando se finalizó la extracción al evaporarse el solvente en un rotavapor, se vuelve a poner el matraz bola a peso contante en la estufa a una temperatura 100-105 °C por 12 horas y después de este periodo en un desecador dejarlos enfriar por 20 minutos y se pesan en una balanza analítica para registrar los datos y realizar los cálculos.

➤ **Calculo**

$$\%E.E = \frac{\text{Peso del matraz con grasa} - \text{peso del matraz solo}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Dónde:

- E.E= Extracto etéreo (grasa bruta)
  
- *Fibra cruda*

Se pesaron 2 gramos de cada muestra desengrasada (variaron lo pesos por la poca cantidad de muestra) y se colocaron en un vaso de Berzelius de 600 mL y se le agregaron 100 mL de ácido sulfúrico 0.255 N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), en seguida se conectó al aparato de reflujo por un tiempo de 30 minutos, a partir de cuándo empezó a hervir la muestra con una ebullición suave (Figura 5.)



**Figura 5. Aparato de reflujo en determinación de Fibra Cruda**

Al transcurrir este tiempo se filtró por medio de una tela de lino y se lavó tres veces con 100 mL de agua destilada caliente. Se retiró el residuo de la muestra de la tela al vaso de Berzelius con 100 mL de solución de hidróxido de sodio 0.313 N (NaOH) y se conectó nuevamente al parto de reflujo por otros 30 minutos, al finalizar el tiempo se sacó y filtro a través de la tela de lino realizando el mismo lavado anterior con agua destilada caliente.

Ya realizado este procedimiento, la tela se sacó del embudo, se extendió y se retiró la fibra con una espátula para depositarla en un crisol con su respectiva identificación previamente de la muestra. Este fue llevado a la estufa de secado a 100-105 °C a peso constante durante 12 horas para después dejarlos enfriar en el desecador y pesarlos, registrando los datos para realizar la pre-incineración de las muestras en las parrillas, después se metieron en la mufla por 3 horas y al término de este tiempo se dejaron enfriar en un desecador por 20 minutos y en seguida se pesaron y registraron los datos.

➤ **Calculo**

$$\%F.C = \frac{(\text{Peso del crisol con fibra seca} - \text{peso del crisol con fibra ceniza})}{g \text{ muestra}} \times 100$$

Dónde:

- %F.C= Fibra cruda
- *Extracto Libre de Nitrógeno (carbohidratos)*

El extracto libre de nitrógeno o carbohidratos solubles, no se determina por un método químico de laboratorio, sino que se calcula por diferencia. El cálculo se realizó tomando la siguiente formula, utilizando los valores porcentuales de las determinaciones pasadas.

$$\%E.L.N= 100 - (\%H + \%C + \%P + \%EE + \%FC)$$

Dónde:

- %H= Humedad
- %C=Ceniza
- %P=Proteína
- %EE= Extracto etéreo
- %FC=Fibra cruda
- *Fibra neutro detergente (FDN)*

Se agregaron 0.5 g de cada una de las muestras por duplicado en unas bolsas previamente pesadas e identificadas. Se sumaron los pesos de las bolsas más muestra y se registraron los datos. Después se llevó acabo la digestión en el aparato hasta llegar a los 121°C y se dejaron en la estufa por 48 horas volvieron a pesar las bolsas con las muestras y se registraron los datos.

- *Calorías*

Para determinar el contenido calórico de acuerdo a la proteína, grasa y carbohidratos que aporta el puré se realizó por medio de los siguientes cálculos. El total de calorías es la suma de los tres cálculos.

**Proteína**

1 g – 4 Cal

%P – x

**Grasa**

1 g – 9 Cal

%EE – x

**Carbohidratos**

1 g – 4 Cal

%ELN – x

\*El porcentaje de proteína (P), grasa (EE) y carbohidratos (ELN), dependerán de las muestras que se están determinando.

- *Azúcares reductores*

Se pesó 1 gramo de la muestras y se colocó en un matraz adicionando 20 mL de agua destilada y se agito por 20 minutos. Posteriormente se filtró la muestra, lo filtrado se depositó en tubos de ensaye y se realizó una dilución de 1:50. Con micro-pipetas se agregaron 0.5 mL de muestra filtrada y se adicionaron 0.5 mL de D.N.S., dejando las soluciones a baño a ebullición por 5 min y se dejó enfriar en agua por 2 min y se agregó 5 mL de agua destilada y se agitaron en el vortex, obteniendo una lectura de absorbancia a 540 nm.

Para la obtención de la curva (cuadro 7), se preparó una solución madre de 0.1 g de fructosa disuelto en 100 mL de agua destilada.

No. Tubo	0	1	2	3	4	5
Sol. Madre	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Agua dest.	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
D.N.S.	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

**Cuadro 7. Diluciones de la solución madre.**

Se finalizó el cálculo de los azúcares reductores con los datos obtenidos en la desviación estándar (Anexos, Figura 32) mediante la siguiente fórmula.

Cálculos:

$$AR = \frac{\text{Absorbancia} + 0.001}{0.0013}$$

Dónde:

AR: azúcares reductores

### 3.3.4 Análisis Microbiológico

Los análisis se realizaron a través de las técnicas convencionales de cultivo, en la cual se evaluó la carga microbiológica de bacterias mesofílicas aerobias, hongos y levaduras mediante el método de conteo total en placa.

- **Agar de Bilis y Rojo Violeta.** Para la preparación, se realizó una disolución del Agar de Bilis y Rojo Violeta en 900 mL de agua destilada, haciéndolo pasar sobre una parrilla de agitación, una vez completamente disuelta fue vaciado a las cajas Petri correspondientes.

Una vez solidificadas las muestras con el inóculo aplicado, se deben de invertir, posteriormente son llevadas a una estufa a 35°C por una duración de 24 horas, esto con la finalidad de dar la condiciones para que los Microorganismos empiecen a desarrollarse dentro de cada caja Petri.

- **Agua peptonada.** Se suspendieron 27 g del producto en polvo en 900 mL de agua purificada, calentado ligeramente hasta una disolución completa.
- **Agar dextrosa y papa.** Se disolvieron 32.4 g. del medio deshidratado para 900 mL de agua destilada, reposando durante 15 minutos, se calentó con una agitación frecuente y se dejó hervir durante un minuto.
- **Agar para métodos estándar** En la preparación de este medio se suspendieron 21.15 g. del polvo en 900 mL de agua purificada. Mezclando perfectamente y calentando con agitación frecuente, dejando hervir el medio durante un minuto hasta obtener una disolución completa (Figura 6).

Al término de la preparación de los medios fueron tapados con algodón y papel estroza cada matraz para evitar contaminación.



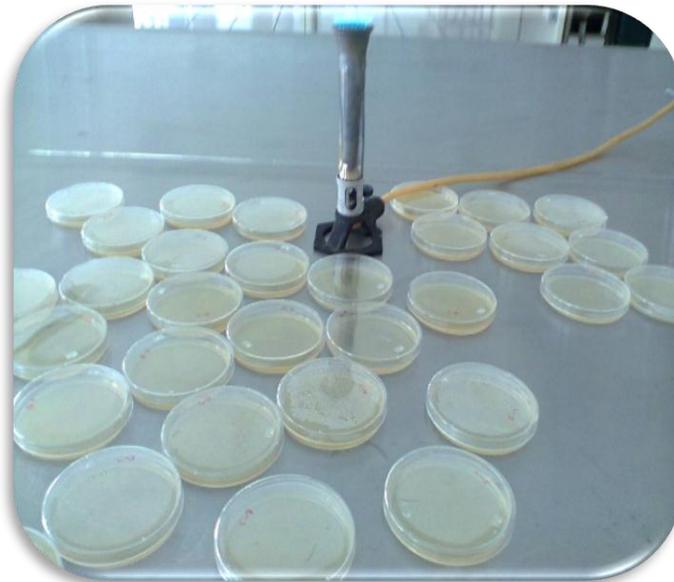
**Figura 6. Medios de cultivo PDA Y STD**

Se esterilizo a 121°C durante 15 minutos en una autoclave junto con los tubos de ensaye con agua peptonada y las puntillas (Figura 7.)



**Figura 7. Autoclave**

Posteriormente se vaciaron los medios de cultivo a las cajas Petri (Figura 8.)



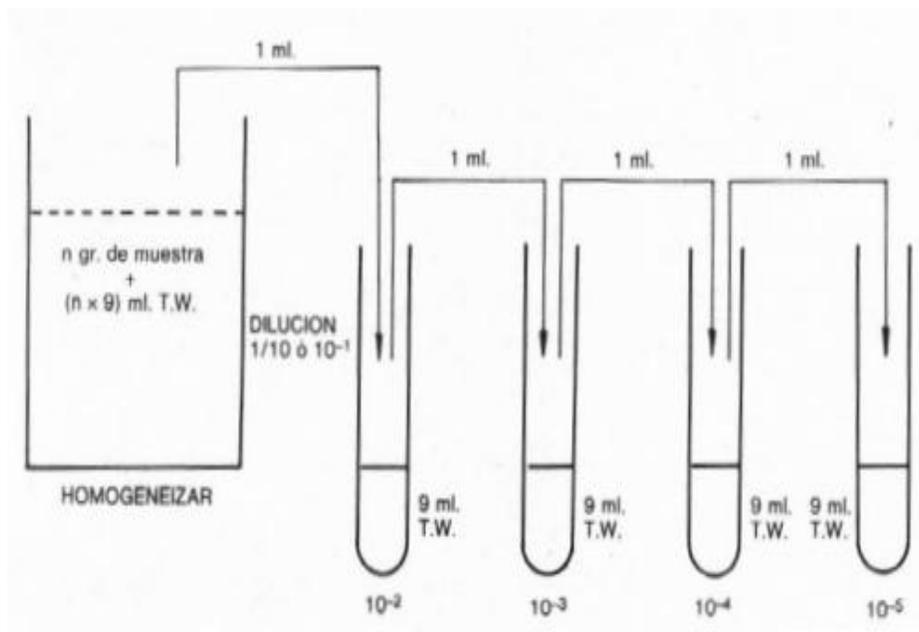
**Figura 8. Medio de cultivo en cajas Petri**

Se homogenizaron las muestras (Figura 9), 10 g de cada muestra en 90 mL de agua peptonada (dilución  $10^{-1}$ ).



**Figura 9. Frascos con las diluciones de las muestras**

Se realizaron diluciones decimales consecutivas hasta la concentración de  $10^{-5}$ .



**Figura 10. Preparación de diluciones**

Para bacterias mesofílicas aerobias se sembraron por triplicado las diluciones  $10^3$ ,  $10^4$  y  $10^5$  agar cuenta estándar, incubando a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  durante 48.



**Figura 11. Incubación de bacterias mesófilas**

Para hongos y levaduras se realizaron siembras por triplicado de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  en agar papa dextrosa; se incubaron a  $25\text{ }^\circ\text{C}$  durante 72 horas.



**Figura 12. Incubación de hongos y levaduras**

### 3.3.5 Análisis Sensorial

El análisis sensorial fue realizado como etapa final de la realización del nuevo producto funcional, valorando sus atributos principales para la aceptación del puré de guanábana y chíá como: apariencia, color, olor, untabilidad, textura y sabor. Se utilizó la metodología para pruebas afectivas por medio de una escala hedónica de 9 puntos con los que fue valorada cada una de las muestras, en esta prueba participaron 16 jueces semi-entrenados.



***Figura 13. Jueces semi-entrenados***



***Figura 14. Indicaciones de la prueba sensorial***

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en las siguientes determinaciones son comparadas con algunas otras determinaciones de un puré de aguaymanto (producto nuevo y funcional) y de productos similares comerciales como el puré de manzana Gerber. La comparación se lleva a cabo con el objetivo de tener valores de referencia de la composición que resulta de los diferentes análisis.

Los códigos que se muestran en el siguiente cuadro son los que identificaron las muestras en los diferentes análisis, de la misma forma se utilizaron para identificar los resultados.

STEVIA	SPLENDA
AC	BC
A1	B1
A2	B2
A3	B3

**Cuadro 8. Identificación de códigos (muestras).**

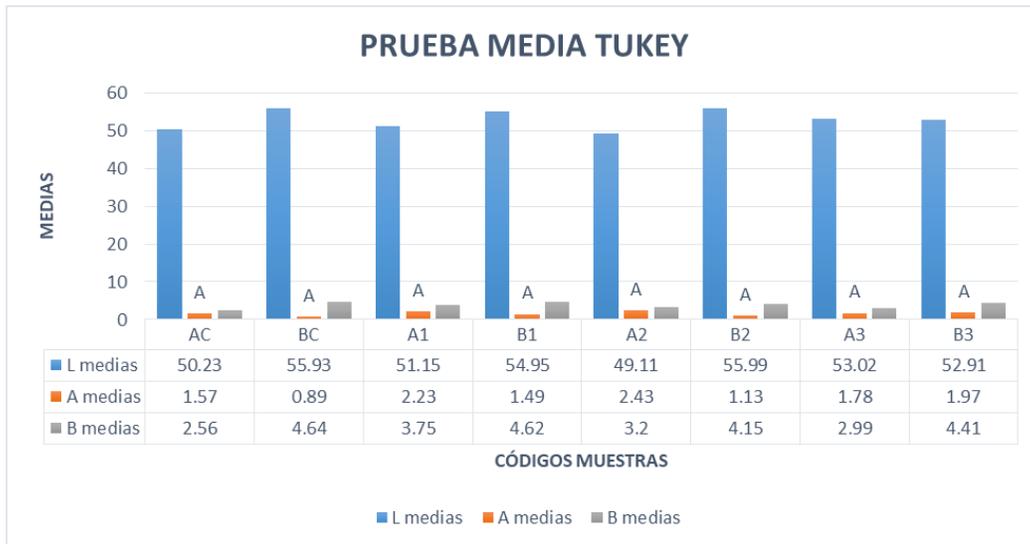
- **Análisis Físico- químico**

Para la obtención de los resultados en la primer etapa de los análisis (Físico - Químico) se utilizó el análisis de varianza (ANVA) y prueba de medias de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ) en las determinaciones de: colorimetría, viscosidad, pH, °Brix, acidez titulable y vitamina C.

##### **Colorimetría**

Los resultados del análisis en la determinación de color (Figura 15), en las muestra de STEVIA y SPLENDA fue el siguiente: A1, A2, A3, AC son iguales en los tres parámetros de color, de las misma forma B1, B2, B3, BC son iguales en los tres parámetros; Dado a que en ninguna muestra se utilizó algún colorante

artificial y que todas contienen el mismo tipo de guanábana y chía en las mismas cantidades no existe una significativa diferencia de color.



**Figura 15. Colorimetría comparación de resultados de la muestras**

## Viscosidad

La viscosidad de las diferentes muestras (Figura 16), en el caso de STEVIA son más variables los resultados a comparación de los que se muestra en los resultados de SPLENDA. AC y B1 son las muestras con mayor viscosidad.



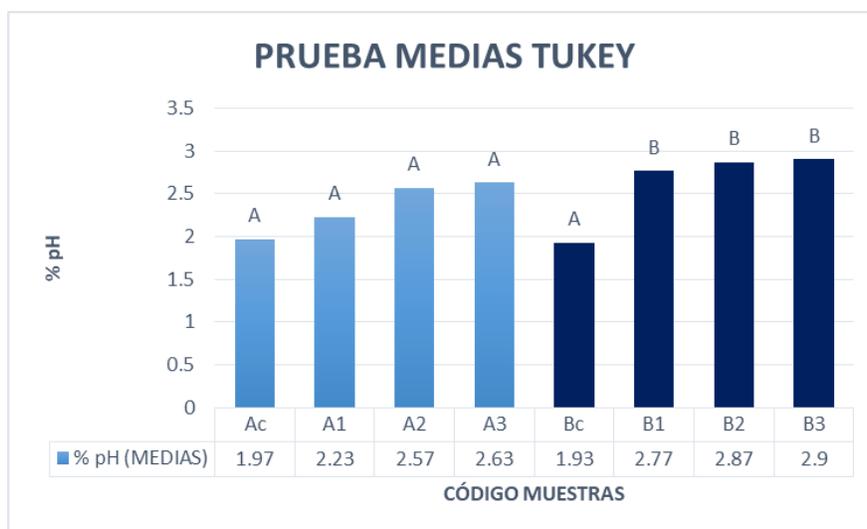
**Figura 16. Viscosidad resultados de las muestras**

## Determinación de pH

Los resultados del análisis en la determinación de pH en las muestra fue el siguiente STEVIA: Ac, A1, A2, A3, son iguales; se demuestra en el cuadro que la muestra Ac que es el control, es decir no contiene aceite esencial de limón es más ácido que las demás muestras.

En cuanto los resultados del análisis en la determinación de pH en las muestras SPLENDA fue el siguiente: Bc tiene una significativa diferencia con B1, B2, B3; se observa en el cuadro que Ac (muestra control) tiene un mayor valor acido que las otras muestras que si contienen el aceite esencial de limón.

En los dos tipos de muestras (Figura 17), se revela que conforme al contenido también de edulcorante pierde un porcentaje de acidez.



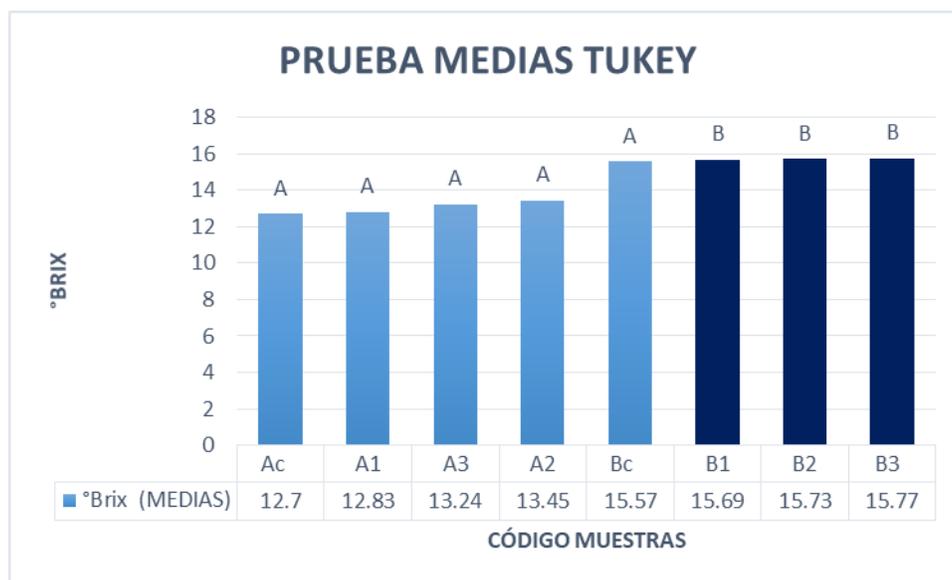
**Figura 17. Porcentaje de pH resultados de las muestras**

## Solidos solubles totales

En las muestras de STEVIA, los resultados del análisis en la determinación de °Brix fueron: Ac, A1, A3, A2 son iguales; en la siguiente imagen se observa que los °Brix en las diferentes muestras son similares, por lo que no existe una diferencia significativa, en donde Ac (muestra control) tiene el menor valor de solidos solubles totales.

Los resultados en las muestras de SPLENDA fueron los siguientes: Bc, B1, B2, B3, son iguales; Bc (muestra control) es quien tiene el menor valor de solidos solubles totales.

Las muestras de SPLENDA contienen un mayor °Brix a comparación de las muestras de STEVIA (Figura 18).

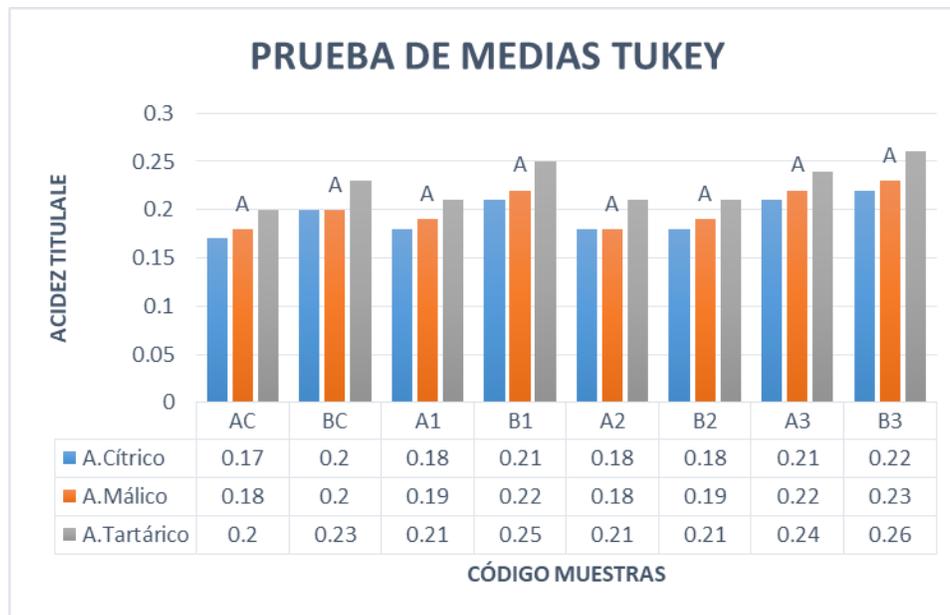


**Figura 18. °Brix comparación de resultados de las muestras**

### Acidez Titulable

Los resultados del análisis en la determinación de acidez titulable en las muestras de STEVIA fueron los siguientes: A1, A2, A3, Ac, son iguales; se puede observar (Figura 19), que el contenido de Ácido cítrico, málico y tartárico presentan un valor similar, por lo que no existe una significativa diferencia.

Y los resultados en las muestras de SPLENDA fueron los siguientes: B1, B2, B3, Bc, son iguales: todas las muestras contienen cantidades similares de Ácido cítrico, málico y tartárico, por lo tanto no existe una significativa diferencia en los resultados.

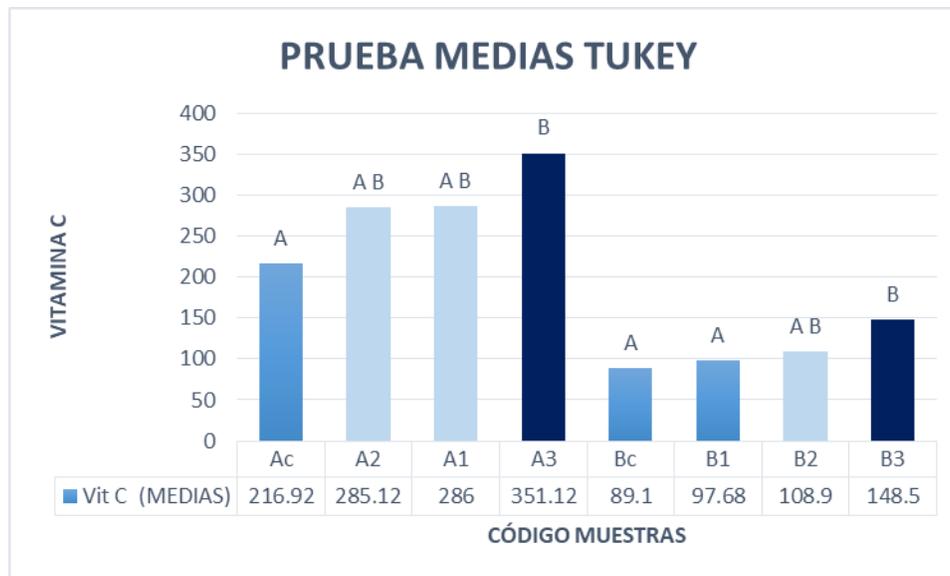


**Figura 19. Acidez Titulable comparación de resultados de las muestras**

### Vitamina C

Los resultados de las muestras de STEVIA en la determinación de Vitamina C fueron los siguientes: Ac, A2, A1 son iguales, A2, A1, A3 son iguales, existe una significativa diferencia en Ac y A3; el menor contenido de Vitamina C (ácido ascórbico) es la que carece de aceite esencial de limón.

Las muestras de SPLENDA presentaron los siguientes resultados: Bc, B1, B2 son iguales, B3 y B2 son iguales, existe una significativa diferencia de B3 con B1 y Bc; al igual que en las muestras de STEVIA el resultado con menor contenido de Vitamina C es de Bc (muestra control), sin embargo hay un mayor contenido de vitamina en las elaboradas con el primer edulcorante (Figura 20).



**Figura 20. Vitamina C comparación de resultados de las muestras**

- **Análisis Bromatológico**

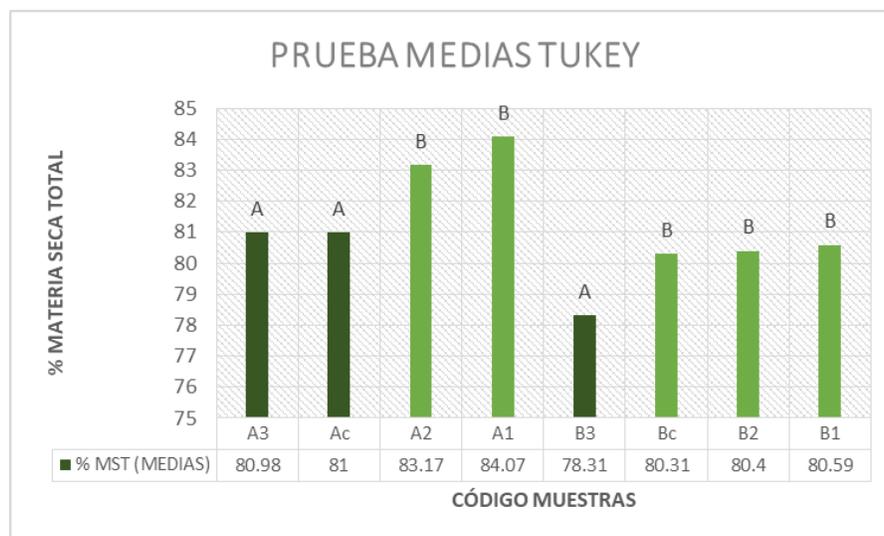
Se realizó la evaluación de los resultados mediante un análisis de varianza (ANVA) y prueba de medias de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ), determinando materia seca total (MST), humedad (H), ceniza, proteína (P), extracto etéreo o grasa total (EE), fibra cruda (FC), extracto libre de nitrógeno (ELN), fibra neutro detergente (FDN), calorías y azúcares reductores (AR). Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes imágenes.

**Materia Seca Total**

Los resultados en %MST que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA son: A3 y Ac son iguales, al igual que A2 y A1 son idénticas pero existe una diferencia significativa entre A3, Ac con A2, A1; la realización de las muestras se llevó por igual, todas contienen la misma cantidad de chía y pulpa de guanábana, sin embargo la pulpa que se empleó para realizar las formulaciones estaban en un estado de congelación, por lo que al momento de medir los 60 mL de pulpa, su estado fue el que pudo haber alterado los resultados de MST (Figura 21).

Las muestras de SPLENDA reflejaron los siguientes resultados: Bc, B2, B1 son iguales, pero existe una diferencia significativa con B3; al igual que las muestras de STEVIA estas se realizaron por igual, todas contienen la misma cantidad de chía y pulpa de guanábana, sin embargo la pulpa que se empleó para realizar las formulaciones estaban en un estado de congelación, por lo que al momento de medir los 60 mL de pulpa, su estado fue el que altero los resultados de MST.

Se logra observar en la siguiente imagen que también los resultados demuestran que hay un mayor contenido de MST en las muestras de STEVIA que en las de SPLENDA.



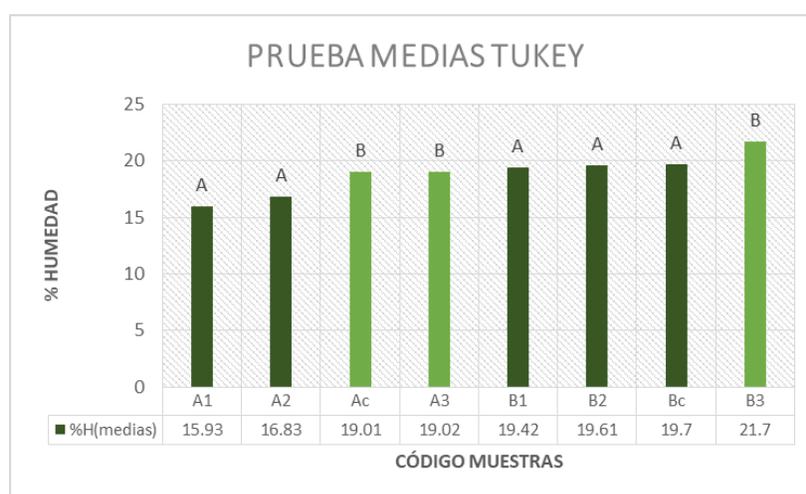
**Figura 21. Materia seca total (%) comparación de resultados de las muestras**

## Humedad

Los resultados en %H (Figura 22) que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA es: A1 y A2 son iguales como Ac y A3 también son idénticas, pero hay una lógica y significativa diferencia de estas últimas con A1 y A2; lo que se debe a la misma causa de las diferencias con el %MST, pues el agua perdida en la determinación anterior es ligada al contenido de agua de la pulpa, puesto que las semillas por lo regular contienen muy poco agua.

Para las muestras de SLENDA los resultados en %H que arrojó el análisis fueron los siguientes: B1, B2 y Bc son iguales, mientras que existe una diferencia significativa con B3; los datos van de la mano con los resultados de MST, debido al contenido de agua que se perdió, que se encuentra con mayor porcentaje en la pulpa de guanábana que en las semillas de chía.

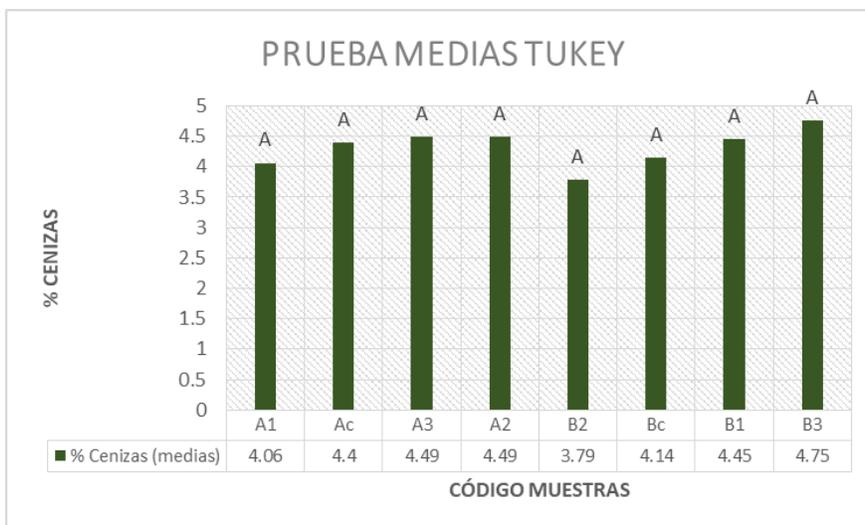
Cabe mencionar que la cantidad de agua en los alimentos es muy variable, pero para poder avalar estos resultados si se suman a los de MST nos dan casi los 100% de las muestras usadas en STEVIA y SLENDA (Figura 22).



**Figura 22. Humedad (%) comparación de resultados de las muestras**

## Ceniza

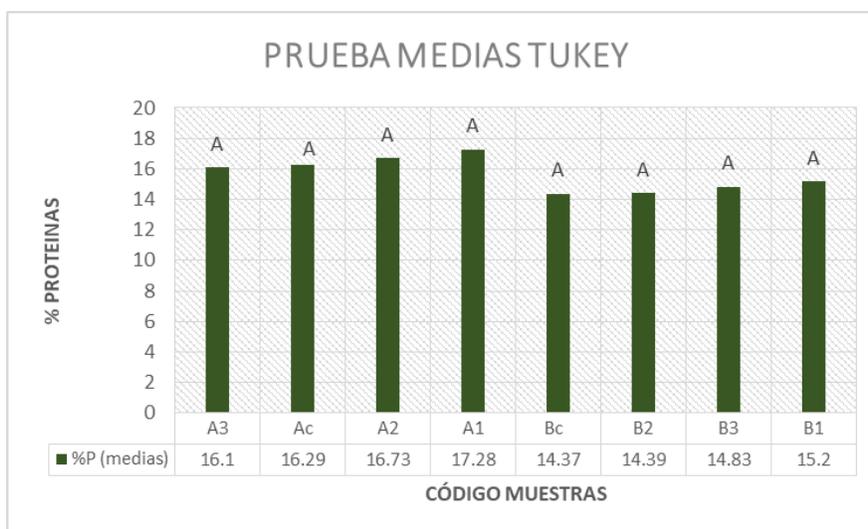
Los resultados en %Cenizas que arrojó el análisis según las muestras de STEVIA y SLENDA (Figura 23) es: A1, Ac, A3, A2 son iguales y B2, Bc, B1, B3 son iguales; en las muestras no existe alguna diferencia significativa, puesto que a todas se les agrego el mismo contenido de chía, por lo que el contenido de ceniza en el puré es similar en las diferentes muestras



**Figura 23. Ceniza (%) comparación de resultados de las muestras**

## Proteínas

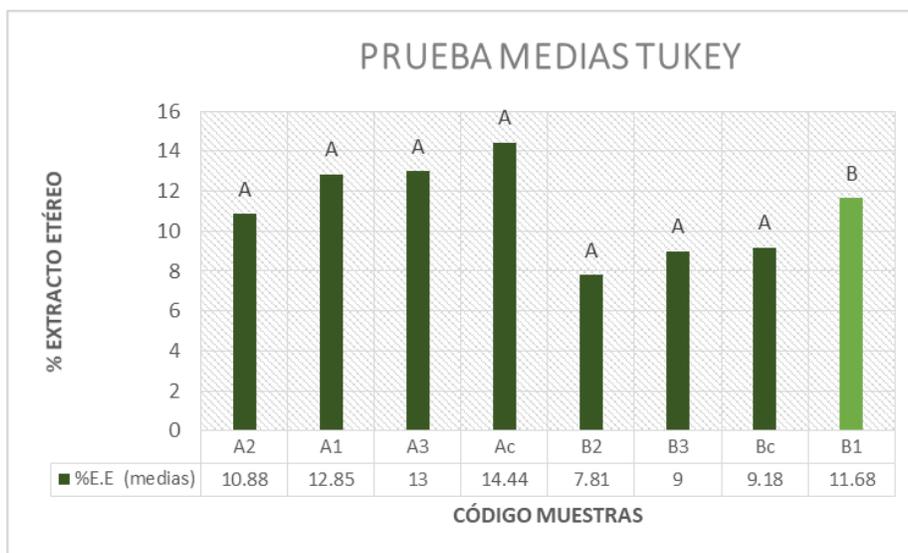
Los resultados en %P que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA y SPLENDA es: A3, Ac, A2 y A1 son iguales y Bc, B2, B3, B1 son iguales; el valor proteico que existe en el puré en mayor porcentaje es gracias a la semilla de chía, sin embargo hay un mayor contenido de proteína en las muestras de STEVIA el cual puede ser dado al origen del edulcorante (Figura 24).



**Figura 24. Proteína (%) comparación de resultados de las muestras**

## Grasa Total

Los resultados en %E.E que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA y SLENDA es: A2, A1, A3, Ac son iguales y B2, B3, Bc demuestran una significativa diferencia con B1 pero a su vez está por debajo de A1. Se observa también en la siguiente figura un mayor contenido de grasa bruta en las muestras de STEVIA.

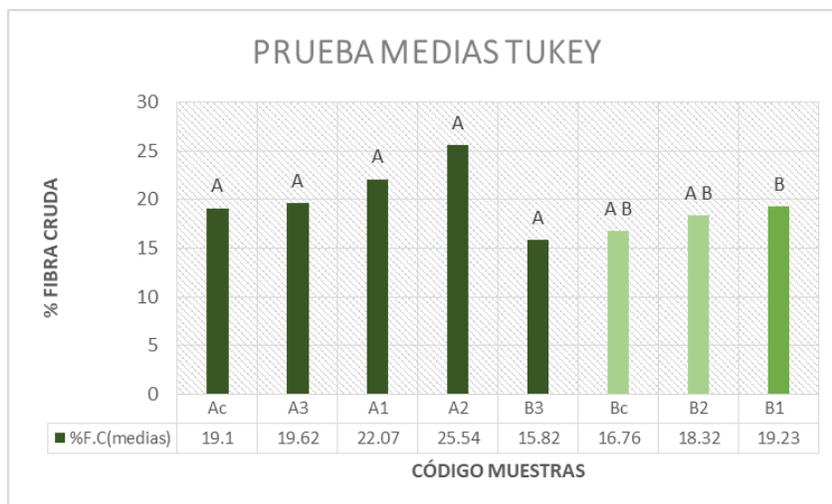


**Figura 25. Extracto etéreo (%) comparación de resultados de las muestras**

## Fibra Cruda

Los resultados en %F.C que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA y SLENDA son: Ac, A3, A1, A2, son iguales, mientras que existe una significativa diferencia entre la muestras B3 y B1.

Se observa también en la siguiente figura un mayor contenido de fibra cruda en B1 pero que esta a su vez por debajo de los valores de las muestras de Stevia.

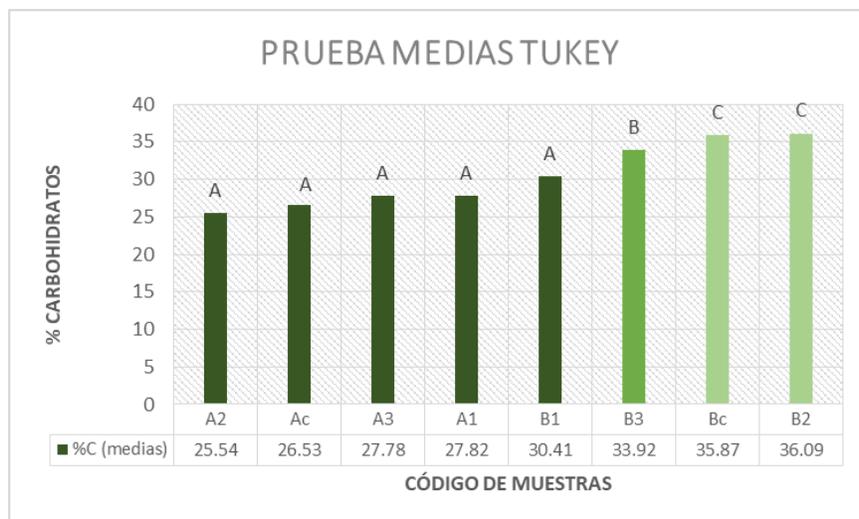


**Figura 26. Fibra cruda (%) comparación de resultados de las muestras**

### **Carbohidratos**

Los resultados en %Extracto libre de nitrógeno que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA y SLENDA son: A2, Ac, A3, A1 son iguales y B2 y Bc entre ellas son similares pero son significativamente diferentes con B1 y B3, estas a su vez también son diferentes entre ellas; La muestra B1 presenta menor porcentaje de E.L.N ya que tiene un menor contenido de edulcorante a comparación de las otras muestras y en cambio B2 y Bc contienen la misma cantidad de edulcorante.

En la siguiente figura se logra rescatar que los valores del contenido de carbohidratos son más estables en las muestras, mientras que las muestras de Splenda presentan un mayor contenido de carbohidratos a comparación de las anteriormente mencionadas.

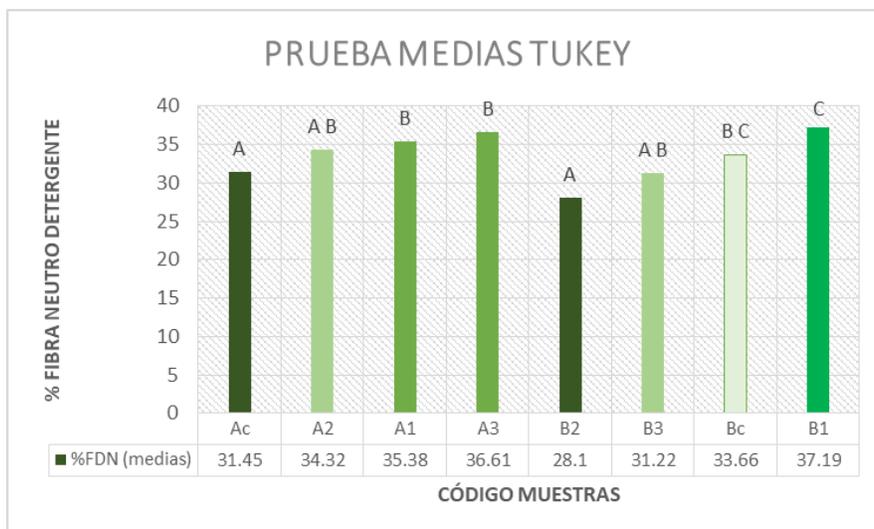


**Figura 27. Carbohidratos (%) comparación de resultados de las muestras**

### **Fibra Neutro Detergente**

Los resultados en %FDN que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA son: A2, A1, A3 son iguales y Ac tiene una significativa diferencia con A1 y A3 pero similar a A2. Los resultados de SPLENDA son: B2, B3 son iguales, de la misma forma Bc y B3 son iguales y B1, Bc también lo son, siendo significativamente diferentes B2 y B1.

Las muestras de ambos edulcorantes son variables sus resultados pero por lo general presentan un excelente contenido de fibra neutro detergente (figura 28).



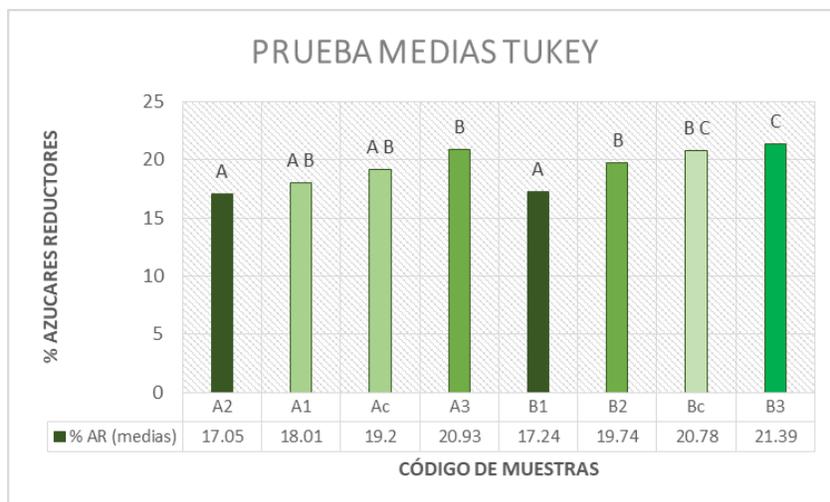
**Figura 28. Fibra neutro detergente (%) comparación de resultados de las muestras**

### **Azucares Reductores**

Los resultados en %A.R del análisis según las muestras de STEVIA son: A2 tiene una significativa diferencia respecto a A3, mientras que A1 y Ac son iguales; se observa en los resultados que A3 con el mayor contenido de edulcorante es el que presenta el más alto porcentaje de Azucares reductores.

Los resultados en %A.R que arrojo el análisis según las muestras de SPLENDA son: B2 con Bc y B1 tiene una significativa diferencia, B1 es diferente de B3 además de ser diferente a B2; El que presenta mayor contenido de Azucares reductores es B3, esta muestra es la que al igual que A3 presenta un mayor contenido de edulcorante y B1 con menor porcentaje es la muestra con el contenido más bajo de edulcorante.

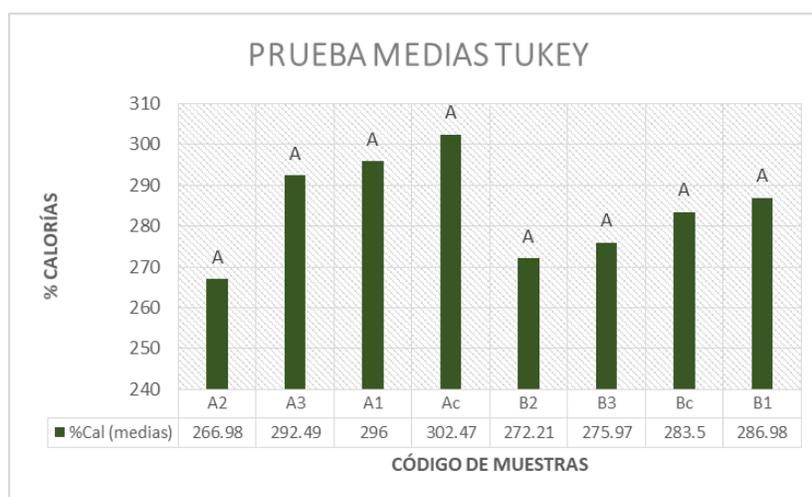
En ambas muestras los resultados de %AR son por lo general similares (Figura 29).



**Figura 29. Azucares reductores (%) comparación de resultados de las muestras**

### Calorías

Los resultados en %Cal (figura 30) que arrojo el análisis según las muestras de STEVIA y SLENDA son: A2, A3, A1, Ac son iguales y B2, B3, Bc, B1 son iguales; Las muestras en general presentan un porcentaje calórico muy parecido, por lo que las cantidades en diferentes porciones de edulcorante no difieren en gran aspecto en calorías, sin embargo en ambas determinaciones las muestras A2 Y B2 son las que menor aporte calórico contienen.



**Figura 30. Calorías (%) comparación de resultados de las muestras**

- **Análisis Microbiológico**

La pulpa que se utilizó para realizar las diferentes muestras de ambos edulcorantes se encontraba en forma congelada, fue obtenida el día 22 de octubre del 2016 y utilizada el 28 de noviembre del mismo año para elaborar el puré de guanábana con chíá

El resultado fue ausencia de los tres tipos de microorganismos:

- Bacterias mesofilicas aerobias
- Hongos
- Levaduras

- **Análisis Sensorial**

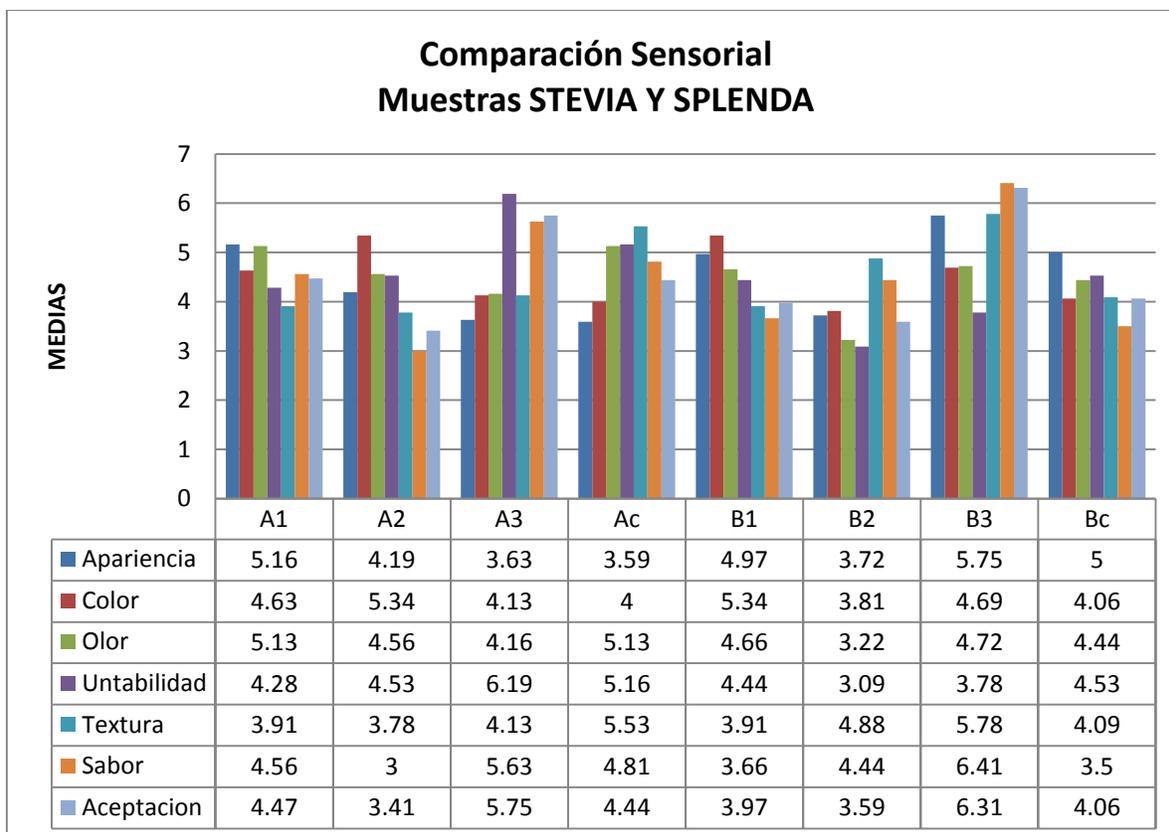
Para los resultados obtenidos de la prueba hedónica realizada en el análisis sensorial y establecer la mejor formulación comparando las muestra se STEVIA Y SPLENDA, se determinaron las diferencias estadísticamente significativas en base a la prueba de Friedman utilizando el programa de Info Stat.

Los códigos con los que se realizó la prueba con el panel de jueces fueron los que se muestran en el siguiente cuadro:

<b>Muestra</b>	<b>Código</b>
<b>A1</b>	903
<b>A2</b>	787
<b>A3</b>	421
<b>Ac</b>	654
<b>B1</b>	617
<b>B2</b>	594
<b>B3</b>	189
<b>Bc</b>	326

**Cuadro 9. Códigos de la prueba hedónica**

Los resultados que se muestran en la siguiente figura son los obtenidos de los atributos que se evaluaron en el análisis sensorial mediante la prueba Friedman en el puré de guanábana y chía.



**Figura 31. Resultados Friedman de la Evaluación Sensorial**

La muestra B3, que pertenece al grupo de SPLENDA con el mayor contenido de edulcorante, tuvo los mejores resultados en cuanto apariencia, textura, untabilidad y sabor, sin embargo en los atributos de color y olor no fueron los mejores.

Los resultados de los atributos fueron los siguientes:

- Apariencia- Es ligeramente agradable
- Color- Ni agradable, ni desagradable
- Olor- Ni agradable, ni desagradable
- Untabilidad- Ligeramente suave
- Textura- Ligeramente agradable

- Sabor- Agradable
- Aceptación- Entre ligeramente agradable y agradable

Esta elaboración de puré fue la mejor aceptada por el panel de jueces.

- **Comparación General de resultados**

Para la comparación general se tomó en cuenta los resultados arrojados por la aceptación de la mayoría de los atributos evaluados en el puré, la muestra que mejor acepto el panel de jueces fue identificada con el código 189, perteneciente a SPLENDA A3, es decir la realizada con el mayor contenido del edulcorante.

Los valores en las diferentes determinaciones de SPLENDA A3 son comparados con los de un puré de aguaymanto y el puré de manzana Gerber.

**Cuadro 10. Comparación de productos tipo puré**

Determinaciones	Puré de guanábana y chía SPLENDA A3	Puré de aguaymanto	Puré de manzana Gerber
<b>Humedad</b>	21.70	81.53	-
<b>Ceniza</b>	4.75	6.33	-
<b>Grasa</b>	9	1.41	0
<b>Proteína</b>	14.83	9.26	0
<b>Fibra cruda</b>	15.82	23.66	-
<b>FDN</b>	31.22		-
<b>Carbohidratos</b>	33.92	83	17
<b>Calorías</b>	275.97	381.7	381.7
<b>°Brix</b>	15.77	13.7	17
<b>Ácido cítrico</b>	0.22	8.61	1
<b>Ácido málico</b>	0.23	-	-
<b>Ácido tartárico</b>	0.26	-	-
<b>pH</b>	2.90	3.58	3.9

<b>Azúcares reductores</b>	21.39	26.85	51.5
<b>Viscosidad (Cps)</b>	4270	4797 cps	-
<b>Color</b>	L=52.91 a= 0.89 b= 4.15	L= 57.82 a= 15.82 b= 53.11	-
<b>Vitamina C</b>	148.50	131.1	9

De acuerdo a los resultados que se observan en este cuadro y en cuanto a la composición porcentual del puré de guanábana y chíá, es similar a los que se encuentran como referencia. El contenido proteico y de fibra, así como el compuesto bioactivo que se determinó en este trabajo, es decir la vitamina C, son valores mayores a los que se encuentran en el puré de aguaymanto y de la marca Gerber.

Las calorías y azúcares reductores de este producto nuevo, son menores a las que proporciona el puré de aguaymanto. En la cuestión del contenido graso, el puré de chíá tiene un contenido mayor, dado a que se utilizó un aceite esencial como antimicrobiano.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- **Conclusiones**

La elaboración de este puré de guanábana y chía, se realizó con la finalidad de ser parte de los productos funcionales, lo que a través de los resultados por las determinaciones realizadas en comparación de productos comerciales como es el puré de manzana marca Gerber y productos nuevos que se encuentran etiquetados como un alimento funcional es decir , el puré de aguaymanto, este producto nuevo cumple con compuestos que lo hacen ver como alimento funcional, debido a sus compuestos antioxidantes que contiene la guanábana, la fibra que otorga la chía y que junto con el aceite esencial demuestra tener compuestos bioactivos como la vitamina C.

Otro objetivo cumplido fue que su apariencia de puré fue gracias a las propiedades de la chía, utilizando el mucilago que hace al estar en contacto de acuoso.

Además de cumplir como alimento funcional, también cumple en ser un producto bajo en calorías, lo que lo hacer ser un producto atractivo para los consumidores actuales, no solo por esta razón, sino también por no contener conservadores naturales que si cumple como antimicrobiano, haciendo de su consumo un beneficio a la salud, sin miedo a perjudicarla y que por el contrario ayudara a realizar mejor las actividades funcionales de nuestro cuerpo.

- **Recomendaciones**

1. Realizar más determinaciones que ayuden a tener mayor información de sus compuestos antioxidantes y fenólicos.
2. Buscar como brindarle una mejor apariencia al producto, sin perder la línea de ser un producto funcional.

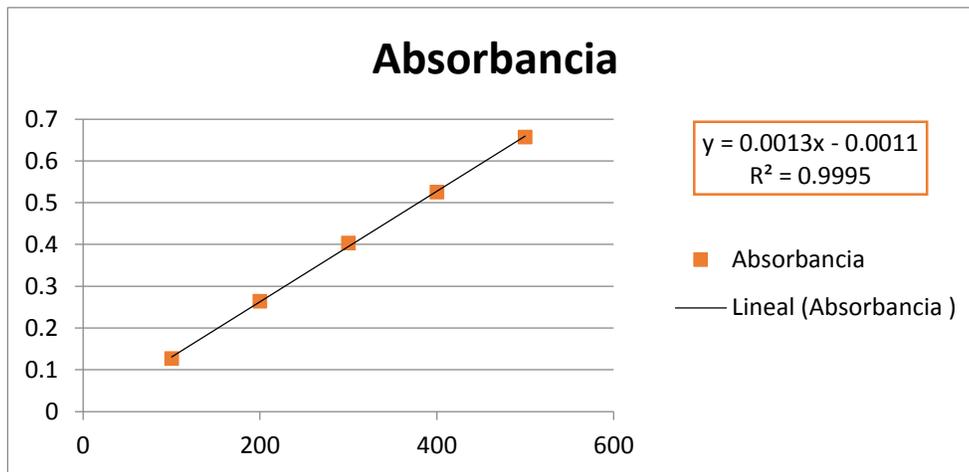
3. Desarrollar muestras con algún otro antimicrobiano natural, pues en el análisis sensorial que se realizó, a algunos jueces les quedó el resabio amargo que deja el aceite esencial de limón.
4. Realizar un análisis de prueba de anaquel al producto terminado.

## 6. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

- Albaladejo M. El aceite esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales. Universidad de Murcia. <http://www.tdx.cat/handle/10803/11059>  
[Consulta 21/enero / 2017].
- Álvarez, J. 2004. Stevia rebaudiana Bertoni. Universidad EAFIT. Departamento de Negocios Internacionales. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Medellín. 71p.
- Álvarez-Parrilla, 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas. Disponible en: [http://www.ciad.mx/dtaov/XI\\_22CYTED/images/files\\_pdf/brasil/olga.pdf](http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf)  
[Consulta 20/ enero. /2017].
- Alvidrez A. Gonzales B, Jimenez Z. "Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales". Respyn 2002. Vol 3. <http://new.medigraphic.com/cgibin/resumen.cgi?IDARTICULO=23198>  
[Consulta 22/enero / 2017]
- Anzaldúa-Morales, A. (1994). Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza: Acribia.
- Ayala-Zavala J.F., (2005). Los aceites esenciales poseen propiedades antimicrobianas, uno de los más estudiados es el aceite de ajo, aplicación en productos vegetales. Disponible en [http://www.alfa-editores.com/web/index.php?Option=com\\_content&task=view&id=713](http://www.alfa-editores.com/web/index.php?Option=com_content&task=view&id=713)  
[Consulta 20/Enero / 2017]
- Coll,I. 1992. Posibilidades de tratamiento enzimático en la recuperación industrial del aceite esencial de limón. Tesis de Licenciatura. Murcia
- Comisión del Codex Alimentarius (2009). Codex Stan 296-2009. Norma general del Codex para confituras, jaleas y mermeladas. Roma.
- Comisión del Codex Alimentarius (2005). Codex Stan 247-2005. Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. Roma.

- Intercitrus (Interprofesional Citrícola Española). 1999. Balance de Cosechas y Datos de Comercialización.
- Jaramillo-Garces, Y. (2013). La chía (salvia hispánica L.), Una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos saludables. Tesis, Corporación Universitaria Lasallista.
- Moleyar y Narasimham. 1987. Detoxification of essential oil components (Citral and menthol) by *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *J.Sci.Food Agric.* 39, 239 - 246
- Norma Oficial Mexicana NOM-173-SCFI-2009. Jugos de frutas preenvasados-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Nuñez, E. 2011. *Stevia rebaudiana* Bertoni, un sustituto del azúcar. Área Ciencia de las Plantas y Recursos Naturales Maestría en Producción Vegetal – Ciclo de Seminarios.
- Rodríguez Saucedo, Elvia Nereyda. "Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas". *Ra ximhai* 2011: 153-170.
- *Species plantarum* vol 1 (2008), Charles Linnaeus (1753). Universidad de Gante. Impensis G. C. Nauk
- Vit, Patricia; Santiago, Bertha; Pérez-Pérez, Elizabeth Mariana (2014). Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L. *Interciencia*, vol. 39, núm. 5, pp. 350-353 <http://www.redalyc.org/revista.oa?Id=339> [Consulta 18/Enero / 2017]
- Yong-Heng, Y.; Su-zhen, H.; Yu-lin, H.; Hai-yan Y.; Chun-sun, G. 2014. Base substitution mutations in uridinediphosphate-dependent glycosyltransferase 76G1 gene of *stevia rebaudiana* causes the low levels of rebaudioside. A Mutations in UGT76G1 A key gene of steviol glycosides synthesis. *Plant Physiol Biochem* 80: 220-225.

## 7. ANEXOS



**Figura 32. Desviación estándar**

- **Datos Reales de Análisis Bromatológico**

Codigo	%MST	%Humedad	%CENIZA	%PROTEINA	%GRASA	%FIBRA	%ELN	%AR	%FDN	Cal/g P	Cal/g G	Cal/g ELN	Total Cal/100
A1	83.90	16.10	3.81	17.46	13.06	21.23	28.34	18.55	35.41	69.83	117.57	113.37	300.77
A1	84.24	15.76	4.31	17.09	12.63	22.91	27.29	17.47	35.35	68.37	113.69	109.16	291.23
A2	83.31	16.69	4.50	16.77	10.59	28.50	22.95	17.62	35.33	67.07	95.34	91.80	254.21
A2	83.03	16.97	4.48	16.69	11.17	22.58	28.12	16.47	33.32	66.75	100.51	112.48	279.74
A3	81.28	18.72	4.51	15.72	13.96	18.94	28.15	21.39	36.89	62.87	125.68	112.60	301.15
A3	80.68	19.32	4.47	16.48	12.03	20.29	27.40	21.39	36.32	65.91	108.31	109.61	283.83
Ac	81.05	18.95	4.38	16.60	14.44	19.10	26.53	21.39	31.93	66.41	129.95	106.10	302.47
Ac	80.94	19.06	4.41	15.98				21.39	30.96				

**Figura 33. Datos Análisis Bromatológico STEVIA**

Codigo	%MST	%Humedad	%CENIZA	%PROTEINA	%GRASA	%FIBRA	%ELN	Azucares redu	%FDN	Cal/g Proteina	Cal/g Grasa	Cal/g ELN	Total Cal/100
B1	80.32	19.68	4.42	15.34				17.32	37.07				
B1	80.85	19.15	4.47	15.05	11.68	19.23	30.41	17.16	37.32	60.21	105.11	121.66	286.98
B2	80.47	19.53	4.28	14.22	7.64	18.45	35.88	19.47	28.60	56.87	68.79	143.52	269.18
B2	80.32	19.68	3.30	14.56	7.98	18.18	36.30	20.01	27.61	58.23	71.82	145.18	275.23
B3	78.27	21.73	4.74	14.95	8.49	16.05	34.03	21.08	31.75	59.80	76.41	136.12	272.34
B3	78.34	21.66	4.75	14.71	9.51	15.58	33.80	21.70	30.69	58.85	85.55	135.19	279.59
Bc	80.04	19.96	3.64	14.17	9.17	17.47	35.59	20.78	32.57	56.69	82.52	142.35	281.56
Bc	80.57	19.43	4.64	14.57	9.18	16.04	36.14	20.78	34.74	58.28	82.59	144.56	285.44

**Figura 34. Datos Análisis Bromatológicos SPLENDA**

- **Desarrollo del Análisis Microbiológico**



**Figura 35. Preparación de medios de cultivo**



**Figura 36. Identificación de cajas Petri**



**Figura 37. Preparación de material para siembra de muestra de cultivo**



**Figura 38. Vaciado de medios**

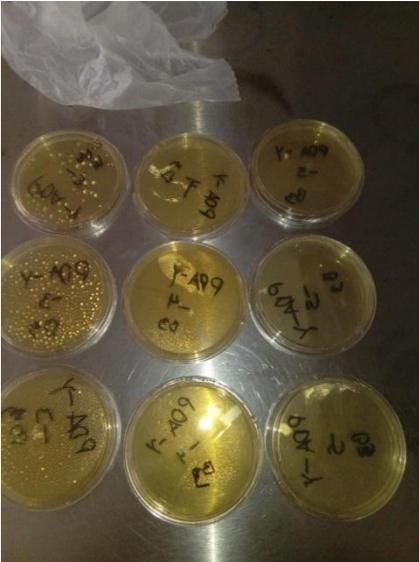


**Figura 39. Siembra de muestras diluidas en medio de cultivo**

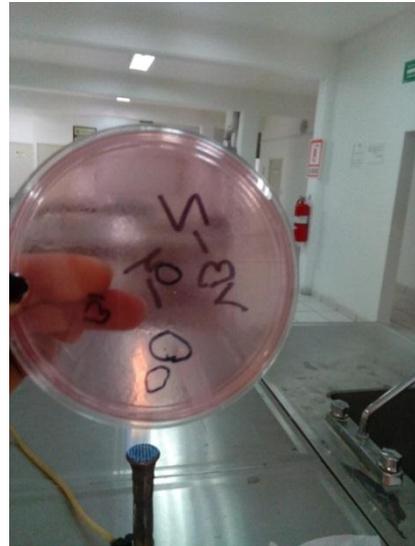


**Figura 40. Muestras en placas**

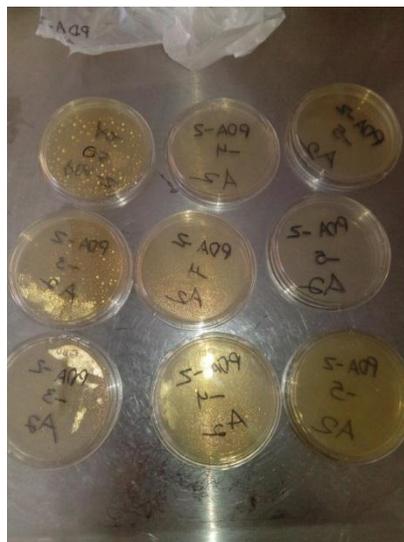
- **Análisis Microbiológico**



**Figura 41. Ausencia de colonias en Agar PDA (Dilución -3,-4,-5) STEVIA**



**Figura 42. Ausencia de colonias en Agar Bilis y Rojo Violeta**



**Figura 43. Ausencia de colonias en Agar PDA (Dilución -3, -4, -5) SPLENDA**