



[www.unicesar.edu.co](http://www.unicesar.edu.co)  
Balneario Hurtado Vía a Patilla. PBX (57) (5) 5841000 EXT. 1040  
Línea de atención al ciudadano 01 8000400380  
Valledupar Cesar Colombia

La UPC *es de todos!*

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR**  
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**PREPARACIÓN DE UNA BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTES A BASE DEL  
SUSTRATO COFFEA ARABICA (CAFÉ), ERYTHROXYLUM COCA  
(HAYO) Y STEVIA REBAUDIANA BERTONI (STEVIA)**

**DIANA ESTEFANIA RAMIREZ MARTINEZ**  
**LISETH STRAUCH GONZÁLEZ**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA Y TECNOLÓGICA**  
**INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**VALLEDUPAR - CESAR**

**2020**

**PREPARACIÓN DE UNA BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTES A BASE DEL  
SUSTRATO COFFEA ARABICA (CAFÉ), ERYTHROXYLUM COCA  
(HAYO) Y STEVIA REBAUDIANA BERTONI (STEVIA)**

**DIANA ESTEFANIA RAMIREZ MARTINEZ  
LISETH STRAUCH GONZÁLEZ**

Trabajo de grado como requisito para optar el título de Ingeniería Agroindustrial

**Director**

**Ing. OSWALDO MORALES**

**Asesor**

**Ing. RICARDO DURAN**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR  
FACULTAD DE INGENIERÍA Y TECNOLÓGICA  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
VALLEDUPAR/ CESAR**

**2020**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

**Firma del presidente del jurado**

---

**Firma del jurado**

---

**Firma del jurado**

**Valledupar, 2020**

## DEDICATORIAS

Dedico mi tesis a Dios, porque siempre cuidó de mis decisiones y de mis pasos, a mis padres, a mis hermanos y demás familiares por haberme guiado, por su apoyo incondicional, este logro se los debo a ustedes.

Dedico mi tesis a mis sobrinos, Sebastián, Matías, Isabel y Benjamín; son lo más hermoso y preciado que tengo, son mi vida entera.

**Liseth Strauch González**

Este proyecto va dedicado a Dios quien siempre nos acompaña en todo momento, a mi familia. Mis padres que con su ejemplo y apoyo incondicional me brindan más fuerzas para seguir adelante, por ultimo a mis hermanos que son mi segundo ejemplo, los que siempre tienen unas palabras de aliento que me ayuda a seguir intentándolo.

**Diana Ramírez Martínez.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios, quien me llenó de sabiduría y entendimiento, por su amor, su bondad, y por iluminar cada uno de mis pasos.

Agradezco a mi madre Lesbia González, mi padre Hugo Strauch, a mis hermanos Julibeth, Herbert, Lisbeth, quienes han sido mi apoyo en cada paso que he dado, quienes han sido mi guía, que me apoyaron en cada decisión, por la dedicación, por cada uno de los consejos que me brindaron durante mi carrera universitaria, así como también al desarrollo de mi proyecto de grado.

Agradezco a mi Comunidad Neocatecumenal, quienes siempre me apoyaron y me dieron palabras de aliento, de esperanza y de fe.

Agradezco a mis profesores, a mi director y asesor de proyecto, a mis compañeros, y a mi compañera de tesis, gracias por haberme brindado la oportunidad de recurrir a sus capacidades y conocimientos.

Por último, Gracias a la Universidad Popular del Cesar, por haberme permitido estudiar y formarme como profesional en la carrera de Ingeniería Agroindustrial.

### **Liseth Strauch González**

Agradezco a Dios por habernos dibujado un camino lleno de bendiciones, nos acompañó con paciencia y mucho entendimiento y con esfuerzo nos permitió cumplir un sueño más.

Agradezco a mis padres y hermanos que con paciencia me han apoyado sin reproche alguno.

Agradezco a mi compañera de proyecto que fue de gran ayuda, combinar nuestros conocimientos y de quien aprendí mucho.

Por ultimo pero no menos importante a mis profesores, director, asesor y jurados de proyecto por brindarnos sus conocimientos y su tiempo, el cual fue vital para la elaboración de nuestro trabajo por el gran apoyo que obtuvimos por parte de ellos.

**Diana Ramírez Martínez.**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
RESUMEN	12
1. TITULO	13
2. INTRODUCCIÓN	14
3. JUSTIFICACIÓN.	16
4. MARCO TEÓRICO.	18
4.1. ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE.	18
4.2. BASES TEÓRICAS.	20
4.2.1. Alimentos ricos en antioxidantes	20
4.2.1.1. Definición de los antioxidantes	20
4.2.1.2. Procesado de alimentos funcionales.	21
4.2.1.3. Ejemplo de antioxidantes.	21
4.2.2 ¿Qué alternativa existe a la medición del contenido individual de cada uno de los componentes antioxidantes de un alimento	22
4.2.2.1. El Café.	22
4.2.2.2 Hoyo ( <i>Erythroxylum Coca</i> )	23
4.2.2.3 Stevia	24
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
6. OBJETIVOS	29
6.1. OBJETIVO GENERAL	29
6.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS	29
7. METODOLOGIA	30
7.1. Enfoque de investigación	30
7.2. Muestra/población	30
7.3. Diseño experimental.	30
7.4. Recolección de la información	31
7.4.1. Fuentes primarias	31
7.4.2. Fuentes secundarias	31
7.4.3. Instrumentos.	31
7.5. Procedimientos.	32

• Caracterización de las materias primas: Hayo ( <i>Erythroxylum Coca</i> ) café( <i>Coffea Arabica</i> ) y Stevia ( <i>Stevia Rebaudiana Bertoni</i> )	32
7.5.1.2. Recolección de la materia prima.	32
7.5.1.3. Selección y clasificación de la materia prima.	33
7.5.1.3 Trituración de la Materia Prima.	33
7.5.1.4. Obtención del extracto	33
7.5.1.5. Elaboración de las bebidas.	34
7.5.1.6. Evaluación del grado de aceptación sensorial.	35
7.5.1.7. Análisis fisicoquímico de la bebida.	36
7.5.1.8. Determinación de la capacidad antioxidante.	36
7.5.2. Determinación de fenoles totales.	37
7.5.2.1. Análisis microbiológico.	37
7.5.2.2. Recuentos de bacterias mesofias, método placa vertida	38
7.5.2.3 Determinacion de coliformes totales y fecales por método placas 3MPetri-Film	39
7.5.2.4. Recuento de hongos y levaduras, método por placa vertida	40
7.5.2.5 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
8. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.	42
8.1. Prueba de evaluación sensorial.	42
8.2. Caracterización fisicoquímica de las bebidas seleccionadas.	44
8.2.1. Determinación de los Solidos Solubles Totales.	44
8.2.2. Determinación del pH y acidez titulable.	45
8.3. Contenido proteico.	46
8.4. Evaluación microbiológica de las bebidas.	48
8.5. de la bebida seleccionada.	49
9. CONCLUSIONES.	56
10. RECOMENDACIONES	58
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	59
12. ANEXO.	67
12.1 Anexo 1: Formato de encuesta para el análisis sensorial.	67
12.2 Anexo 2: Informe de resultados microbiológicos de la bebida	69
12.3 Anexo 3: Informe de resultados del Contenido proteico de la bebida	70

## TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Formulación de las 5 bebidas iniciales antes de las pruebas sensoriales y fisicoquímicas.	35
<b>Tabla 2.</b> Análisis fisicoquímico de la bebida.	36
<b>Tabla 3.</b> Requerimientos microbiológicos, de bebidas de consumo directos como las de café. Tomado de INVIMA.	38
<b>Tabla 4.</b> Características morfológicas de <i>Staphylococcus aureus</i> sobre agar selectivo.	41
<b>Tabla 5.</b> Resultados Solidos Solubles Totales en la formulación de la bebida número 5	44
<b>Tabla 6.</b> Resultados pH en la formulación de la bebida número 5.	45
<b>Tabla 7.</b> Resultados de la acidez en la formulación de la bebida número 5.	46
<b>Tabla 8.</b> Resultados del contenido proteico en la formulación de la bebida número 5.	47
<b>Tabla 9.</b> Resultados pruebas microbiológicas en la formulación de la bebida número 5.	48
<b>Tabla 10.</b> Resultados Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales	50
<b>Tabla 11.</b> Análisis de Varianza para Fenoles Totales	51
<b>Tabla 12.</b> Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante.	52

## FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Esquema de obtención de extracto de Hayo.	34
<b>Figura 2.</b> Diagrama triangular de medición de aceptabilidad de las formulaciones de las bebidas.	42
<b>Figura 3.</b> Grafica de efectos principales para Fenoles Totales	53
<b>Figura 4.</b> Grafica de Efectos Principales para Capacidad Antioxidante.	54
<b>Figura 5.</b> Diagrama de Pareto Estandarizado para Capacidad Antioxidante	55
<b>Figura 6.</b> Diagrama de Pareto estandarizado para Fenoles Totales.	55

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>ANEXO 1.</b> Formato de encuesta para el análisis sensorial.	67
<b>ANEXO 2.</b> Informe de resultados microbiológicos de la bebida	69
<b>ANEXO 3.</b> Informe de resultados del Contenido proteico de la bebida	70

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue elaborar una bebida rica en antioxidantes a base del sustrato *coffea arabica* (Café), *erythroxylum coca* (Hayo) y *stevia rebaudiana bertonii* (Stevia) utilizando el método de extracción por lixiviación (sólido - líquido). Una vez obtenidos los extractos se procedió a estandarizar la bebida a base de los sustratos de café, hayo, stevia. Las concentraciones de las materias primas principales fueron realizadas deliberadamente, que constó de 5 muestras a diferentes concentraciones de la bebida de café, hayo y stevia. La selección de la bebida fue realizada basada en la prueba sensorial por los consumidores. Los resultados arrojados mostraron que la mezcla que obtuvo mayor aceptación organoléptica fue la formulación número 5 (correspondiente a 9% de café tostado molido, 0,5% de stevia y 0,5 de Hayo) presentó mayores puntajes respecto a las tres características fundamentales analizadas (aroma, sabor y apariencia). Durante la experimentación se manipularon dos (2) variables de respuesta (fenoles totales y capacidad antioxidante). Al cual se le empleó un diseño de mezclas con tres (3) factores experimentales (porcentaje de café, hayo y stevia en la muestra), los datos obtenidos fueron evaluados con el software Statgraphics y se le realizaron pruebas físico-químicas, análisis microbiológicos a la bebida seleccionada. Los datos anteriores permiten tener en cuenta al hayo como una alternativa para la producción de bebidas y otros productos dirigidos al consumo humano.

**Palabras claves:** café, hayo, antioxidante, stevia y extracción (lixiviación).

## 1. TITULO

**PREPARACIÓN DE UNA BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTES A BASE DEL  
SISTRATO COFFEA ARABICA (CAFÉ), ERYTHROXYLUM COCA  
(HAYO) Y STEVIA REBAUDIANA BERTONI (STEVIA)**

## 2. INTRODUCCIÓN

La nutrición, es uno de los temas más abordados en las últimas décadas, son innumerables las investigaciones que constantemente se hacen sobre ella (Londoño & Gil-Garzón, 2012). Las prioridades ya no se encuentran centradas en las carencias nutricionales; el interés actual radica en la relación entre alimentación y enfermedades, (Londoño & Gil-Garzón, 2012), considerando los efectos de la nutrición sobre desarrollo de inmunidad, crecimiento, composición corporal, y otros beneficios que se busca mediante la alimentación saludable. Los consumidores, conscientes de sus necesidades buscan en el mercado aquellos productos que contribuyan a su salud y bienestar, en especial aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad.

El Ministerio de la Protección Social Colombiano, determina que, para que un alimento pueda denominarse rico en antioxidantes necesita articularse a la Resolución 333 del 2011 que es “por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado nutricional que deben cumplir los alimentos envasados para consumo humano (Fuentes-berrio & Acevedo-correa, 2015).

El café, es un estimulante del sistema nervioso central y contiene propiedades diuréticas, antioxidantes, aumenta la efectividad de los analgésicos, entre otros beneficios (C. K. Gomez, 2017). El café es abundante en compuestos fenólicos como ácido clorogénico, cafeico y melanoidinas, de efectos antioxidantes o antimutagénicos demostrados in vitro. (Maydata, 2002). El hayo, es mezcla de hojas de coca y sales calizas o de sosa y a veces ceniza, en infusión como estimulante nervioso y de ellas se extrae la cocaína. (C. K. Gomez, 2017).

Las hojas de la stevia, conocida como *hierba dulce*, se pueden utilizar para endulzar batidos, helados, postres y dulces de todo tipo como bizcochos, magdalenas, tartas, de igual modo en infusiones de té, café, etc. (C. K. Gomez, 2017). El estudio y las investigaciones encaminadas al desarrollo de nuevos productos que aprovechen los recursos existentes en la zona, permitirán satisfacer las demandas de un mercado que cada vez se vuelve más exigente a la hora de elegir lo que va a consumir. La presente investigación, combinó lo tradicional con técnicas para la elaboración, conservación y desarrollo de nuevos productos. La importancia de investigar y tener una nueva alternativa para el consumo del Café, el hayo, y la stevia, radica en aprovechar de mejor manera todos los beneficios y aportes nutricionales que nos brindan estas plantas. Además de manera indirecta se contribuye y fomenta a la producción e industrialización del café, el hayo, y la stevia, en nuestra región.

### 3. JUSTIFICACIÓN.

La elaboración de esta bebida a base de café, hayo y stevia, permitirá, una alternativa de alimentación y nutrición de forma sana, natural y nutritiva; con la combinación de la tecnología, técnicas y las formas tradicionales para su preparación, buscando un cambio importante del uso de este producto en el mercado, en cuanto a su sabor y presentación, en una bebida que sea apetecible y visualmente más agradable; cumpliendo con las características propias de un alimento tipo funcional. Según el reporte del Mintel Global New Products Databas (C. Gomez, 2018); el mayor número de lanzamientos de bebidas a nivel mundial corresponde a las bebidas de tipo funcional, estos lanzamientos han alcanzado 1.975 nuevos productos en el mercado.

Las bebidas funcionales han ampliado su portafolio a las gaseosas, energéticas, isotónicas, con o sin gas, aguas saborizadas, néctares, mixes frutales, con vegetales, maltas, en polvo para diluir, etc. El mercado mundial de las bebidas es liderado por Estados Unidos de América, seguido por Francia; dentro de las compañías líderes se encuentra Unilever, Coca cola, Nestlé, demostrando que este tipo de bebidas crece dos veces más rápido que las que no ofrecen beneficios extras, para la salud de las personas (Cristancho, 2015). Por lo anterior, el propósito de esta investigación fue desarrollar un producto que aproveche un importante recurso agrícola, propio del resguardo Kankuamo con características de calidad, que satisfaga las necesidades del consumidor y que contribuyan al fomento de la seguridad alimentaria de nuestro país.

Cabe resaltar respecto a los dos ítems presentados anteriormente se hacen realmente necesarios tener en cuenta en la seguridad alimentaria de hoy en día. De acuerdo con (Angarita, 2018), directora del Centro Colombiano de Nutrición Integral, es importante satisfacer las necesidades del consumidor y aportar a la seguridad alimentaria nacional mediante contribuciones eficientes y eficaces, con

esto se lograra que estos productos hagan parte de una dieta diaria, aunque no reemplacen en su totalidad la comida que debe ser ingerida diariamente por las personas dentro de una dieta balanceada.

La importancia de la innovación en estos productos radica en que los consumidores alcancen a satisfacer sus necesidades, cabe destacar que en Colombia, el mercado de bebidas funcionales está compuesto por jóvenes y adultos de estratos altos principalmente (C. Gomez, 2018). Si hablamos de la importancia en la investigación e innovación en este tipo de bebidas se ha observado un gran auge al respecto, por ejemplo, en el año pasado solo en Europa se realizaron investigaciones en esta área con inversiones de alrededor de 190 millones de euros (Rojas, 2019). Estos factores han impulsado la realización de dicha investigación.

## 4. MARCO TEÓRICO.

### 4.1. ANTECEDENTES Y ESTADO DEL ARTE.

(Lacayo, 2013) Formuló una bebida en polvo a base de café y leche incorporando materias primas que potencializan el sabor dulce y lácteo y que permitieron la disminución de azúcar y grasas en comparación con la bebida existente en el mercado. Como resultado se obtuvo una formulación a base de café y leche con menor contenido de azúcar y grasa que la disponible en el mercado utilizando materias primas que potencializaron el sabor dulce y lácteo, utilizando materias primas que potencializaron el sabor dulce y lácteo de un 15% y 17% respecto a la bebida del mercado con nivel de confianza del 95% en términos de aroma sabor y cuerpo. Aunque se desarrolló una bebida en polvo por medio de una formulación a base de café y leche con menor contenido de azúcar y grasa que la disponible en el mercado, las materias primas utilizadas para alcanzar este objetivo fueron sintéticas y artificiales (maltodextrina, goma xantan, caseinato de sodio, lecitina y sal), no se tuvo en cuenta la utilización de insumos y materias de origen natural, casi que si se planteó en la investigación presente.

Del mismo modo, (Agudelo & Cardona, 2016) desarrollaron una bebida utilizando como materia prima aloe vera, variedad (*Barbadensis Miller*), cultivada bajo los principios de producción limpia en el municipio de Santa Rosa de Cabal en Risaralda, Colombia. Se obtuvo una Néctar de Piña con Aloe Vera y Chía según resolución 003929 del 2 de octubre de 2013 del Ministerio de Salud y Protección Social, con características nutricionales muy buenas y de alto valor biológico. En dicha investigación se obtuvo una aceptación sensorial con un nivel de confianza del 95%. En este caso, los investigadores determinaron que la vida útil de la bebida era de un aproximado de 24 días, este tiempo es catalogado como no permitido para bebidas de este tipo, el cual, debe ser mayor conforme a la Norma Técnica Colombiana NTC 659. Lo que se podría aconsejar en este caso es la utilización de conservantes naturales.

Por su parte, (Contreras & Purisaca, 2018) elaboraron una bebida funcional a partir de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y piña (*Ananas comosus*) endulzada con stevia. Esta investigación detalla a cabalidad el conjunto de procedimientos estipulados para establecer las proporciones de las bebidas elaboradas conforme a las características de los productos, además de ello, se establecen dos variables independientes, proporciones de las materias primas y la dilución de agua en la mezcla. De igual modo, se establecieron las variables dependientes requeridas para obtener la aceptación de la mejor bebida (color, sabor, olor y aceptabilidad en general). Los investigadores encontraron la misma dificultad respecto a los investigadores pasados, respecto al poco tiempo en la vida útil de la bebida (15 días aproximadamente), en este caso, se recomienda lo mismo (aplicar conservantes naturales con el objetivo de prolongar la vida útil de la bebida).

(Salamanca et al., 2010) elaboraron un cremo lácteo a base de borjój (*Borojia patinoi cuatrec*) usando miel como edulcorante y soportados en una base láctea de yogurt. Se evaluaron 16 formulaciones distintas en el rango 5-15% de pulpa; 70-82.5 de yogurt y 5 a 15%p/p de miel de la “Sabana de Bogotá” con propiedades sensoriales diferentes que contribuyen al proceso de la optimización. La estabilidad del producto a 8°C es de 30 días y no revela flora microbiana, logrando un producto. A pesar que el sabor de la bebida fue relevante por medio de los encuestados (8 en una escala de 10), otros factores no ayudaron a su aceptación en general (aroma, color y consistencia), estos obtuvieron un resultado medio por debajo de 4 (tomando como base una escala de 0 a 10). Respecto a esto, se podría sugerir la agregación de algún tipo de colorante y emulsificante natural a la bebida que resulten atractivo al consumidor con el objetivo de mejorar estas cualidades.

## **4.2. BASES TEÓRICAS**

### **4.2.1. Alimentos ricos en antioxidantes.**

#### **4.2.1.1. Definición de los antioxidantes.**

Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo humano utiliza para eliminar radicales libres, que son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y producen la oxidación de sus diferentes partes, alteraciones en el ADN y cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo. Lo anterior se debe a que el oxígeno, aunque es imprescindible para la vida, es también un elemento químico muy reactivo. El propio cuerpo genera radicales libres para su propio uso (control de musculatura, eliminación de bacterias, regulación de la actividad de los órganos, etc.), pero al mismo tiempo genera antioxidantes para eliminar los radicales libres sobrantes, ya que estas sustancias son muy agresivas (Ramires et al., 2012).

En Colombia, en la actualidad no existe una normatividad específica que regularice, alimentos funcionales, pero existen marcos legales con respecto a la regularización de alimentos con propiedades adicionales para la salud. La Resolución 288 de 2008. (Ministerio de la Protección Social). “Establece condiciones para la declaración de propiedades nutricionales o de salud de los alimentos; esta constituye un avance para la comunicación al consumidor sobre los beneficios de los alimentos funcionales”. Y, la Resolución 333 de febrero de 2011 (Fuentes et al., 2015)

“La presente resolución tiene por objeto establecer el reglamento técnico a través del cual se señalan las condiciones y requisitos que debe cumplir el rotulado o etiquetado nutricional de los alimentos envasados o empacados nacionales e importados para consumo humano que se comercialicen en el territorio nacional, con el fin de proporcionar al consumidor una información nutricional lo suficientemente clara y comprensible sobre el producto, que no induzca a engaño o confusión y le permita efectuar una elección informada” (OMCE, 2011).

El Instituto de Medicina de Washington los define como aquellos alimentos que abarcan productos potencialmente saludables, incluyendo cualquier alimento modificado o ingrediente que pueda proporcionar un beneficio para la salud, además de los nutrientes tradicionales que contiene (Webb, 2007).

#### **4.2.1.2. Procesado de alimentos funcionales.**

Según (Webb, 2007) un alimento puede acabar siendo funcional si durante su procesado se le ha realizado cualquiera de estas operaciones:

- ✓ Alimentos en los cuales se reemplaza el azúcar, presente en la versión convencional del alimento, por edulcorantes artificiales que no aportan calorías, tales como la sacarina y el aspartamo.
- ✓ Los alimentos convencionales promocionados con base a sus nutrientes o a su contenido en antioxidantes, o el desarrollo de nuevas variedades en las cuales se incrementan los niveles de dichos componentes.
- ✓ Eliminación de un componente alimenticio conocido como causante o determinante de una enfermedad. Ejemplos pueden ser las proteínas alergénicas de ciertos alimentos, la eliminación de la lactosa de ciertos productos lácteos.
- ✓ Incremento en la concentración de un componente alimenticio. Esta operación de fortificación, o añadidura de un componente activo, hace que la dosis diaria del mismo se acerque a las recomendaciones de los organismos reguladores, lo que a la larga redundará en una disminución de riesgos de enfermedad.

#### **4.2.1.3. Ejemplo de antioxidantes.**

Vitamina E, vitamina C, beta caroteno, selenio y diversas sustancias químicas contenidas en alimentos de origen vegetal (fitoquímicos), como el licopeno del tomate, los polifenoles de manzanas, cebollas, té; los fitoestrógenos de la soya, los fitoesteroles del aceite de oliva virgen y extra virgen y otros contenidos en brócoli,

coliflor, ajo y diversos vegetales. El consumo de una alimentación rica en antioxidantes se asocia a la prevención del cáncer y las enfermedades cardiovasculares (FAO, 2007).

#### **4.2.2 ¿Qué alternativa existe a la medición del contenido individual de cada uno de los componentes antioxidantes de un alimento?**

Como alternativa a la medición individual, se puede cuantificar el contenido total que presenta un alimento en términos de un tipo determinado de antioxidantes. Por ejemplo, cuando la riqueza antioxidante de un alimento reside mayormente en una alta presencia de polifenoles, la medición se acota a la caracterización del contenido antioxidante bajo la forma de polifenoles totales (PFT). Si se precisa, junto a la medición de PFT es posible medir, en forma más precisa, el contenido de flavonoides totales, y aún más específica, el contenido de determinados subtipos de flavonoides, como serían las antocianidinas totales, los flavonoles totales o los flavan-3-oles totales. Mayores detalles respecto a la química y presencia de estos compuestos en los alimentos se describe en la sección “Antioxidantes en alimentos: Principales fuentes y sus contenidos” (CORFO-Chile, 2010).

##### **4.2.2.1. El Café.**

Los granos de café poseen más de 2.000 sustancias diferentes (cafeína, minerales, lípidos, trigonelinas, aminoácidos – proteínas, ácidos alifáticos, glicósidos y carbohidratos) de tal manera que el café no es «solo cafeína» (1, 3, 7-trimetilxantina), sin embargo, es el ingrediente farmacológicamente más activo. Las dimetilxantinas derivadas (teofilina y teobramina) también se encuentran en una variedad de especies de plantas. El café tiene múltiples componentes. Los granos de café crudos tienen una composición diferente entre la variedad Arábica y la Robusta. En la variedad Arábica, la cafeína comprende el 1,2% de la materia seca, 4,2% minerales, de los cuales 1,7% es potasio; 16% lípidos, 1,0% trigonelinas, 11,5% proteínas y aminoácidos, 1,4% ácidos alifáticos, 6,5% despidos (ácidos clorogénicos), 0,2% glucósidos y 58% carbohidratos. En la variedad Robusta, la cafeína comprende el 2,2% de la materia seca, 4,4% minerales, de los cuales 1,8% corresponden al potasio; 10% lípidos, 0,7% trigonelinas, 11,8% proteínas y

aminoácidos, 1,4% ácidos alifáticos, 10% ácidos clorogénicos y 59,5% glucósidos trazas y carbohidratos. El contenido de agua de los granos de café crudo comercial varía entre 8% y 12%. La composición de los granos de café se altera de forma dramática por el proceso de tostado, y pierde gran cantidad de agua (posee apenas 1% a 5%), proteínas, ácidos clorogénicos y carbohidratos (Calle-Alzar, 2011).

#### **4.2.2.2 Hayo (*Erythroxylum Coca*).**

Es un arbusto angiospermo y dicotiledóneo cuya altura puede alcanzar los 5 metros de altura. Sin embargo, se suelen cortar las guías con la finalidad de que no lleguen a medir más de 2 metros y así facilitar la recolección de las hojas. Generalmente este arbusto vive unos 40 años, aunque bajo buenas condiciones puede llegar hasta los 100 años. Su corteza es rugosa, de color pardo rojizo. Tiene unas pequeñas flores axilares de color marfil que miden, aproximadamente unos 2 centímetros de diámetro, y de un olor similar a las almendras. La semilla es una drupa de forma ovoide cuyo diámetro oscila entre 1 y 2 centímetros y de un color rojo cuando está madura. Las hojas, que son la parte más importante, normalmente están dispuestas en grupos de siete en cada tallo. Son de forma ovalada y sus dimensiones varían entre los 4 y 8 centímetros de ancho.

Son de un color verde brillante, con poco aroma y de sabor amargo y astringente, que al ser colocadas en la boca provoca una ligera sensación de adormecimiento y anestesia local. Las hojas que generalmente se recolectan son las jóvenes, cuya textura es suave. “La hoja de coca, es una droga vegetal, proviene de especies arbóreas andinas entre las que se conocen más de 200 correspondientes al género *Erythroxylum*, pero las económicamente importantes y cultivadas son tres: *Erythroxylum coca* Lam var. *Coca*, *Erythroxylum truxillense* Rugby (coca de Trujillo) y *Erythroxylum novogranatense* Hieron.” En el Perú existen básicamente dos variedades: la *Erythroxylum Coca* Lam que se cultiva en Huanuco y Cusco; y la *Erythroxylum Novogranatense* Morris, de esta variedad que se cultiva en La Libertad, se ha desarrollado otra especie denominada *E. N. Truxillense*, la cual es utilizada en la preparación de agentes saborizantes (Krawczyk, 2008).

#### 4.2.2.3 Stevia.

(Soto, 2018), la stevia proviene de las hojas de una hierba nativa de América del Sur, stevia Rebaudiana, de la misma familia de los crisantemos y de los girasoles. En las hojas se encuentran más de 11 componentes dulces llamados glucósidos de esteviol. Los más conocidos son el esteviósido y el rebaudiósido. Aunque el esteviósido es dulce, tiene un toque amargo que a muchas personas les molesta; en cambio el rebaudiósido tienen un mejor sabor, es dulce y no amarga.

La stevia cruda y menos procesada, contiene los dos tipos de glucósidos, sin embargo, la mayoría de las presentaciones de stevia solamente contienen rebaudiósido. Para obtener el extracto de stevia, y por lo tanto la dulzura de estas hojas, es necesario extraer los glucósidos de esteviol, filtrarlos y purificarlos. El extracto purificado de las hojas de stevia, es el componente que está aprobado, en la mayoría de los países, para su uso en alimentos y bebidas.

Aunque los indígenas sudamericanos guaraníes, utilizaban las hojas de stevia para endulzar sus bebidas desde hace muchos años, fue hasta 1971 cuando se empezó a utilizar de forma comercial en Japón. Hoy en día la stevia se utiliza como endulzante en casi todo el mundo. La puedes encontrar en la lista de ingredientes de los productos como extracto de hoja de stevia, glucósidos de esteviol, Rebaudiósido A, Reb. A.

Los glucósidos de esteviol pasan casi intactos a través del tracto gastrointestinal superior, incluido el estómago y el intestino delgado. Esto es lo que contribuye a que la stevia no aporte calorías, ni aumente los niveles de insulina.

Cuando llegan al colón, las bacterias intestinales hidrolizan los glucósidos de esteviol al quitarles la unidad de glucosa. El esteviol se absorbe y se metaboliza principalmente en el hígado, formando glucurónido de esteviol, antes de ser excretado en la orina. Al día de hoy, las investigaciones han demostrado que nuestro cuerpo no acumula stevia, o cualquier subproducto.

Se ha comprobado que los componentes de la planta de stevia no son reactivos y no se metabolizan en compuestos reactivos, así que los glucósidos de esteviol no

deberían de causar reacciones alérgicas cuando se consumen en los alimentos o bebidas. Además, hoy en día, no existen plantas de Stevia genéticamente modificadas.

En un estudio se demostró que, en comparación con endulzantes artificiales como la sacarosa y el aspartame, la stevia ayudaba a reducir los niveles de insulina postprandial en el cuerpo. Pero a pesar de que la mayoría de los estudios apuntan a que la stevia es un endulzante saludable, todavía no existen estudios científicos a largo plazo, como todo en la vida, es posible que consumir stevia en porciones excesivas, tenga efectos nocivos.

Stevia es entre 100 y 300 veces más dulce que el azúcar, no contiene calorías o ningún macronutriente. La stevia se ha promocionado como un endulzante ideal para aquellas personas que buscan bajar de peso y para las personas que quieren controlar su diabetes, ya que pueden reducir las calorías sin renunciar al sabor, ni afectar los niveles de glucosa o la respuesta de la insulina.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

A nivel mundial se están produciendo cambios en el consumo de alimentos buscando cada vez más alimentos sanos y naturales que aporten nutrientes, elementos esenciales y últimamente antioxidantes que se ha demostrado son beneficios para la salud humana, si se consumen en cantidades adecuadas. Los indígenas ubicados en la Sierra Nevada de Santa Marta consumen desde eras milenarias, hayo (*erythroxylum coca*), café (*coffea arabica*) y la *Stevia rebaudiana*, que hace parte de su concepto cultural y requieren estandarizarse sus contenidos nutricionales y el contenido de antioxidantes con el objetivo de estandarizar una bebida para tales fines (De Avila, 2017).

Existen moléculas no estables determinadas como radicales libres, las cuales, poseen una alta energía con electrones no apareados en sus órbitas exteriores, tendiendo a reaccionar con otros compuestos, especialmente con ácidos grasos poliinsaturados (Pineda et al., 1999; Villa et al., 2000), esto se da debido a que para que las moléculas se estabilicen deben tener sus electrones en parejas (Zamora S., 2007). En el caso que el electrón de la molécula no encuentre su respectiva pareja, tiende a volverse muy reactivo e inestable (Hernández, 2004). Si bien estas moléculas contienen un ciclo de vida muy corto, debido a su reactividad, pueden afectar negativamente hasta un millón de moléculas en todo el proceso en que estas perduren produciendo, en ocasiones, reacciones que afectan nuestra salud (Hernández, 2004).

Estas moléculas se encuentran alrededor de todo el organismo humano afectando a algunos compuestos (Hernández, 2004; Reznick, A.; Cross, 2000). Por ejemplo, los radicales libres pueden afectar a los leucocitos, los cuales se activan de manera anómala alterando su funcionamiento, los cuales pueden repercutir en la producción de enfermedades cerebrovasculares, cardiovasculares y el cáncer (Desmarchelier & Ciccia, 1998; Pita et al., 2000). Los radicales libres pueden repercutir en la producción de ciertas enfermedades tales como cambios degenerativos en el sistema inmunológico, la formación de cataratas, artritis, Parkinson, neoplasias, Alzheimer, entre otras enfermedades (Ruíz, 2005).

El organismo posee defensas (con capacidad antioxidante) en contra de los radicales libres, con el objetivo de hacerles frente, pero en la mayoría de ocasiones, la cuantía de radicales oxidativos superan la cantidad de estas defensas generando un desequilibrio, produciendo de igual modo, daños al organismo. El número de antioxidantes en el cuerpo puede incrementarse mediante la ingesta de ellos ya sea, mediante suplementos o alimentos, de este modo, una alternativa a contrarrestar la acción de los radicales libres es mediante la incorporación de estos en los alimentos (Fuchs-Tarlovsky et al., 2013). De esta manera, se pretende aprovechar este principio, mediante la elaboración de una bebida antioxidante con el objetivo de mitigar dicha problemática, conociendo las propiedades antioxidantes de los insumos principales.

Respecto al aprovechamiento de la hoja de hayo como fuente principal de antioxidantes, tales como (Gamarra Ochoa et al., 2018; Gamarra, 2018; Scarpetta-Ramirez, 2017), entre otros. En el caso de (Trigo-pérez & Suárez-cunza, 2017) que demostraron su alta capacidad antioxidante (TEAC-ABTS de 2,74 (Capacidad antioxidante equivalente de Trolox)  $\mu\text{mol/mL}$ , FRAP (poder *antioxidante* reductor del hierro) de 73,60 mg AAE/g (Ácido Ascórbico Equivalente/gramo) en la ayuda al recambio óseo en mujeres posmenopáusicas mediante el consumo de hoja de coca pulverizada.

Por otro lado, el consumo elevado de azúcares se asocia con diversas patologías como sobrepeso, obesidad, alteraciones hepáticas, desórdenes del comportamiento, diabetes, hiperlipidemia, enfermedad cardiovascular, hígado graso, algunos tipos de cáncer y caries dental. Además, el consumo de azúcares puede contribuir al desarrollo de alteraciones psicológicas como la hiperactividad, el síndrome premenstrual y las enfermedades mentales (Cabezas-Zabala et al., 2016). Debido a esta gran dificultad se propone la adición de Stevia en vez de azúcar. Se corrobora de igual forma el efecto antioxidante de la Stevia (Lemus-Mondaca et al., 2012).

Analizando todo lo anterior surge la siguiente pregunta: ¿Una bebida elaborada a base de café, hayo y stevia puede presentar un alto contenido de antioxidante y aceptabilidad organoléptica?

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. OBJETIVO GENERAL

Obtener una bebida rica en antioxidantes a base de Café (*Coffea Arabica*), Hayo (*Erythroxylum Coca*) y Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*).

### 6.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar las características microbiológicas de la bebida.
- Determinar la capacidad antioxidante de la bebida elaborada.
- Estandarizar una bebida a base de los sustratos de café, hayo, stevia.

## 7. METODOLOGIA.

### 7.1. Enfoque de investigación

Este trabajo de investigación y experimentación tuvo un enfoque cuantitativo, se recolectaron datos numéricos y sistemáticos a lo largo del procedimiento, se midió también la aceptación del producto mediante una prueba sensorial a una muestra de 35 personas basándose en análisis estadísticos, teniendo en cuenta las variables que se manipularon durante el proceso. Se corroboró la aplicación experimental de la investigación, ya que, hubo manipulación de diferentes variables experimentales, se empleó la técnica de observación; los datos se registraron de forma sistemática; se utilizó además un modelo estadístico para analizar los resultados de cada procedimiento; se propuso un método para la elaboración y estandarización de una bebida antioxidante a base de café, hayo y stevia, se determinó la capacidad antioxidante de la bebida, evaluándose sus características microbiológicas y se estandarizó el proceso de elaboración de la misma.

### 7.2. Muestra/población

Los principales componentes para la bebida elaborada (café, hayo y stevia), fueron obtenidos de dos fuentes, el café y el hayo fueron suministrados por el Resguardo Indígena Kankuamo, Atánquez mediante una petición escrita, esta comunidad indígena hace parte de las doce comunidades que integran el Resguardo Indígena Kankuamo, ubicado en la vertiente suroriental de la Sierra Nevada de Santa Marta, en el departamento del Cesar, Colombia. Se obtuvo un (1) kilogramo de hojas de hayo (*Erythroxylum Coca*) y quinientos (500) gramos de café (*Coffea Arabica*). La stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) fue adquirida en la ciudad de Valledupar en una zona de comercio de la ciudad, estos materiales fueron llevados a la Universidad Popular de Cesar para la fase de experimentación.

### 7.3. Diseño experimental.

La selección de la bebida fue realizada basado en la prueba sensorial por los consumidores. Posteriormente, se empleó un diseño de mezclas con tres (3) factores experimentales (porcentaje de café, hayo y stevia en la muestra), el diseño arrojó en total ocho (8) repeticiones. Durante la experimentación se manipularon

dos (2) variables de respuesta (fenoles totales y capacidad antioxidante). Este tipo de diseño experimental no posee niveles independientes, ya que, los factores son los componentes o ingredientes de la mezcla (Camacha, 2017; Judith et al., 2015). El análisis de resultados se desarrolló mediante la utilización del software Statgraphics Centurión XVI.I® y se aplicó un Análisis de Varianza (ANDEVA) seguido de la prueba de Rangos Múltiples (LSD de Fisher) a los resultados obtenidos para verificar si había diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

#### **7.4. Recolección de la información.**

Para la elaboración de la investigación se tuvieron en cuenta dos fuentes:

##### **7.4.1. Fuentes primarias.**

En este caso, se efectuó la toma de muestras de hojas de hayo (*Erythroxylum Coca*), café tostado molido (*Coffea Arabica*) y Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*), las dos muestras primeras fueron obtenidas por parte del Resguardo Indígena Kankuamo, Atánquez y la tercera fue adquirida en un punto de comercio en la ciudad de Valledupar, Cesar. Las muestras fueron llevadas al Centro de Investigación para el Desarrollo de la Ingeniería (CIDI) de la Universidad Popular del Cesar, Valledupar-Cesar., donde se obtuvo el extracto de las hojas de hayo por el método de extracción por lixiviación sólido-líquido.

##### **7.4.2. Fuentes secundarias.**

Estas fuentes correspondieron a los diferentes datos bibliográficos concernientes al tema de investigación, tales como: referencias bibliográficas, libros e internet, las cuales sirvieron de soporte para comparar los resultados obtenidos en el laboratorio.

##### **7.4.3. Instrumentos.**

Se muestra a continuación los instrumentos utilizados en la elaboración de la investigación.

- **Libreta de Notas:** Se empleó para registrar las actividades que se realizarán en la presente investigación.

- **Cámaras:** Este equipo fue utilizado para tomar fotografías como evidencia durante el desarrollo del trabajo y de esta manera enriquecer el diseño o proceso de investigación.
- **Equipos de laboratorio:** balanza analítica, termómetro digital, potenciómetro manual, papel filtro, envases de vidrio, equipo de destilación al vacío, Beakers, tamices de acero inoxidable, paletas, coladores de acero inoxidable, telas tocuo, ollas, refrigeradora, otros referentes a la investigación.

### **7.5. Procedimientos.**

En esta investigación se utilizó como guía (AOAC, 2000) y técnicas propuestas por (Perez & Sandoval, 2012) para la realización de las pruebas fisicoquímicas e iniciales (recolección, selección y clasificación de materia prima; pH, porcentaje de acidez, contenido proteico, entre otras), así también los lineamientos planteados por (Gonzalez-Villa, 2004) con algunas modificaciones (con relación a los tiempos de extracción) respecto al diseño experimental de mezclas utilizado (diseño de mezclas Simplex reticular). Las etapas delimitadas dentro del procedimiento se detallan a continuación,

#### **7.5.1. Caracterización de las materias primas: Hayo (*Erythroxylum Coca*) café (*Coffea Arabica*) y Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*).**

##### **7.5.1.1. Recolección de la materia prima.**

Las hojas de hayo fueron obtenidas por personas aborígenes del Resguardo Indígena Kankuamo de Atánquez, ubicado en inmediaciones del municipio de Valledupar, departamento del Cesar. Se obtuvo un (1) kilogramo de hojas de hayo verdes y frescas, aunque se hizo un proceso de selección de las hojas, no fue necesario el descarte de ninguna de estas, ya que, todas cumplían con las características deseadas (estado verde de las hojas, sin ninguna laceración o contaminación por parte de microorganismos o insectos). Respecto al café, quinientos (500) gramos de café tostado molido fueron adquiridos por parte de la Asociación de Productores Agroecológicos Indígenas Kankuamos de la Sierra Nevada de Santa Marta en el municipio de Valledupar, departamento del Cesar. La stevia fue adquirida en un centro de comercio de la misma ciudad.

#### **7.5.1.2. Selección y clasificación de la materia prima.**

En la selección y clasificación de las hojas de hayo se descartaron hojas en mal estado y verdes, obteniendo así, hojas en óptimas condiciones, las cuales fueron utilizadas para el proceso de molienda, y posteriormente, para la obtención del extracto a utilizar por el método de lixiviación sólido-líquido para la elaboración de la bebida. No fue necesario aplicar algún método de selección o clasificación para las otras dos materias primas (café tostado molido y Stevia), ya que, estas se encontraban en óptimas condiciones, y los productos se encontraban homogenizados.

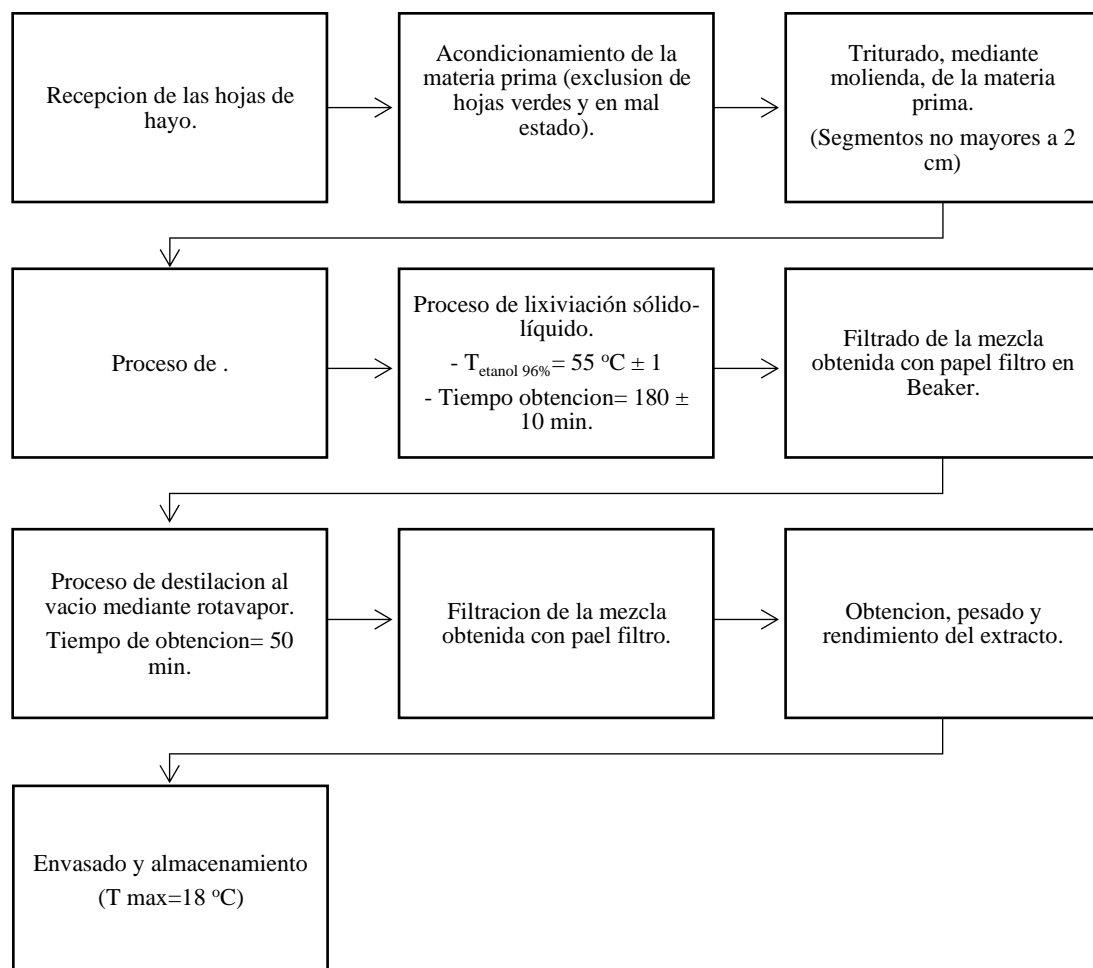
#### **7.5.1.3. Trituración de la materia prima.**

Las hojas de hayo verdes fueron trituradas mediante la utilización de un molino marca Corona, modelo L14200. Posterior al proceso de molienda, las hojas trituradas fueron almacenadas con el objetivo de conservar las condiciones requeridas para el proceso de extracción.

#### **7.5.1.4. Obtención del extracto.**

Luego que las hojas de hayo fueron trituradas y almacenadas (selladas herméticamente a temperatura ambiente), estas, se llevaron a un balón, que contenía una determinada cantidad de solvente (alcohol al 96 % etanol) sometido a baño de maría a 55 °C, para llevar a cabo el método extracción por lixiviación sólido-líquido. La relación solvente-hojas de hayo utilizada fue 10:1 tomando como base las investigaciones realizadas por (Marin-Castillo & Mejia-Castillo, 2012; Miranda-Lopez, 2016). De este modo por cada litro de alcohol se adicionaron 100 gramos de hojas de hayo. Este proceso tardó 3 horas posterior a la adición de las hojas trituradas, luego, se filtró la mezcla en un Beaker utilizando papel filtro de listers de algodón y otras fibras vegetales de pureza elevada (99%), posteriormente, la solución líquida contenida en el recipiente fue llevada a un rotavapor por 50 minutos, para que, mediante una destilación al vacío, se evaporara de manera rápida el alcohol etanol contenido en la solución utilizado en el proceso anterior como solvente, obteniendo así, el extracto de hojas de hayo.

Los variables de tiempo y temperatura establecidos han sido utilizados por diversos autores (Calle-Chumo & Mendoza-San Martin, 2017; Marin-Castillo & Mejia-Castillo, 2012). Al analizar detenidamente, no se corroboró la ausencia o presencia de alcohol en el extracto obtenido, ya que, en ninguna de las investigaciones tomadas como base, este proceso fue necesario. Como fase final de esta etapa, se procedió a filtrar el extracto con el fin de clasificarlo y eliminar partículas no deseadas. A continuación, se presenta el proceso utilizado en el siguiente esquema.



**Figura 1. Esquema de obtención de extracto de Hajo.**

#### **7.5.1.5. Elaboración de las bebidas.**

Se elaboraron quinientos (500) ml de cada bebida a base de los tres componentes (extracto de hajo, café molido tostado y stevia) utilizando agua potable como solvente en la mezcla. Para este proceso, inicialmente se determinaron, de manera porcentual, las cantidades requeridas de café, extracto de hajo y stevia,

posteriormente se agregó agua hasta completar quinientos (500) ml. Luego de homogenizar la mezcla, se procedió a calentarla a una temperatura constante de  $92 \pm 5$  °C por un tiempo de 3 minutos, ya que, al ser una infusión de café era necesario que, en esta, por medio del calor, los compuestos de interés quedasen contenidos en la bebida. Una vez pasado este tiempo, se procedió a filtrar la mezcla con la ayuda de un tamiz de 0,1 pulgada de tamaño de partículas retenidas con el objetivo de eliminar la sedimentación no deseada. En total 5 bebidas fueron elaboradas con diferentes concentraciones peso/volumen de café, extracto de hayo y stevia (Kg materia prima/L agua) conforme a la tabla 1. Las concentraciones de las materias primas principales fueron realizadas deliberadamente, únicamente, respecto a la concentración de stevia, se tuvo en cuenta por medio de una prueba sensorial (solo sabor) realizada por los mismos investigadores.

**Tabla 1. Formulación de las 5 bebidas iniciales antes de las pruebas sensoriales y fisicoquímicas.**

<b>Mezcla</b>	<b>% De café en la bebida.</b>	<b>% De Hayo en la bebida.</b>	<b>% De Stevia en la bebida.</b>
<b>1</b>	6	1	0.5
<b>2</b>	7	1	0.5
<b>3</b>	8	1	0.5
<b>4</b>	8.5	0.75	0.5
<b>5</b>	9	0.5	0.5

#### **7.5.1.6. Evaluación del grado de aceptación sensorial.**

La formulación de las mezclas de bebidas funcionales elaboradas a través de pruebas afectivas en Escala Hedónica dirigidas a consumidores. (Hernandez, 2005) Una encuesta fue realizada a 35 personas con el objetivo de determinar, por parte de ellos, mediante evaluaciones sensoriales, cuál de las cinco (5) formulaciones elaboradas era la más aceptada en términos organolépticos (aroma, color y sabor). A la bebida con mayor aceptabilidad se le aplicaron las pruebas fisicoquímicas,

microbiológicas, de capacidad antioxidante y polifenoles totales, las otras cuatro formulaciones de la bebida fueron descartadas. En el Anexo 1 se muestra el formato de la encuesta realizada.

#### **7.5.1.7. Análisis fisicoquímico de la bebida.**

Con el objetivo de determinar las variables fisicoquímicas principales de la bebida seleccionada (porcentaje de acidez, contenido de proteína y solido solubles totales) se tuvo en cuenta las pautas, parámetros y procedimientos establecidos por el libro Official Methods of Analysis de la A.O.A.C (The Association of Official Analytical Chemists), edición 17, y la NTC 4580. En la siguiente tabla se muestran los detalles enmarcados para cada prueba.

**Tabla 2. Análisis fisicoquímico de la bebida.**

<b>TIPO DE PRUEBA</b>	<b>NUMERO REFERENTE A.O.A.C</b>
<b>Porcentaje de acidez.</b> Mediante titulación.	Conforme a A.O.A.C 33.2.06 de (AOAC, 2000).
<b>Contenido proteico.</b> Mediante el método de Kjeldahl para análisis de contenido de nitrógeno bruto.	Conforme a A.O.A.C 33.2.11 de (AOAC, 2000).
<b>Solidos Solubles Totales.</b> Mediante el uso de un refractómetro (rango 0-32 Brix).	Conforme a A.O.A.C 37.1.15 de (AOAC, 2000).

Fuente. Modificado de (Santander, 2013).

#### **7.5.1.8. Determinación de la capacidad antioxidante.**

La capacidad antioxidante de la bebida seleccionada se determinó mediante espectrofotometría utilizando el método DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracil) descrito por (Morales et al., 2010). En este caso: Se tomaron alícuotas de 0,1 mililitros de la bebida, se mezclaron en tubos de ensayo con 3,9 mililitros de DPPH 2,2 difenil-1-picrilhidracil) en metanol (0,025g/L) y 0,090 mililitros de agua destilada. En cuanto a la homogenización de la mezcla, esta, se agitó vigorosamente y posterior a esto,

se mantuvo por 30 minutos en la oscuridad. Finalmente, se procedió a medir la absorción de las muestras en un espectrofotómetro utilizando un blanco de metanol sin DPPH a 515 nm. Los resultados se expresaron como trolox mmol/L.

### **7.5.2. Determinación de fenoles totales.**

La determinación de fenoles totales de la bebida se determinó mediante espectrofotometría utilizando el método Folin-Ciocalteu descrito por (Piljac-Žegarac et al., 2009). En este caso, se mezcló una alícuota de 0,5 mililitros de la bebida en un tubo de ensayo con 0,5ml de reactivo de Folin-Ciocalteu y 10 mililitros de una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7% p/v en agua tomando como base (González, Pérez, & Núñez, 2016). Luego se mantuvo las muestras a temperatura ambiente por un tiempo de 1 hora en oscuridad, posteriormente, estas fueron sometidas a espectrofotometría a una absorbancia de 756 nm en un espectrofotómetro. Para comparar la absorbancia de las muestras se realizaron concentraciones de 0, 50, 100, 150, 250 y 500 miligramos de ácido gálico/L, con el objetivo de construir una curva de calibración. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 ml.

#### **7.5.2.1. Análisis microbiológico.**

Tomando como referencia los requerimientos en bebidas de esta índole, estipulados por el INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos) para mezclas de consumo directo, donde se precisan los criterios microbiológicos para este tipo de bebidas, los cuales se muestran en la siguiente.

**Tabla 3. Requerimientos microbiológicos, de bebidas de consumo directos como las de café. Tomado de INVIMA.**

<b>REQUISITO</b>	<b>m</b>
Recuento de microorganismos Mesófilos	≤30000
NMP Coliformes Totales	<3
NMP Coliformes Fecales	<3
Recuento de mohos y levaduras	≤100
Recuento Staphylococcus coagulasa positivo	<100

De este modo, se realizaron los recuentos establecidos para cada requisito microbiológico. Los métodos y procedimientos fueron tomados de (Perez & Sandoval, 2012) y se detallan a continuación.

#### **7.5.2.2 Recuento de bacterias mesófilas, método de placa vertida.**

El procedimiento utilizado se detalla a continuación,

1. Se suspendieron 10.0mL de refresco en un frasco de dilución que contenía 90mL de la solución Buffer Fosfato pH=7.2 (dilución 1:10)
2. De este frasco se tomó una alícuota de 1ml y se colocó en un tubo de ensayo que contenía Buffer Fosfato pH=7.2 (dilución 1:100).
3. De la dilución 1:10 se tomaron 2 alícuotas de 1 ml respectivamente, y se colocaron en dos placas de Petri. Con movimiento oscilatorio se agregaron 18ml a 20 ml de Tripticasa Soya dentro de un área estéril.
4. De la dilución 1:100 se tomaron 2 alícuotas de 1 ml respectivamente, y se colocaron en 2 cajas de Petri con movimiento oscilatorio y se agregaron 18 ml a 20mL de Tripticasa Soya (realizado en área estéril).
5. Se Incubo la caja de Petri a una temperatura de 30 a 35°C por 24 a 48 horas.
6. Se procedió a efectuar el recuento de bacterias mediante el uso de cuenta colonias, multiplicando por su factor.
7. Se reportaron los valores obtenidos como numero de colonias por ml de muestra.

La fórmula utilizada para calcular número de bacterias fue la siguiente,

$$\text{Numero de bacterias} = \frac{\Sigma \text{ ambas placas}}{\text{numero de placas}} \times \text{dilucion utilizada}$$

### **7.5.2.3 Determinación de Coliformes totales y fecales por método placas 3M Petri-film.**

El procedimiento utilizado se detalla a continuación,

1. Para la preparación de muestras se colocaron las placas en una superficie plana y nivelada.
2. Se rotularon con el número de muestra correspondiente las placas Petri film.
3. Luego se agito la muestra vigorosamente por lo menos 25 veces a manera de homogenizar el contenido del frasco.
4. Se levantó con sumo cuidado la película superior y se colocó perpendicularmente 1 ml de la muestra con micropipeta cerca del centro de la película inferior.
5. Se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrapara burbujas de aire.
6. Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inculo.
7. Se presionó suavemente el dispersor para distribuir el inculo sobre el área circular antes que solidificara el gel.
8. Se levantó el dispersor y se esperó por lo menos un minuto a que solidificara el gel.

Posteriormente se procedió a los procesos de incubación e interpretación de resultados, estos se detallan seguidamente,

1. Se incubaron las placas, cara arriba en grupos de no más de 20 placas por un periodo de 24-48 horas a 35°C
2. Se Leyeron las placas en un cuenta-colonias.

3. Las pruebas positivas correspondieron a aquellas colonias que presentaban una coloración de ocre a morado con presencia de burbujas de gas.

#### **7.5.2.4. Recuento de hongos y levaduras, método por placa vertida.**

El procedimiento utilizado se detalla a continuación,

1. Se suspendieron 10. ml de la bebida y se colocaron en 90 ml de Buffer fosfato pH=7.2 obteniéndose una dilución 1:10.
2. Se tomó 1.0 ml de la dilución 1:10 y se colocó en 2 placas Petri, se agregó medio de papa Dextrosa entre 18mL a 20mL con movimiento (realizado en área estéril).
3. Se tomó por duplicado 1.0 ml de bebida sin diluir y se colocó en placas Petri, se agregó medio de Papa Dextrosa, entre 18 ml a 20 ml, con movimiento (realizado en área estéril). Esta es considerada una dilución directa (< 1 UFC/ml).
4. Se solidificó e incubó la placa de forma invertida a  $22.2 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$  por 7 días.
5. Se reportaron los datos obtenidos como: número de colonias por ml de muestras UFC/ml.

La fórmula utilizada para calcular el número de hongos y levaduras se expresa a continuación,

$$\text{Numero de hogos y levaduras} = \frac{\Sigma \text{ ambas placas}}{\text{numero de placas}} \times \text{dilucion utilizada}$$

#### **7.5.2.5 Determinación de *Staphylococcus aureus*.**

Se tomó una asada a base de caldo tripticasa de soya y se resembro, mediante estriado, en placas conteniendo medio Sal Manitol – Rojo fenol. Se cubrieron e invirtieron las placas. Se incubaron a  $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$  de 24 a 48 horas.

Se examinaron las placas teniendo como parámetro la descripción de la siguiente tabla. Si aparecían colonias con las características morfológicas descritas en la tabla, se continuaba con las pruebas bioquímicas para confirmar *Staphylococcus aureus*.

**Tabla 4. Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* sobre agar selectivo.**

MEDIO SELECTIVO	MORFOLOGIA CARACTERISTICAS DE LAS COLONIAS
MEDIO MANITOL AGAR SALADO	Colonias amarillas con zonas amarillas

Para la prueba bioquímica se tomaron las asadas a base de caldo tripticasa de soya utilizadas inicialmente que contenían las colonias sospechosas de *Staphylococcus aureus* y se colocaron dentro de tubos que contenían de 0.2 a 0.3mL de Infusión Cerebro Corazón (BHI), se incubaron de 18 a 24 horas  $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ . Luego de ese periodo de tiempo, se sacaron y se le adicionaron 0.5mL de Plasma de conejo con EDTA y se mezcló. Posteriormente, se incubaron por 6 horas a  $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ , la formación de un coagulo fue la confirmación de la prueba, sino se formaba el coagulo la prueba, esta, era negativa.

## 8. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.

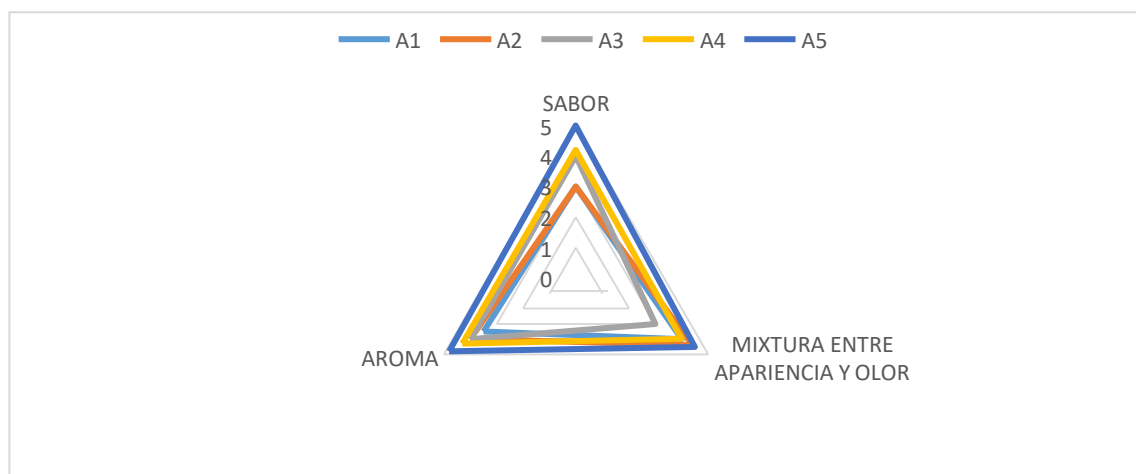
### 8.1 Prueba de evaluación sensorial.

La prueba de evaluación sensorial realizada respecto a la formulación de las 5 bebidas presento un rango de 4 opciones, las cuales, presentaban una descripción sencilla para los degustadores, estos eran personas sin ninguna experimentación en el área de la degustación, profesionalmente hablando. La encuesta fue realizada a 35 personas. Principalmente, para la escogencia de 1 bebida (teniendo en cuenta los datos obtenidos) solo se tomaron como determinantes esenciales dos criterios, estos fueron:

- Calificación de las características de las bebidas (en una escala de 1 a 5, siendo 5 el valor optimo y 1 el menor valor de la escala respecto a sus características). Estas características fueron: sabor, aroma y apariencia-color.
- Aceptación de la bebida de manera general (se tuvo en cuenta la conglomeración de las tres características antes mencionadas).

A continuación, se reflejan mediante el uso de un diagrama triangular la representación gráfica de los datos obtenidos,

**Figura 2. Diagrama triangular de medición de aceptabilidad de las formulaciones de las bebidas.**



A<sub>1</sub>: formulación con 6% de café, 1% de extracto de hajo y 0,5% de stevia.

A<sub>2</sub>: formulación con 7% de café, 1% de extracto de hajo y 0,5% de stevia.

A<sub>3</sub>: formulación con 8% de café, 1% de extracto de hajo y 0,5% de tevia.

A<sub>4</sub>: formulación con 8,5% de café, 0,75% de extracto de hajo y 0,5% de stevia.

A<sub>5</sub>: formulación con 9% de café, 0,5% de extracto de hajo y 0,5% de stevia.

De acuerdo a la figura 2, las formulaciones A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> presentaron igual calificación en el sabor (puntaje 3 que corresponde a la descripción “ni me gusta, ni me disgusta”), seguidamente de las formulaciones A<sub>3</sub> y A<sub>4</sub>, con una valoración de 4 y 4,2 respectivamente, el máximo valor posible (puntaje 5 que corresponde a la descripción “me gusta muchísimo”), por otro lado, en el aspecto evaluado de apariencia, la mezcla A<sub>3</sub> obtuvo la menor puntuación entre todas las formulaciones (puntaje 3 que corresponde a la descripción “ni me gusta, ni me disgusta”). Las formulaciones con mayor aceptabilidad en cuanto a su apariencia resultaron ser A<sub>2</sub> y A<sub>5</sub> con valores 4,4 y 4,5 respectivamente. En cuanto al aroma, las formulaciones A<sub>2</sub> y A<sub>3</sub> obtuvieron igual valoración (puntaje 4 correspondiente a “Me gusta Mucho”), la formulación A<sub>1</sub> alcanzo la menor puntuación (3,5) y la formulación T<sub>5</sub> obtuvo la mayor puntuación (4,8). Por lo tanto, la mezcla seleccionada correspondió a la bebida con una formulación de 9% de café, 0,5% de extracto de hajo y 0,5% de Stevia. Esta determinación se realizó de manera deliberada tomando únicamente como base la escala de la encuesta (de 1 a 5, siendo 5 el valor optimo y 1, el menor valor de la escala respecto a sus características).

**NOTA ACLARATORIA:** A partir de aquí, solo se le aplicaron el conjunto de procedimientos a la formulación número 5, ya que, esta fue la mayormente aceptada por los consumidores encuestados.

## **8.2 Caracterización fisicoquímica de la bebida de las bebidas seleccionadas.**

La bebida obtenida presentó una coloración oscura (color característico de las bebidas que contienen café tostado molido), sabor y olor dulce, característico de las bebidas endulzadas con stevia.

### **8.2.1 Determinación de los Sólidos Solubles Totales.**

Para la determinación de los sólidos solubles (SST) en la bebida se tuvo en cuenta los parámetros estipulados por las normas (US ISO; 2009), NTC 4624 (ICONTEC; 1999) y el método AOAC 932,14 (AOAC; 2005). Para esta prueba se utilizó un refractómetro portátil marca ATAGO modelo PAL-1 con precisión de 0,1°Brix, donde se adicionaban 5 gotas de muestra en el lente del refractómetro, para luego, iniciar la lectura. Los datos obtenidos se muestran a continuación,

***Tabla 5. Resultados Sólidos Solubles Totales en la formulación de la bebida número 5.***

N. de Bebidas	Repeticiones	%SST
5	1	2
	2	2
	3	2

Conforme a lo establecido en diversas normas y requerimientos, como el caso de las Normas Técnicas Colombianas, NTC 4602-01 (Determinación del rendimiento de la extracción y de los sólidos solubles en la bebida de café. Parte 1: Método por goteo) y NTC 4602-02 (Determinación del rendimiento de la extracción y de los sólidos solubles en la bebida de café. Parte 2: Método por contacto directo), el porcentaje mínimo establecido respecto al porcentaje de sólidos solubles totales contenidos en bebidas que poseen café como uno de sus principales componentes resulta ser de 1,1%, de este modo, el obtener un porcentaje superior a este margen indica que, se estaría cumpliendo por lo establecido por la norma respecto al

contenido mínimo exigido de sólidos solubles totales en la bebida. La obtención de un porcentaje mayor que el mínimo establecido por las normas antes mencionadas puede explicarse posiblemente al alto porcentaje de café contenido en la bebida (9.5%). También se puede destacar que, en otras investigaciones, como la realizada por (Ortega, Caballero, & Maldonado, 2014), el dato promedio obtenido de esta propiedad fisicoquímica se acopla al rango de los datos obtenidos de estos investigadores (1,9%-3,6%).

### 8.2.2 Determinación del pH y acidez titulable.

Para la determinación del pH se tomó en cuenta lo exigido por las normas: ISO 1842:1991 (US ISO; 1991), NTC 4592 (ICONTEC; 1999) y el método AOAC 981,12 (AOAC; 2005). Para este caso, se utilizó un pH-metro marca OHAUS modelo STARTER 3100 con precisión de 0,01. Para la implementación del pH-metro, inicialmente se tomó una muestra de 15 ml de muestra de la bebida, y se procedió a introducir el pH-metro dentro del mismo, para finalmente leer y anotar el valor de pH. El porcentaje máximo establecido respecto al porcentaje de pH en bebidas que poseen café como uno de sus principales componentes resulta ser de 5.0. (Fórumcafé). Los datos obtenidos para la bebida se muestran a continuación,

**Tabla 6. Resultados pH en la formulación de la bebida número 5.**

N. de Bebidas	Repeticiones	Ph
5	1	4.0
	2	4.0
	3	4.0

Para el caso de la acidez titulable se implementó lo exigido por la Norma Técnica Colombiana NTC 4623 (ICONTEC; 2000) y NTC 4803 (ICONTEC; 2016). Se tomó, en este caso, 1 ml de cada bebida y se aforó a 10 ml con agua destilada, se le adicionaron 3 gotas de fenolftaleína y se agitó. Luego se adicionó una solución base de NaOH estandarizado al 0,1 N mediante una bureta graduada, hasta que la

mezcla viró a un color rosa opaco. La acidez titulable se expresó como g de ácido cítrico/l.

**Tabla 7. Resultados de la acidez en la formulación de la bebida número 5.**

N. de Bebidas	Repeticiones	Vol. Muestra (ml)	NaOH gastado (ml)	Acidez g/litro
5	1	10	0,8	0.0512
	2	10	0,6	0.0384
	3	10	0,7	0.0448

La literatura aconseja que el pH y el contenido de acidez promedio de una bebida con altos contenidos de café han de situarse en torno al 5,0 y 0,011%, respectivamente (Garcia et al., 2019) . Los mismos autores obtuvieron un rango para el pH en infusiones de café de (4,96-5,24) y para acidez titulable de (0,010-0,018 g/L) tomando como bases dos especies de café más comunes (arábica y robusta). Diversas normas como la Norma Técnica Colombiana (NTC 4602-2) estipula el rango óptimo de pH para una bebida a base de café de alta calidad (4,9-5,2), un pH menor de 4,9 el café adquiere sabor demasiado ácido, y con pH 5,2 es más amargo (Valencia, Pinzon, & Gutierrez, 2015).

El no acople a los rangos establecidos (pH promedio de 4.0 y acidez promedio de 0,0448 g/litro) se debe posiblemente al tiempo de tosti3n. El tiempo de tosti3n es directamente proporcional al decrecimiento en la acidez del grano, afectando el producto final (INTERGRANO, 2018). Debido a que el café fue donado por parte del Resguardo Indígena Kankuamo, Atanquez, dicho Resguardo Indígena puede presumirse, posiblemente, un inapropiado manejo de las variables en proceso de tosti3n del mismo.

### 8.3 Contenido proteico.

El contenido de proteína cruda se obtuvo multiplicando el contenido de nitr3geno determinado por el método Kjeldahl, por el factor de transformaci3n en proteína,

6.25 para este caso. Todos estos parámetros se realizaron mediante el método AOAC 920.87.

Este método consta de 3 etapas, a continuación,

- 1) Digestión: disgregación de la materia orgánica contenida en la muestra a causa de  $H_2SO_4$  y el catalizador convirtiendo el nitrógeno en  $NH_4$ .
- 2) Destilación: separación por arrastre por vapor del  $(NH_4)_2SO_4$  y posterior solubilizarían en un álcali fuerte de concentración conocida.
- 3) Valoración: medición de la cantidad de ácido neutralizado por el  $NH_4$  disuelto, indicando la cantidad de nitrógeno presente en la muestra inicial.

El contenido de nitrógeno disuelto se calculó aplicando la ecuación siguiente, los resultados obtenidos se muestran a continuación,

$$\%N = (\text{ml HCl} * N * 0.014 / \text{g muestra}).$$

**Tabla 8. Resultados del contenido proteico en la formulación de la bebida número 5.**

N. de Bebidas	Repeticiones	Contenido proteico (%)
5	1	0.048
	2	0.048
	3	0.048

La tabla 8 evidencia un bajo porcentaje proteico en la bebida, esto se debe posiblemente al bajo contenido proteico de los componentes principales de la bebida, por ejemplo, el café solo posee un aproximado de (0,12%) de estas macromoléculas (USDA, 2019). El mayor aportante proteico resultaría ser el Hoyo, siendo aproximadamente un 18,9% (PACS, 2018), pero debido a la baja concentración de extracto en la formulación (1% del total de la formulación de la bebida), no resultaría ser un aportante proteico esencial para la misma.

#### 8.4 Evaluación microbiológica de las bebidas.

Luego del análisis de las pruebas anteriores resultando la mejor bebida, por los criterios ya expuestos, la bebida número 5, cuya formulación fue: 9%, 0.5% y 0.5% de café, hayo y stevia respectivamente. Los resultados obtenidos se muestran a continuación,

**Tabla 9. Resultados pruebas microbiológicas en la formulación de la bebida número 5.**

Parámetros	Documento normativo	Temperatura	Máximo UFC/ml permitido (INVIMA)	Resultados UFC/ml		
				1	2	3
Mohos y levadura	ICMSF*	28°C	≤100	Menor de 10 UFC/ML	Menor de 10 UFC/ML	Menor de 10 UFC/ML
NMP de coliformes totales.	ICMSF	28°C	<3	Menor de 3 UFC/ml	Menor de 3 UFC/ml	Menor de 3 UFC/ml
NMP de coliformes fecales en alimentos.	ICMSF	28°C	<3	Menor de 3 UFC/ml	Menor de 3 UFC/ml	Menor de 3 UFC/ml
Microorganismos mesófilos.	ISO 4833-1:2013	28°C	≤30000	Menor de 10 UFC/ML	Menor de 10 UFC/ML	Menor de 10 UFC/ML

Método horizontal para recuento estafilococos coagulasa positiva.	ISO 6888-1:1999/AM D. 1:2003(3).	28°C	<100	Menor de 100 UFC/ML	Menor de 100 UFC/ML	Menor de 100 UFC/ML
---	----------------------------------	------	------	---------------------	---------------------	---------------------

\*ICMSF: Comisión Internacional De Especializaciones Microbiológicas Para Los Alimentos.

Algunos autores obtuvieron valores semejantes a los obtenidos en la investigación, como lo es el caso de (Melendez, Rosas, & Rios, 2016), los cuales, obtuvieron 6 UFC/ml par mohos y levaduras, otros como (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019) obtuvieron valores muy parecidos a los obtenidos para NPM de coliformes totales, fecales y microorganismos mesófilos (menor de 5, 5 y 20 UFC/ml, respectivamente). Tomando como base los requerimientos microbiológicos reflejados en la tabla 2, para bebidas de esta índole (bebidas con mezclas de consumo directo), estipulados por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), ente regulador de alimentos y Medicamentos en Colombia, es de aclararse que, la bebida cumple con los mismos.

### **8.5 Análisis de la capacidad antioxidante y polifenoles totales en la formulación de la bebida seleccionada.**

Es de considerar que el diseño experimental para estas condiciones arrojó en total 8 repeticiones de la bebida seleccionada, por consiguiente la bebida fue elaborada 8 veces bajo la misma formulación. Para la cuantificación del Contenido de Fenoles Totales (CFT) se utilizó el método colorimétrico Folin-ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) con algunas modificaciones. En el caso de la capacidad antioxidante, se determinó por el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazilo) (Brand-williams, Cuvelier, & Berset, 1995) con algunas modificaciones. Los resultados se expresan como mg/100 ml de bebida para el caso de los fenoles totales y trolox

mmol/ 100 ml para capacidad antioxidante. Los valores obtenidos se expresan a continuación,

**Tabla 10. Resultados Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales.**

Repeticiones	Capacidad antioxidante	Fenoles totales
	Trolox mmol/ 100 ml <sup>1</sup>	mg/100 ml de bebida
1	1205,02	304,77
2	1883,60	333,26
3	1480,00	239,00
4	2173,50	302,39
5	1514,00	396,68
6	1570,00	257,50
7	1529,40	358,47
8	1540,00	249,80

<sup>1</sup>La capacidad antioxidante equivalente de Trolox es comúnmente utilizada para medir la capacidad antioxidante de alimentos y bebidas, de este modo puede apreciarse esta medida como una unidad común para expresar la capacidad antioxidante de una sustancia dada. (Huang, Ou, & Prior, 2005)

Todos los datos fueron analizados con el software Statgraphics Centurion XVI.I. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza ANOVA con una confianza del 95%. Se encontró que hay pocas diferencias significativas estadísticamente (Valor-P > 0.05) en los resultados de la Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales. Se puede observar que los rangos para la capacidad antioxidante y fenoles totales fueron, 1205,02 a 2173,5 Trolox mmol/100 ml y 239,0 a 396,68 mg equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida, respectivamente. Esto puede indicar posibles errores en las técnicas de elaboración de las bebidas y/o determinación de la capacidad antioxidante y fenoles totales, sin embargo, los datos obtenidos se encuentran dentro del rango establecidos por diversos autores los cuales también aplicaron replicas a muestras con concentraciones similares como las realizadas (Londoño et al., 2013; Natella et al., 2002). Los valores del error absoluto determinados respecto

a los valores obtenidos para cada característica (capacidad antioxidante y fenoles totales) se muestran a continuación,

- Capacidad antioxidante:

Margen error absoluto ( $X \pm \epsilon_a$ ): 1661,95  $\pm$  208,305 Trolox mmol/ 100 ml.

- Fenoles totales:

Margen error absoluto ( $X \pm \epsilon_a$ ): 305,23  $\pm$  43,18 mg/100 ml de bebida.

En las tablas 10 y 11 se muestra el resumen de los datos del análisis de varianza para Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante.

**Tabla 11. Análisis de Varianza para Fenoles Totales.**

Fuente	Suma de Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:% Cafe en la bebida	546,647	1	546,647	4,11	0,2917
B:% Hayo en la bebida	14427,1	1	14427,1	108,53	0,0609
C:% Stevia en la bebida	471,706	1	471,706	3,55	0,3107
AB	816,282	1	816,282	6,14	0,2442
AC	1392,6	1	1392,6	10,48	0,1908
BC	3941,39	1	3941,39	29,65	0,1156
Error total	132,927	1	132,927		
Total (corr.)	21728,6	7			

R-cuadrada = 99,3882 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 95,7177 por ciento

Error estándar del est. = 11,5294

Error absoluto medio = 4,07625

Estadístico Durbin-Watson = 2,5

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,375

**Tabla 12. Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante.**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:% Cafe en la bebida	33732,4	1	33732,4	18,84	0,1442
B:% Hayo en la bebida	213035,	1	213035,	118,99	0,0582
C:% Stevia en la bebida	62785,5	1	62785,5	35,07	0,1065
AB	108,929	1	108,929	0,06	0,8460
AC	66663,6	1	66663,6	37,23	0,1034
BC	217365,	1	217365,	121,40	0,0576
Error total	1790,41	1	1790,41		
Total (corr.)	595480,	7			

R-cuadrada = 99,6993 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 97,8953 por ciento

Error estándar del est. = 42,3133

Error absoluto medio = 14,96

Estadístico Durbin-Watson = 2,5

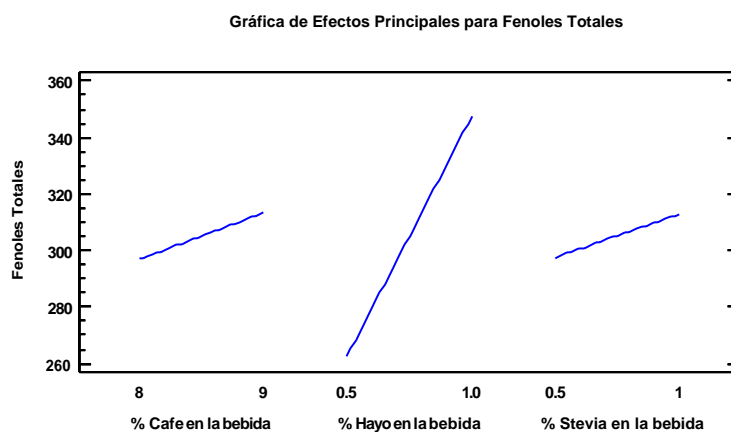
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,375

Se observa que los valores obtenidos son no significativos. Los valores respecto al R-cuadrada (ajustada por g.l.), para ambos casos, fue muy próximo al valor limite (100 %), esto indica una alta extensión de la varianza en las variables dependientes (% de café, % de hayo y % de Stevia), las cuales pueden ser explicadas por las variables independientes (Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales). De esta

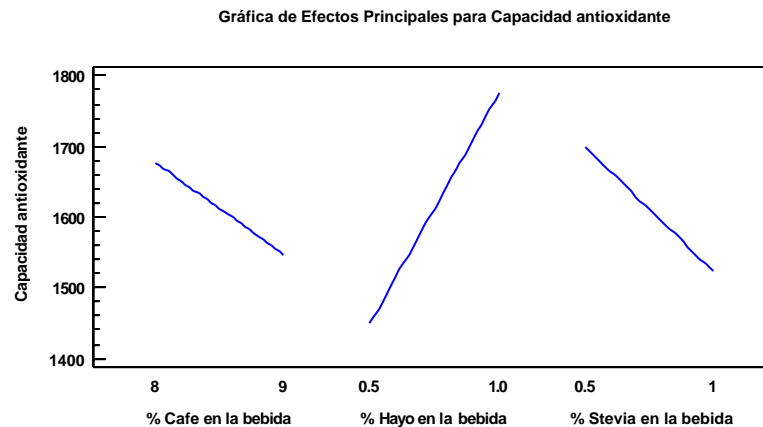
manera se considera que la proporción de cada materia prima en las muestras modifica los valores obtenidos de capacidad antioxidante y fenoles totales.

Si se observan las gráficas de efectos principales (graficas 1 y 2), puede inferirse que, en los casos cuando la concentración de Hayo aumenta en la formulación en la bebida, se observa un incremento en la capacidad antioxidante y en la cantidad total de Fenoles es la misma. Ocurre, de igual modo, la misma proporcionalidad con los contenidos de café y stevia en la muestra respecto al aumento de fenoles totales, sin embargo, no en la misma proporción como ocurre con el hayo. Si se aprecia la gráfica 2 puede evidenciarse el mismo fenómeno antes mencionado (el contenido presenta una proporcionalidad directa respecto a la capacidad antioxidante), sin embargo, se refleja que la a medida que se incrementa el contenido de stevia y Café la capacidad antioxidante decrecería.

La variación respecto al contenido de fenoles totales y en la capacidad antioxidante de las muestras puede estar ligado a diversos factores, tales como el origen geográfico de las muestras, los procesos realizados para su obtención (procesos de tostado y molienda, en el caso del café) o en el tipo de procedimientos realizados para la elaboración de las bebidas (Hecimovic et al., 2011).

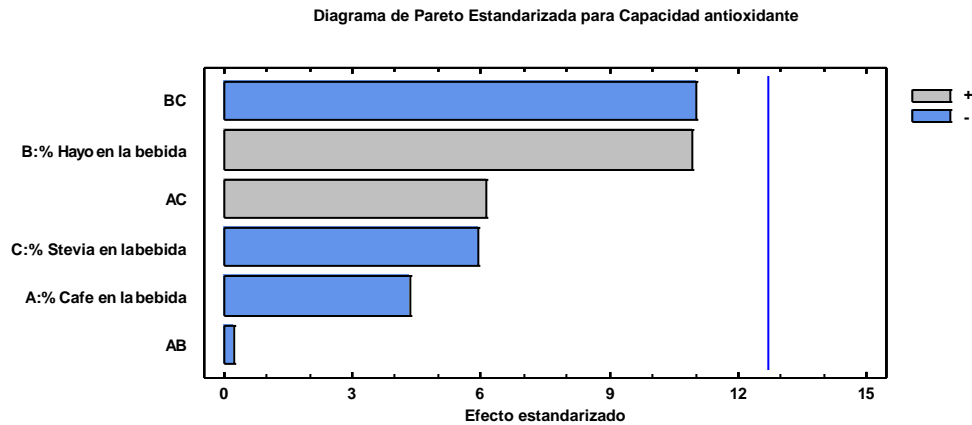


**Figura 3. Grafica de efectos principales para Fenoles Totales**

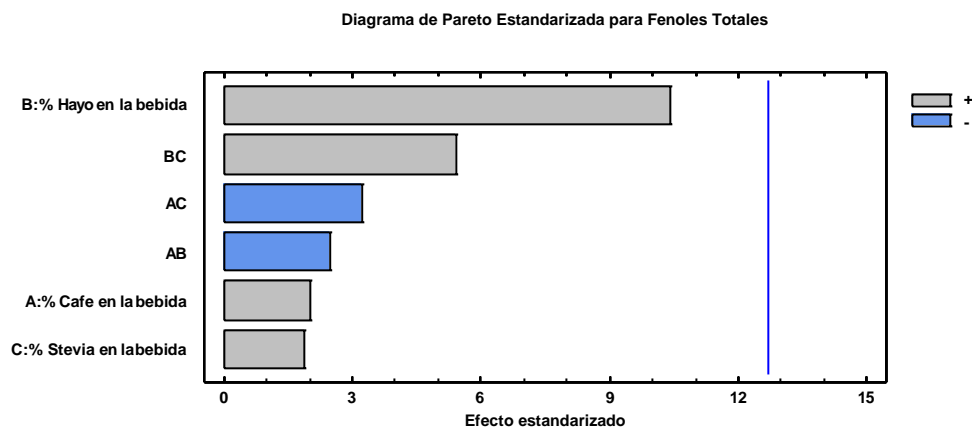


**Figura 4. Grafica de Efectos Principales para Capacidad Antioxidante.**

Los diagramas de Pareto representados en las figuras 3 y 4 reflejan la importancia de cada componente de la mezcla, de manera individual y colectiva respecto a la capacidad antioxidante y los fenoles totales de la bebida. Ha de evidenciarse que en el caso de la capacidad antioxidante la mezcla de los dos componentes que mayormente potencializaría esta característica en la bebida resultaría ser la de stevia y Hajo, mientras que, aunque en el contenido de fenoles se evidencia que es la misma mezcla no es tan significativo como lo es el caso de la capacidad antioxidante. La mezcla menos aportante sería la de stevia y Café para ambos casos. Podría inferirse entonces, que el Hajo en la bebida cumple un papel radical como aportante antioxidante principal en la bebida.



**Figura 5. Diagrama de Pareto Estandarizado para Capacidad Antioxidante.**



**Figura 6. Diagrama de Pareto estandarizado para Fenoles Totales.**

Los resultados obtenidos pueden ser contrastados con la afirmación de diversos autores, los cuales, expresan que el contenido de polifenoles totales en bebidas de este tipo puede variar entre 200 a 550 mg/100 ml (Natella et al., 2002), de este modo, puede apreciarse que los valores obtenidos, efectivamente, están inmersos entre dicho rango. Se puede encontrar una gran similitud en el rango obtenido respecto a la capacidad antioxidante (1205,02 a 2173, 5 Trolox mmol/ 100 ml) en varias investigaciones de esta misma índole, como el caso de (Londoño et al., 2013) los cuales obtuvieron un rango similar (1250,5 a 2350,8 Trolox mmol/ 100 ml).

## 9 CONCLUSIONES.

Las grandes diferencias encontradas respecto al error absoluto de los valores obtenidos para la capacidad antioxidante y fenoles totales de las repeticiones de la muestra nos permiten considerar que, posiblemente hubo errores en los procesos y manejo de las técnicas de elaboración de las bebidas y/o determinación de las variables de respuesta.

Respecto a la evaluación sensorial la formulación número 5 (correspondiente a 9% de café tostado molido, 0,5% de stevia y 0,5 de Hayo) presentó mayores puntajes respecto a las tres características fundamentales analizadas (aroma, sabor y apariencia), por lo tanto, esta fue sometida al análisis microbiológico y potencial antioxidante (fenoles totales y capacidad antioxidante).

La bebida seleccionada indicó un cumplimiento en cuanto a la normativa microbiológica nacional vigente dictada por el Instituto Nacional de Medicamentos y alimentos (INVIMA) respecto a este tipo de bebidas (recuento de microorganismo mesófilos  $\leq 3000$ , número más probable de coliformes totales  $< 3$ , número más probable de coliformes fecales  $< 3$ , recuento de mohos y levaduras  $\leq 100$ , recuento de *Staphylococcus coagulasa positiva*  $< 100$ ), de este modo se establece que bajo este parámetro indica que podría ser comercializada.

Se logró determinar los parámetros fisicoquímicos estipulados en este tipo de bebidas, sólidos solubles: 2%, pH: 4,0, acidez: 0,048 g de ácido/litro. La bebida evaluada posee un porcentaje mayor de sólidos solubles totales, que el mínimo establecido (1.1%) por las normas colombianas vigentes respecto a las bebidas de este tipo (NTC 4602-01 Y NTC 4602-02), de este modo se establece que bajo este parámetro indica que podría ser comercializada.

Se logró determinar los valores promedio, mínimos y máximos respecto a la cantidad de polifenoles totales en las formulaciones de la bebida seleccionada. El rango establecido para esta propiedad antioxidante fue (239,0 a 396,68 mg

equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida) y el valor promedio fue de 305,24 68 mg equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida.

Se logró determinar los valores promedio, mínimos y máximos respecto a la capacidad antioxidante en las formulaciones de la bebida seleccionada. El rango establecido para esta propiedad antioxidante fue (1205,02 a 2173,5 Trolox mmol/100 ml de bebida) y el valor promedio fue de 1611,94 Trolox mmol/100 ml de bebida.

Se encontró una relación entre la capacidad antioxidante de la bebida con la cantidad de fenoles totales en la misma. Pudo apreciarse una proporcionalidad directa en cuanto a estas dos características (4,2/1 para capacidad antioxidante y fenoles totales respectivamente).

Logró estandarizarse el proceso de elaboración de la bebida bajo la formulación ( 9% de café tostado molido, 0,5% de stevia y 0,5 de Hayo), la cual fue sensorialmente más aceptada, no se realizaron pruebas para determinar si la ingesta de la bebida podría causar o no algún tipo de afectación a la salud humana a corto, mediano o largo plazo, por dicha razón se aconseja realizar estas pruebas antes de distribuirse y/o consumirse la bebida.

Se encontraron grandes diferencias en cuanto al error absoluto de los valores obtenidos para la capacidad antioxidante y fenoles totales de las repeticiones de la muestra, respectivamente.

## 10. RECOMENDACIONES

De esta forma fomentar que en la universidad popular del cesar y en todo Colombia se realice más investigaciones acerca de las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y/o funcionales del hayo y todas las partes del árbol, teniendo en cuenta los beneficios que este podría aportar a la salud de las personas en compañía de otros componentes que aporte cambios en sabor y de soporte a sus contenido funcional.

Se recomienda estudiar más afondo sobre las propiedades de la bebida y el índice de nivel glicémico para determinar si es un producto apto para los diabéticos.

Debido a que el color de la bebida es poco llamativo, se recomienda utilizar diferentes métodos de clarificación para mejorar la apariencia y por consiguiente la aceptabilidad del producto.

Se debería crear normativas más específicas sobre la planta de hayo, en esta investigación se dificultó el estudio debido a no contar con normas de dicha referencia.

Se aconsejan realizar pruebas para determinar si la ingesta de la bebida podría causar o no algún tipo de afectación a la salud humana a corto, mediano o largo plazo, por dicha razón se aconseja realizar estas pruebas antes de distribuirse y/o consumirse la bebida.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agudelo, C., & Cardona, C. (2016). *DESARROLLO DE UNA BEBIDA COMPLETAMENTE NATURAL Y NUTRITIVA UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA ALOE VERA VARIEDAD BARBADENSIS MILLER CULTIVADA BAJO LOS PRINCIPIOS DE PRODUCCIÓN LIMPIA EN EL MUNICIPIO DE SANTA ROSA DE CABAL EN RISARALDA COLOMBIA*. Universidad Tecnológica de Pereira. Recuperado a partir de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7422/581192A282.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Angarita, A. (2018, junio). Las consecuencias de engañar a los consumidores. *Asuntos Legales*, pp. 6–9. Recuperado a partir de <https://www.asuntoslegales.com.co/analisis/annabelle-angarita-529131/las-consecuencias-de-enganar-a-los-consumidores-2738961>

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis., Methods 33.2.06, 33.2.11, 33.2.08, 33.2.10 and 37.1.15* (17th Editi). Gaithersburg, MD, USA.: The Association of Official Analytical Chemists.

Cabezas-Zabala, C., Hernández-Torres, B., & Vargas-Zárate, M. (2016). Azúcares adicionados a los alimentos: efectos en la salud y regulación mundial. Revisión de la literatura. *Rev. Fac. Med.*, 64(2), 19–29.

Calle-Alzar, S. (2011). *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales*. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Recuperado a partir de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/11148/PFC1.pdf>

Calle-Chumo, D., & Mendoza-San Martín, J. (2017). *Extracción de taninos de la borra de café mediante lixiviación soxhlet*. Univesidad de Guayaquil. Recuperado a partir de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18205/1/401-1220> - Extracción de Taninos de la borra de café mediante lixiviación soxhlet.pdf

- Camacha, I. (2017). *Diseño optimo de experimentos para modelos de mezclas aplicados en la ingeniería y las ciencias experimentales*. Universidad de Castilla- La Mancha.
- Chaves-Ulate, E., & Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Chlorogenic acids present in coffee: Antioxidant and antimicrobial capacity. *Agronomy Mesoamerican*, 30(1), 299–311. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>
- Contreras, E., & Purisaca, J. (2018). *Elaboracion de una bebida funcional a partir de Yacon (Smallanthus sonchifolius) y piña (Ananas comosus) endulzado con Stevia*. Universidad Nacional del Santa. Recuperado a partir de <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/3060/47077.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- CORFO-Chile. (2010). ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES: ¿QUÉ Y CÓMO SE DEBEN MEDIR? Recuperado a partir de <http://www.portalantioxidantes.com/analisis-de-antioxidantes/>
- Cristancho, J. (2015). *SQUASH, PRODUCTO CLAVE PARA LA INTERNACIONALIZACION DE POSTOBON EN ESPAÑA*. Universidad Pontificia Bolivariana.
- De Avila, N. (2017, agosto 7). Poporos y mochilas, símbolos de los indígenas de la Sierra. *Redaccion Regional*, pp. 1–3. Recuperado a partir de <https://www.elheraldo.co/cesar/poporos-y-mochilas-simbolos-de-los-indigenas-de-la-sierra-390239>
- Desmarchelier, C. ., & Ciccía, G. (1998). Antioxidantes de Origen Vegetal. *Asociación Ciencia Hoy*, 8(0327-1218), 32–44.
- FAO. (2007). Glosario de términos. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/vetdrugs/glossary/es/>
- Fórumcafé. (s. f.). *El PH del Cafe*.

- Fuchs-Tarlovsky, V., Rivera, M., KA, A., & Lopez-Alvarenga JC, C.-R. G. (2013). Antioxidant supplementation has a positive effect on oxidative stress and hematological toxicity during oncology treatment in cervical cancer patients. *Support Care Cancer*, 21(12), 59–63.
- Fuentes-berrio, L., & Acevedo-correa, D. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad Colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140–149. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(13\)140-149](https://doi.org/10.18684/BSAA(13)140-149)
- Fuentes, L., Acevedo, D., Chantré, C. A., & Gelvez, V. M. (2015). Alimentos Funcionales: Impacto Y retos Para El Desarrollo Y Bienestar De La Sociedad Colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(13\)140-149](https://doi.org/10.18684/bsaa(13)140-149)
- Gamarra Ochoa, V., Fuertes R, C., Chavez S, N., Contreras C, D., Goya S, E., Huamantumba B, K., ... Ruiz Pacco, G. (2018). Metabolitos en las hojas de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron y evaluacion de sus propiedades biologicas mediante bioensayos. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 2(4), 828. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2017.24.70>
- Gamarra, V. (2018). *Estudio de los alcaloides y flavonoides de las hojas de Erythroxylum coca Lam y Erythroxylum novogranatense (Morris) Hieron; y evaluación de su actividad antioxidante, antibacteriana, tóxica y citotóxica*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado a partir de [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7857/Gamarra\\_ov.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7857/Gamarra_ov.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Garcia, J., Enizarraraz, M., Sosa, M., Gomez, J., & Ceron, A. (2019). Caracterización colorimétrica y propiedades fisicoquímicas en bebidas a base de café soluble. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos Caracterización*, 4, 782–790.

- Gomez, C. (2018). La batalla empresarial por los alimentos saludables. En: consultado el 12 de noviembre de 2010). *Periódico Portafolio*.
- Gomez, C. K. (2017). Estudiantes crean infusión funcional con café. Recuperado a partir de <http://www.cienciamx.com/index.php/tecnologia/biotecnologia/12835-estudiantes-crean-infusion-funcional-con-cafe>
- Gonzalez-Villa, A. (2004). *Obtencion de aceites esenciales y extractos etanolicos de plantas del amazonas*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- González, D. L. N., Pérez, Y. V. T., & Núñez, W. E. R. (2016). Determination of polyphenols and antioxidant activity of polar extracts of comfrey (*Symphytum officinale* L). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 125–132.
- Hecimovic, I., Belscak-Cvitanovic, A., Horzic, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chem.*, 129(3), 991–1000.
- Hernandez, E. (2005). EVALUACION SENSORIAL.
- Hernández, F. (2004). Nutrientes esenciales en la práctica deportiva. *Cuadernos Psic Dep*, 4(1), 215–221.
- Huang, D. ., Ou, B. ., & Prior, R. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53(18), 41–56.
- INTERGRANO. (2018). La acidez del Cafe en la percepcion en boca. *Coffee consulting*, 14(N893-123), 59–59. Recuperado a partir de [https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/la\\_acidez\\_del\\_cafe.pdf](https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/la_acidez_del_cafe.pdf)
- Judith, M., Payán, G., López, R., Romero, D., Arredondo, M., Miguel, S., ... Ortega, O. N. (2015). Uso de la metodología del diseño por mezclas en el sector agrícola. *Cultura Científica y Tecnológica*, 12(55), 201–211.
- Krawczyk, S. (2008). EXAMEN DE FITOMEDICINA. *MONOGRAFÍA: LA HOJA DE*

COCA, 12(1), 5–15.

Lacayo, L. (2013). *FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA EN POLVO A BASE DE CAFÉ Y LECHE INCORPORANDO MATERIAS PRIMAS QUE POTENCIALIZAN EL SABOR DULCE Y LÁCTEO Y QUE PERMITEN LA DISMINUCIÓN DE AZÚCAR Y GRASAS EN COMPARACIÓN CON LA BEBIDA EXISTENTE EN EL MERCADO*. FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA EN POLVO A BASE DE CAFÉ Y LECHE INCORPORANDO MATERIAS PRIMAS QUE POTENCIALIZAN EL SABOR DULCE Y LÁCTEO Y QUE PERMITEN LA DISMINUCIÓN DE AZÚCAR Y GRASAS EN COMPARACIÓN CON LA BEBIDA EXISTENTE EN EL MERCADO.

Lemus-Mondaca, R. ., Vega-Gálvez, A. ., & Zura-Bravo, L. . (2012). Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132, 1121–1132.

Londoño, J., & Gil-Garzón, A. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), 90–115.

Londoño L., J., Naranjo C., M., & Quintero O., M. M. (2013). Study of the antioxidant activity changes of coffee beverages during its shelf life using in-vitro and ex-vivo methods. *Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, 20(2), 95–104.

Marin-Castillo, S. E., & Mejia-Castillo, C. M. (2012). *Extraccion de colorante a partir de la flor de jamaica*. Universidad Nacional de Ingeniería. Recuperado a partir de <http://ribuni.uni.edu.ni/619/1/37975.pdf>

Melendez, A., Rosas, M., & Rios, A. (2016). Determinación de la inocuidad de extractos de café. *Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada*, 23(3), 46–58.

- Miranda-Lopez, J. (2016). Incremento del recobrado de Ni y Co en la lixiviación carbonato-amoniaca. *Tecnología Química*, XXXVI(1), 49–68. <https://doi.org/10.1590/2224-6185.2016.1.%x>
- Morales de la Peña, M., Salvia, L., & Rojas, M. (2010). Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. *Food Science and Technology*, 43, 872–881. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.015>.
- Natella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C., & Scaccini, C. (2002). Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Agric Food Chem.*, 50(21), 6211–6264.
- OMCE. (2011). Guia de buean practica clinica en alimentos funcionales. *Organizacion Medica Colegial de España*, 13(1), 23–30.
- Ortega, J., Caballero, L., & Maldonado, L. (2014). Evaluación Del Rendimiento De La Extracción De Café Tostado Molido Comercial. *Alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 12(1), 40–47. <https://doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2014.923>
- PACS. (2018). Valores nutricionales de la coca. Recuperado a partir de [http://www.controlsocial.bo/respaldos\\_2/nutricion/files/nutritivo\\_hoja\\_de\\_coca.pdf](http://www.controlsocial.bo/respaldos_2/nutricion/files/nutritivo_hoja_de_coca.pdf)
- Perez, J., & Sandoval, C. (2012). *Formulacion de una bebida funcional con propiedades antioxidantes a base de toronja (Citrus paradisi, variedad Ruby Red) Que cumpla con la norma salvadoreña NSO 67.18.01:01Productos aliemtions. Bebida no carbonatada sin alcohol*. Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
- PILJAC-ŽEGARAC, J. ., VALEK, L. ., MARTINEZ, S. ., & BELŠČAK, A. (2009). Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry*, 113, 394–400.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.048>.

- Pineda, D.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 13(2), 104–111.
- Pita, G.; Cabrera, A.; Serrano, G.; Macías, C.; Hernández, M. (2000). Vitaminas antioxidantes en un grupo de adolescentes como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 14(2), 79–85.
- Ramirez, J., Garcia, C., & Cardenas, J. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista de Divulgacion Cientifica de la Universidad de Veracruzada*, 15(2).
- Reznick, A.; Cross, C. (2000). The antioxidant miracle: your complete plan for total health and healing. *Am J Clin NutrJ Clin Nutr*, 71(2), 604–605.
- Rojas, G. (2019). *EVALUACIÓN DE LA ACEPTACIÓN DEL CONCEPTO DE BEBIDAS FUNCIONALES A BASE DE ALOE VERA, SOYA Y TE VERDE PARA EL MERCADO DE CONSUMO MASIVO EN BOGOTÁ*. Universidad Pontificia Javeriana. Recuperado a partir de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/10762/RojasBabativaGinaPaola2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ruíz, N. (2005). Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros. *Revista Chilena de Nutricion*, 32(3), 191–199.
- Salamanca, G., Osorio, P., Leidy, T., & Montoya, M. (2010). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DE ALTO VALOR BIOLÓGICO A BASE DE BOROJO (Borojoa patinoi Cuatrec). *Rev Chil Nutr*, 37(2), 87–95. Recuperado a partir de <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v37n1/art09.pdf>
- Santander, M. (2013). *Elaboracion de una bebida con características funcionales basada en una mezcla de leche con la pulpa natural de una fruta regional andina: Tomate de arbol (Solanum betaceum (Cav.) Sendtn) como una*

- alternativa para el desarrollo agroindustrial del departa.* Universidad de Nariño.
- Scarpetta-Ramirez, L. . (2017). *Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de Erythroxylum coca en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia\**. Nasa-Valle del Cauca. Recuperado a partir de <https://pdfs.semanticscholar.org/bbd2/928ba6bbd926ca690278548d951006592986.pdf>
- Soto, M. (2018). *DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE STEVIA (Stevia rebaudiana B.) EN LA IRRIGACIÓN DE SANTA RITA DE SIGUAS - AREQUIPA.* UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA.
- Trigo-pérez, K., & Suárez-cunza, S. (2017). Evaluation of the effect of coca leaf powder consumption on bone turnover in postmenopausal women. *Kusy Trigo*, 63(4), 519–527.
- USDA. (2019). Composition of coffee grains. Recuperado a partir de <https://www.fas.usda.gov/commodities/coffee>
- Valencia, J., Pinzon, M., & Gutierrez, R. (2015). Caracterizacion Fisicoquimica Y Sensorial De Tazas De Café Producidas En El Departamento Del Quindío. *Revista de la Asociacion Colombiana de Ciencia y Tecnologia de Alimentos: Alimetnos hoy*, 23(36), 150–156.
- Villa, J.; Córdova, A.; González, J. (2000). *Nutrición del Deportista. (Primera Edición)*. España, Madrid.: Gymnos.
- Webb, G. (2007). *Complementos nutricionales y alimentos funcionales.* (1ª ed.). Zaragoza.: Acribia.
- Zamora S., J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 23. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>

## 12. ANEXOS

### 12. 1 Anexo 1. Formato de encuesta para el análisis sensorial.

Fecha:	Día	Mes	Año

#### UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR

#### ENCUESTA DE EVALUACION SENSORIAL DE UNA BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTE A PARTIR DEL SUSTRATO DE CAFÉ, HAYO Y STEVIA.

*Realizada por los estudiantes Liseth Strauch Gonzales y Diana E Ramírez Martínez con el propósito de optar el título de ingeniero agroindustrial.*

**Nombre y Apellido:** \_\_\_\_\_

**Programa académico:** \_\_\_\_\_

#### 1. Evalúe iniciando cuanto le gustan o le desagradan los siguientes atributos del producto.

DESCRIPCION:	Valor
Me gusta muchísimo.	5
Me gusta mucho	4
Ni me gusta, ni me disgusta	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta muchísimo	1

Características	Muestras				
	M1	M2	M3	M4	M5
COLOR					
APARIENCIA					
SABOR					
TEXTURA					

**2. Considerando todas las características del producto indique su grado medio de aceptación.**

Me desagrada mucho. 1  
 No me gusta, ni me disgusta. 2  
 Me gusta mucho. 3

Muestra	Grado de aceptación
M1	
M2	
M3	
M4	
M5	


**3. ¿Consumes usted bebidas ricas en antioxidantes?**

Si  No

**4. ¿Conoce usted de algún producto hecho a base del sustrato del café, hayo y Stevia?**

Si  No

## 12.2 Anexo 2: Informe de resultados microbiológicos de la bebida

	<b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE MUESTRAS DE ALIMENTOS</b>	Código    LSPC-IDR-EDI-FOR-MBAL-001
	<b>GOBERNACIÓN DEL CESAR</b>	<b>LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA</b>

IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	
REMITIDO POR: LIZETH STRAUCH, ESTUDIANTE UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	CONTROL DE MUESTRA N°: 2019-0483-R2
N° DE MUESTRAS RECIBIDAS: 1	FECHA DE RECIBO: 2019-11-12
CANTIDAD RECIBIDA: 355 ml	FECHA DE TOMA DE MUESTRA: 2019-11-12
DIRECCION DE TOMA DE MUESTRA: TRAIDO POR EL SOLICITANTE.	FECHA DE ANALISIS: 2019-11-13
DEPARTAMENTO: CESAR	MUNICIPIO: VALLEDUPAR
CORREO ELECTRONICO:	

ROTULACION	
NOMBRE DEL PRODUCTO:	BEBIDA DE HAYO, CAFÉ Y ESTEVIA (R 2)
EMPRESA FABRICANTE:	NA
DIRECCION:	NA
REGISTRO SANITARIO:	NA
FECHA DE VENCIMIENTO:	NA
CODIGO O NUMERO DE LOTE:	NA
CONTENIDO DECLARADO:	NA

ENVASE Y ACONDICIONAMIENTO
Recipiente estéril de vidrio, Temperatura 25°C

ENSAYO MICROBIOLÓGICO	DOCUMENTO NORMATIVO	F.E.E	RESULTADO	**ESPECIFICACIONES
MÉTODO HORIZONTAL PARA EL RECuento DE MICROORGANISMOS MESOFÍLOS.	ISO 4853-1:2012	2019-11-13	MEJOR DE 10 UFC/ml	-
NMP DE COLIFORMES TOTALES EN ALIMENTOS	CMSP (COMISO) INTERNACIONAL DE ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA LOS ALIMENTOS.	2019-11-13	MEJOR DE 2 / ml	-
NMP DE COLIFORMES FECALES EN ALIMENTOS	CMSP (COMISO) INTERNACIONAL DE ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS PARA LOS ALIMENTOS.	2019-11-13	MEJOR DE 1 / ml	-
MÉTODO HORIZONTAL PARA RECuento ESTAFILOCOCCOS COAGULASA POSITIVA.	ISO 6888-1:1999/AMD 1:2003 (E)	2019-11-13	MEJOR DE 100 UFC/ml	-
RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS.	ICMSF	2019-11-13	MEJOR DE 10 UFC/gw	-

\*\*Según la norma: (ESTUDIO) SOLICITUD DE LA PARTE INTERESADA.  
F.E.E: Fecha de Ejecución de Ensayo

**CONCLUSIONES:**  
Para la muestra del producto recibida y analizada en el laboratorio, NO SE EMITE CONCEPTO. Proyecto de investigación, parámetros solicitados por la parte interesada.

Fecha del Informe: 2019-11-21

  
Analista de Microbiología LSP

  
Validado por LSP Técnico LSP  
Profesional Universitario

### 12. 3 Anexo 3: Informe de resultados del Contenido proteico de la bebida

**Laboratorios Nancy Flórez García S.A.S**  
Calle 10 No. 13 B 32 Obrero  
Nº B24.005 636-0

COD: RD-104 Ver. 08 del 17 de Agosto de 2018

**CERTIFICADO DE ANALISIS**  
Nº 28396

<b>INFORMACIÓN DEL CLIENTE</b>		<b>NET</b> : 1055810897	
EMPRESA	: LILETH STRAUCH GONZALEZ	CIUDAD	: VALLEDUPAR
DIRECCIÓN	: CARRETA 10 N 13 B 32 OBRERO	TELÉFONO	: 3182650271
CONTACTO	: LILETH STRAUCH		
CARGO	: ESTUDIANTE		

<b>INFORMACIÓN DE LA MUESTRA</b>		<b>HORA MUESTRA</b> : 03:00	
NOMBRE	: BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTE	MUESTREO	: 2019/11/18
LUGAR DE MUESTREO	: UPC	RECEPCIÓN	: 2019/11/18
PUNTO DE MUESTREO	: CIDE	INICIO ENSAYOS	: 2019/11/27
TIPO DE MUESTRA	: SIMPLE	FINAL ENSAYOS	: 2019/11/28
PLAN DE MUESTREO	: N.S	INFORME	: 2019/11/30
PROC. DE MUESTREO	: N.S		
	CODIGO : 191153100		
	LOTE : N.A		
	REGISTRO INVERNA : N.A		

ANÁLISIS	Fisicoquímico		LCM	FECHA ANÁLISIS	RESULTADO
	MÉTODO - TÉCNICA				
Proteína g/100g	Agenda - volumétrica		-	2019/11/27	0,048

**NOTA :**  
Muestra tomada y traída al laboratorio por el cliente.

N.A: No Aplica      N.S: No Suministrada  
(A): Acreditada      (S): Subcontratado      (LCM): Límite de cuantificación del método  
Todo resultado del laboratorio está respaldado por una marca que verifica su autenticidad.  
Resultado no controlado una vez entregado al cliente.  
El resultado aplica únicamente a la muestra recibida y analizada.  
No se permite la reproducción parcial de este documento sin autorización expresa del laboratorio.  
Cuando en cualquier momento se solicite el origen de los reactivos, indicar que el laboratorio subcontratado por la ha suministrado en el certificado de análisis entregado.  
Para los ensayos microbiológicos y DBO, la fecha de análisis corresponde a la fecha de inicio de los mismos. La fecha de finalización cumple en cada caso los tiempos establecidos en el método.  
Laboratorio Acreditado por el IDEAM según Resolución N° 0398 de 02 de mayo 2018 por la cual se renueva y se extiende la acreditación al LABORATORIO AMBIENTAL Y DE ALIMENTOS NANCY FLOREZ GARCIA de la SOCIEDAD LABORATORIOS NANCY FLOREZ GARCIA SAS, para producir información cuantitativa, física, química y biológica para los estudios de análisis ambientales requeridos por las autoridades ambientales competentes y de carácter oficial, relacionada con la calidad del medio ambiente y de los recursos naturales renovables.

**APROBO**  
*Gipsy Abel Dora Penabaz*  
\_\_\_\_\_  
GIPSY PEÑA  
Tº: 303.764.30  
Jefe Fisicoquímica  
Fin de Informe

Página 1 de 1

Teléfonos: (5)5842072 Fax:5703920-3145060908 E-mail: catlial.amb@fabornancyflorez.com.co  
Carrera 15No. 13C - 72 Esquina - Valledupar

PREPARACIÓN DE UNA BEBIDA RICA EN ANTIOXIDANTES A BASE DEL  
SUSTRATO COFFEA ARABICA (CAFÉ), ERYTHROXYLUM COCA  
(HAYO) Y STEVIA REBAUDIANA BERTONI (STEVIA)

PREPARATION OF A DRINK RICH IN ANTIOXIDANTS BASED ON SUBSTRATE  
COFFEA ARABICA (COFFEE), ERYTHROXYLUM COCA (HAYO) AND STEVIA  
REBAUDIANA BERTONI (STEVIA)

*Diana Estefanía Ramírez Martínez<sup>(1)</sup>, Liseth Strauch González<sup>(2)</sup>*

<sup>(1)(2)</sup> Ingeniero Agroindustrial, Universidad Popular del Cesar (UPC), Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Valledupar, Colombia. [dianaestefani11@hotmail.com](mailto:dianaestefani11@hotmail.com) , [liche\\_gonzalez@hotmail.com](mailto:liche_gonzalez@hotmail.com)

---

**RESUMEN**

El objetivo principal de este trabajo fue elaborar una bebida rica en antioxidantes a base del sustrato coffea arabica (café), erythroxyllum coca (hayo) y stevia rebaudiana bertonii (Stevia) utilizando el método de extracción por lixiviación (sólido - líquido). Una vez obtenidos los extractos se procedió a estandarizar la bebida a base de los sustratos de café, hayo, Stevia. Las concentraciones de las materias primas principales fueron realizadas deliberadamente, que constó de 5 muestras a diferentes concentraciones de la bebida de café, hayo y stevia. La selección de la bebida fue realizada basado en la prueba sensorial por los consumidores. Los resultados arrojados mostraron que la mezcla que obtuvo mayor aceptación organoléptica fue la formulación número 5 (correspondiente a 9% de café tostado molido, 0,5% de Stevia y 0,5 de Hayo) presentó mayores puntajes respecto a las tres características fundamentales analizadas (aroma, sabor y apariencia). Durante la experimentación se manipularon dos (2) variables de respuesta (fenoles totales y capacidad antioxidante). Al cual se le empleó un diseño de mezclas con tres (3) factores experimentales (porcentaje de café, hayo y Stevia en la muestra), los datos obtenidos fueron evaluados con el software Statgraphics y se le realizaron pruebas fisicoquímicas, análisis microbiológicos a la bebida seleccionada. Los datos anteriores permiten tener en cuenta al hayo como una alternativa para la producción de bebidas y otros productos dirigido al consumo humano.

**Palabras claves:** café, hayo, antioxidante, Stevia y extracción (lixiviación).

---

**ABSTRACT**

The main objective of this work was to make a drink rich in antioxidants based on the substrate coffea arabica (coffee), erythroxyllum coca (beech) and stevia rebaudiana bertonii (Stevia) using the leaching extraction method (solid-liquid), once obtained the extracts proceeded to standardize the drink based on the substrates of coffee, hay, Stevia. The concentrations of the main raw materials were deliberately carried out, which consisted of 5 samples at different concentrations of the coffee, beech and stevia drink. The selection of the drink was made based on sensory testing by consumers. The results shown showed that the mixture that obtained the greatest organoleptic acceptance was formulation number 5 (corresponding to 9% of roasted ground coffee, 0.5% of Stevia and 0.5 of Hayo) presented higher scores with respect to the three fundamental characteristics analyzed (aroma, flavor and appearance), During the experimentation two (2) response variables were manipulated (total phenols and antioxidant capacity). To which a mixture design with three (3) experimental factors (percentage of coffee, hay and Stevia in the sample) was used, the data obtained was evaluated with the Statgraphics software and physicochemical tests, microbiological analysis of the drink were performed. selected. The above data allows to take into account the hayo as an alternative for the production of beverages and other products intended for human consumption.

**Keywords:** coffee, beech, antioxidant, Stevia and extraction (leaching).

## 1. INTRODUCCIÓN

La nutrición, es uno de los temas más abordados en las últimas décadas, son innumerables las investigaciones que constantemente se hacen sobre ella (Londoño & Gil-Garzón, 2012). Las prioridades ya no se encuentran centradas en las carencias nutricionales; el interés actual radica en la relación entre alimentación y enfermedades, (Londoño & Gil-Garzón, 2012), considerando los efectos de la nutrición sobre desarrollo de inmunidad, crecimiento, composición corporal, y otros beneficios que se busca mediante la alimentación saludable. Los consumidores, conscientes de sus necesidades buscan en el mercado aquellos productos que contribuyan a su salud y bienestar, en especial aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad.

El Ministerio de la Protección Social Colombiano, determina que, para que un alimento pueda denominarse rico en antioxidantes necesita articularse a la Resolución 333 del 2011 que es “por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado nutricional que deben cumplir los alimentos envasados para consumo humano (Fuentes-berrio & Acevedo-correa, 2015).

El café, es un estimulante del sistema nervioso central y contiene propiedades diuréticas, antioxidantes, aumenta la efectividad de los analgésicos, entre otros beneficios (C. K. Gomez, 2017).

## 2. METODOLOGIA

Los principales componentes para la bebida elaborada (café, hayo y Stevia), fueron

El café es abundante en compuestos fenólicos como ácido clorogénico, cafeico y melanoidinas, de efectos antioxidantes o antimutagénicos demostrados in vitro. (Maydata, 2002). El hayo, es mezcla de hojas de coca y sales calizas o de sosa y a veces ceniza, en infusión como estimulante nervioso y de ellas se extrae la cocaína. (C. K. Gomez, 2017).

Las hojas de la Stevia, conocida como *hierba dulce*, se pueden utilizar para endulzar batidos, helados, postres y dulces de todo tipo como bizcochos, magdalenas, tartas, de igual modo en infusiones de té, café, etc. (C. K. Gomez, 2017). El estudio y las investigaciones encaminadas al desarrollo de nuevos productos que aprovechen los recursos existentes en la zona, permitirán satisfacer las demandas de un mercado que cada vez se vuelve más exigente a la hora de elegir lo que va a consumir. La presente investigación, combinó lo tradicional con técnicas para la elaboración, conservación y desarrollo de nuevos productos. La importancia de investigar y tener una nueva alternativa para el consumo del Café, el hayo, y la Stevia, radica en aprovechar de mejor manera todos los beneficios y aportes nutricionales que nos brindan estas plantas. Además de manera indirecta se contribuye y fomenta a la producción e industrialización del café, el hayo, y la Stevia, en nuestra región.

---

obtenidos de dos fuentes, el café y el hayo fueron suministrados por el Resguardo Indígena Kankuamo, Atánquez; Se obtuvo un (1) kilogramo de hojas de hayo (*Erythroxylum Coca*) y quinientos (500) gramos de café (*Coffea Arabica*). La Stevia

(*Stevia Rebaudiana Bertoni*), en donde se procedió a la elaboración de la bebida para la evaluación de la prueba sensorial por los consumidores, se elaboró cinco (5) formulaciones diferentes con distintas concentraciones las cuales fueron escogidas deliberadamente. Se realizó una encuesta a 35 personas con el objetivo de determinar, por parte de ellos, mediante evaluaciones sensoriales, cuál de las cinco (5) formulaciones elaboradas era la más aceptada en términos organolépticos (aroma, color y sabor). A la bebida con mayor aceptabilidad se le aplicaron las pruebas fisicoquímicas, microbiológicas, de capacidad antioxidante y fenoles totales, las otras cuatro formulaciones de la bebida fueron descartadas.

### **2.1. Diseño de investigación**

La selección de la bebida fue realizada basado en la prueba sensorial por los consumidores. Posteriormente, se empleó un diseño de mezclas con tres (3) factores experimentales (porcentaje de café, hajo y Stevia en la muestra), el diseño arrojó en total ocho (8) repeticiones. Durante la experimentación se manipularon dos (2) variables de respuesta (fenoles totales y capacidad antioxidante). Este tipo de diseño experimental no posee niveles independientes, ya que, los factores son los componentes o ingredientes de la mezcla (Camacha, 2017; Judith et al., 2015). El análisis de resultados se desarrolló mediante la utilización del software Statgraphics Centurión XVI.I® y se aplicó un Análisis de Varianza (ANDEVA) seguido de la prueba de Rangos Múltiples (LSD de Fisher) a los resultados obtenidos para verificar si había diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

### **2.2. Obtención del extracto de los componentes principales.**

Extracto de hajo: Luego que las hojas de hajo fueron trituradas, estas, se llevaron a un balón, que contenía una determinada cantidad de solvente (alcohol al 96 % etanol) sometido a baño de maría a 55 °C, para llevar a cabo el método extracción por lixiviación sólido-líquido. La relación solvente-hojas de hajo utilizada fue 10:1. De este modo por cada litro de alcohol se adicionaron 100 gramos de hojas de hajo. Este proceso tardó 3 horas posterior a la adición de las hojas trituradas, luego, se filtró la mezcla en un Beaker utilizando papel filtro de listers de algodón la solución líquida contenida en el recipiente fue llevada a un rotavapor por 50 minutos, a una temperatura de 78°C para que, mediante una destilación al vacío, se evaporara de manera rápida el alcohol etanol contenido en la solución utilizado en el proceso anterior como solvente, obteniendo así, el extracto de hojas de hajo.

Café: se obtuvo por medio de una infusión, se tomaron 8 gramos de café en 115 ml de agua se sometió a una temperatura constante de 92°C por tres (3) minutos, finalizo filtrando el contenido y la stevia no fue necesario aplicarle ningún tipo de extracción.

### **2.3. Elaboración de las bebidas.**

Las concentraciones de las materias primas principales fueron realizadas deliberadamente En total 5 bebidas fueron elaboradas con diferentes concentraciones peso/volumen de café, extracto de hajo y Stevia (Kg materia prima/L agua),

### 2.1. Determinación de parámetros fisicoquímicos y bromatológicos en pulpa de *Solanum lycopersicum*.

Esto se llevó a cabo con el fin de conocer las características de la bebida seleccionada.

**pH.** Se evaluó por lectura directa de una muestra homogenizada empleando un potenciómetro digital OHAUS-STARTER 3100, previamente calibrado.

**Acidez titulable.** Se evaluó a partir de una mezcla homogénea de agua destilada y pulpa de tomate en una relación 1:1, con la adición de fenolftaleína por titulación con NaOH 0,1 N hasta un viraje ligeramente rosado, expresando el resultado en % de ácido cítrico.

**Contenido proteico.** El contenido de proteína cruda se obtuvo multiplicando el contenido de nitrógeno determinado por el método Kjeldahl, por el factor de transformación en proteína, 6.25 para este caso. Todos estos parámetros se realizaron mediante el método AOAC 920.87.

**Sólidos solubles.** Se evaluó con un refractómetro digital ATAGO PAL-1, utilizando para este análisis la bebida seleccionada y luego procediendo a leer directamente sobre la escala del porcentaje de azúcar, expresando el resultado en °Brix.

### 2.2. Determinación de Evaluación microbiológica de las bebidas.

Tomando como referencia los requerimientos en bebidas de esta índole, estipulados por el INVIMA (Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos) para mezclas de consumo directo, donde se precisan los criterios microbiológicos para este tipo de bebidas, los cuales se muestran en la siguiente.

Tabla 1. .Requerimientos microbiológicos, de bebidas de consumo directos como las de café. Tomado de INVIMA.

REQUISITO	m
Recuento de microorganismos Mesófilos	≤30000
NMP Coliformes Totales	<3
NMP Coliformes Fecales	<3
Recuento de mohos y levaduras	≤100
Recuento Staphylococcus coagulasa positivo	<100

### 2.3. Determinación de capacidad antioxidante y fenoles totales.

La capacidad antioxidante de la bebida seleccionada se determinó mediante espectrofotometría utilizando el método DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidracil) y La determinación de fenoles totales de la bebida se determinó mediante espectrofotometría utilizando el método Folin-Ciocalteu

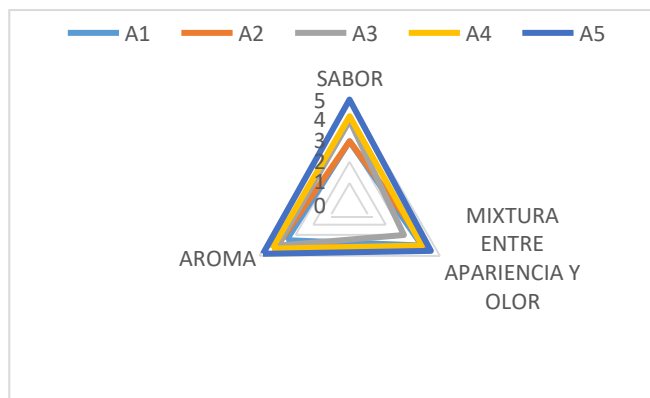
### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Prueba de evaluación

La encuesta fue realizada a 35 personas, principalmente para la escogencia de 1 bebida. Esta se realizó respecto a la formulación de las 5 bebidas, presento un rango de 4 opciones, las cuales, presentaban una descripción sencilla para los degustadores, estos eran personas sin ninguna experimentación en el área de la degustación, profesionalmente hablando. Teniendo en cuenta los datos obtenidos solo se tomaron como determinantes esenciales dos criterios, estos fueron:

- Calificación de las características de las bebidas (en una escala de 1 a 5, siendo 5 el valor óptimo y 1 el menor valor de la escala respecto a sus características). Estas características fueron: sabor, aroma y apariencia-color.
- Aceptación de la bebida de manera general (se tuvo en cuenta la conglomeración de las tres características antes mencionadas).

A continuación, se reflejan mediante el uso de un diagrama triangular la representación gráfica de los datos obtenidos.



*Figura 1 .Diagrama triangular de medición de aceptabilidad de las formulaciones de las bebidas.*

De acuerdo a la figura la mezcla seleccionada correspondió a la bebida con una formulación de 9% de café, 0,5% de extracto de hajo y 0,5% de Stevia. Esta determinación se realizó de manera deliberada tomando únicamente como base la escala de la encuesta (de 1 a 5, siendo 5 el valor óptimo y 1, el menor valor de la escala respecto a sus características).

#### 3.2. Análisis de las propiedades fisicoquímicas

Este análisis se realizó con el fin de establecer la calidad y las propiedades de la bebida seleccionada.

**Tabla 2.** *Propiedades fisicoquímicas de la bebida seleccionada*

Parámetros	Bebida seleccionada
Acidez titulable (%Ácido cítrico)	0,0448 g/litro
Proteína (%)	0.048
Solidos solubles totales (°Brix)	2
pH	4.0

Fuente: Autores, (2020)

**Determinación del pH y acidez titulable.**

El pH obtenido (4.0) y una acidez de (0.0448). la literatura aconseja que el pH y el contenido de acidez promedio de una bebida con altos contenidos de café han de situarse en torno al 5,0 y 0,011%, respectivamente (García et al., 2019). Los mismos autores obtuvieron un rango para el pH en infusiones de café de (4,96-5,24) y para acidez titulable de (0,010-0,018 g/L) tomando como bases dos especies de café más comunes (arábiga y robusta). Diversas normas como la Norma Técnica Colombiana (NTC 4602-2) estipula el rango óptimo de pH para una bebida a base de café de alta calidad (4,9-5,2), un pH menor de 4,9 el café adquiere sabor demasiado ácido, y con pH 5,2 es más amargo (Valencia, Pinzon, & Gutierrez, 2015). El no acople a los rangos establecidos (pH promedio de 4.0 y acidez promedio de 0,0448 g/litro) se debe posiblemente al tiempo de tuestión. El tiempo de tuestión es directamente proporcional al decrecimiento en la acidez del grano, afectando el producto final (INTERGRANO, 2018). Debido a que el café fue donado por parte del Resguardo Indígena Kankuamo, Atanquez, dicho Resguardo Indígena puede presumirse, posiblemente, un inapropiado manejo de las variables en proceso de tuestión del mismo.

**Contenido proteico.**

Se obtuvo un resultado de 0.048(%), en la cual se evidencia un bajo porcentaje proteico en la bebida, esto se debe posiblemente al bajo contenido proteico de los componentes principales de la bebida, por ejemplo, el café solo posee un aproximado de (0,12%) de estas macromoléculas (USDA, 2019). El mayor aporte proteico resultaría ser el Hayo, siendo aproximadamente un 18,9% (PACS,

2018), pero debido a la baja concentración de extracto en la formulación (1% del total de la formulación de la bebida), no resultaría ser un aporte proteico esencial para la misma.

**Sólidos solubles.** Con respecto al contenido en sólidos solubles totales, el valor mostrado para la bebida que fue de 2°Brix. Conforme a lo establecido en diversas normas y requerimientos, como el caso de las Normas Técnicas Colombianas, NTC 4602-01 (Determinación del rendimiento de la extracción y de los sólidos solubles en la bebida de café. Parte 1: Método por goteo) y NTC 4602-02 (Determinación del rendimiento de la extracción y de los sólidos solubles en la bebida de café. Parte 2: Método por contacto directo), el porcentaje mínimo establecido respecto al porcentaje de sólidos solubles totales contenidos en bebidas que poseen café como uno de sus principales componentes resulta ser de 1,1%, de este modo, el obtener un porcentaje superior a este margen indica que, se estaría cumpliendo por lo establecido por la norma respecto al contenido mínimo exigido de sólidos solubles totales en la bebida. La obtención de un porcentaje mayor que el mínimo establecido por las normas antes mencionadas puede explicarse posiblemente al alto porcentaje de café contenido en la bebida (9.5%). También se puede destacar que, en otras investigaciones, como la realizada por (Ortega, Caballero, & Maldonado, 2014), el dato promedio obtenido de esta propiedad fisicoquímica se acopla al rango de los datos obtenidos de estos investigadores (1,9%-3,6%).

### 3.3. Evaluación microbiológica de la bebida seleccionada.

Luego del análisis de las pruebas anteriores resultando la mejor bebida, por los criterios ya expuestos, la bebida número 5, cuya formulación fue: 9%, 0.5% y 0.5% de café,

hayo y Stevia respectivamente. Los resultados obtenidos se muestran a continuación,

**Tabla 3.** Valores obtenidos en evaluación microbiológica

Parámetros	Documento normativo	Temperatura	Máximo UFC/ml permitido (INVIMA)	Resultados UFC/ml
Mohos y levadura	ICMSF	28°C	≤100	Menor de 10 UFC/ML
NMP de coliformes totales	ICMSF	28°C	<3	Menor de 3 UFC/ml
NMP de coliformes fecales en alimentos.	ICMSF	28°C	<3	Menor de 3 UFC/ml
Microorganismos mesófilos.	ISO 4833-1:2013	28°C	≤30000	Menor de 10 UFC/ML
Método horizontal para recuento estafilococos coagulasa positiva.	ISO 6888-1:1999/AMD. 1:2003(3).	28°C	<100	Menor de 100 UFC/ML

Fuente: Autores, (2020)

Algunos autores obtuvieron valores semejantes a los obtenidos en la investigación, como lo es el caso de (Melendez, Rosas, & Rios, 2016), los cuales, obtuvieron 6 UFC/ml par mohos y levaduras, otros como (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019) obtuvieron valores muy parecidos a los obtenidos para NPM de coliformes totales, fecales y microorganismos mesófilos (menor de 5, 5

y 20 UFC/ml, respectivamente). Tomando como base los requerimientos microbiológicos reflejados en la tabla 2, para bebidas de esta índole (bebidas con mezclas de consumo directo), estipulados por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), ente regulador de alimentos y Medicamentos en Colombia, es de aclararse que, la bebida cumple con los mismos.

### 3.4. Determinación de la capacidad antioxidante y los fenoles totales.

Es de considerar que el diseño experimental para estas condiciones arrojó en total 8 repeticiones de la bebida seleccionada, Para la cuantificación del Contenido de Fenoles Totales (CFT) se utilizó el método colorimétrico Folin-ciocalteu (Singleton y

Rossi, 1965) con algunas modificaciones. En el caso de la capacidad antioxidante, se determinó por el método del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazilo) (Brand-williams, Cuvelier, & Berset, 1995) con algunas modificaciones. Los resultados se expresan como mg/100 ml de bebida para el caso de los fenoles totales y trolox mmol/

100 ml para capacidad antioxidante. Los valores obtenidos se expresan a continuación,

Repeti ciones	Capacidad antioxidante	Fenoles totales
	Trolox mmol/ 100 ml <sup>1</sup>	mg/100 ml de bebida
1	1205,02	304,77
2	1883,60	333,26
3	1480,00	239,00
4	2173,50	302,39
5	1514,00	396,68
6	1570,00	257,50
7	1529,40	358,47
8	1540,00	249,80

**Tabla 4. Resultados Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales.**

Todos los datos fueron analizados con el software Statgraphics Centurion XVII.I. A los datos obtenidos se les aplicó un análisis de varianza ANOVA con una confianza del 95%. Se encontró que hay pocas diferencias significativas estadísticamente (Valor-P > 0.05) en los resultados de la Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales. Se puede observar que los rangos para la capacidad antioxidante y fenoles totales fueron, 1205,02 a 2173,5 Trolox mmol/100 ml y 239,0 a 396,68 mg equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida, respectivamente. Esto puede indicar posibles errores en las técnicas de elaboración de las bebidas y/o determinación de la capacidad antioxidante y fenoles totales, sin embargo, los datos obtenidos se encuentran dentro del rango establecidos por diversos autores los cuales también aplicaron replicas a muestras con concentraciones similares como las

realizadas (Londoño et al., 2013; Natella et al., 2002). Los valores del error absoluto determinados respecto a los valores obtenidos para cada característica (capacidad antioxidante y fenoles totales) se muestran a continuación:

Capacidad antioxidante:

Margen error absoluto ( $X \pm \epsilon_a$ ):  
1661,95  $\pm$  208,305 Trolox mmol/ 100 ml.

Fenoles totales:

Margen error absoluto ( $X \pm \epsilon_a$ ): 305,23  $\pm$  43,18 mg/100 ml de bebida.

En las tablas 5 y 6 se muestra el resumen de los datos del análisis de varianza para Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:% Café en la bebida	546,647	1	546,647	4,11	0,2917
B:% Hajo en la bebida	14427,1	1	14427,1	108,53	0,0609
C:% Stevia en la bebida	471,706	1	471,706	3,55	0,3107
AB	816,282	1	816,282	6,14	0,2442
AC	1392,6	1	1392,6	10,48	0,1908
BC	3941,39	1	3941,39	29,65	0,1156
Error total	132,927	1	132,927		
Total (corr.)	21728,6	7			

**Tabla 5 Análisis de Varianza para Fenoles Totales.**

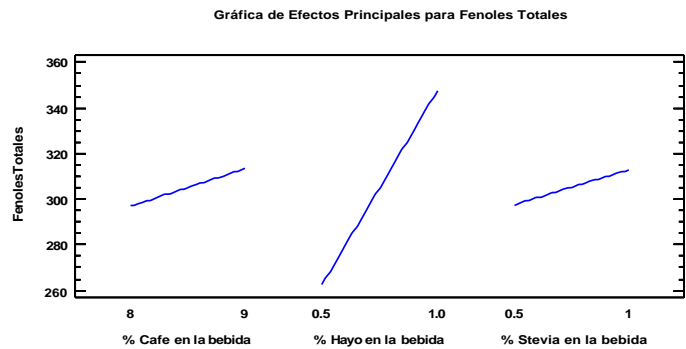
R-cuadrada = 99,3882 por ciento  
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 95,7177 por ciento  
Error estándar del est. = 11,5294  
Error absoluto medio = 4,07625  
Estadístico Durbin-Watson = 2,5  
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,375

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F
A:% Café en la bebida	33732,4	1	33732,4	18,84
B:% Hajo en la bebida	213035,	1	213035,	118,99
C:% Stevia en la bebida	62785,5	1	62785,5	35,07
AB	108,929	1	108,929	0,06
AC	66663,6	1	66663,6	37,23
BC	217365,	1	217365,	121,40
Error total	1790,41	1	1790,41	
Total (corr.)	595480,	7		

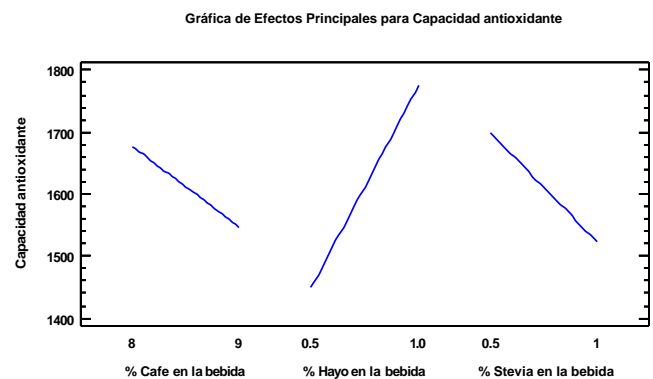
**Tabla 6. Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante.**

R-cuadrada = 99,6993 por ciento  
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 97,8953 por ciento  
Error estándar del est. = 42,3133  
Error absoluto medio = 14,96  
Estadístico Durbin-Watson = 2,5  
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,375

Se observa que los valores obtenidos son no significativos. Los valores respecto al R-cuadrada (ajustada por g.l.), para ambos casos, fue muy próximo al valor límite(100 %), esto indica una alta extensión de la varianza en las variables dependientes (% de café, % de hajo y % de Stevia), las cuales pueden ser explicadas por las variables independientes (Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales). De esta manera se considera que la proporción de cada materia prima en las muestras modifica los valores obtenidos de capacidad antioxidante y fenoles totales.



**Figura 2. Grafica de efectos principales para Fenoles Totales**



**Figura 3. Grafica de Efectos Principales para Capacidad Antioxidante.**

Si se observan las gráficas de efectos principales (graficas 1 y 2), puede inferirse que, en los casos cuando la concentración de Hajo aumenta en la formulación en la bebida, se observa un incremento en la capacidad antioxidante y en la cantidad total de Fenoles es la misma. Ocurre, de igual modo, la misma proporcionalidad con los contenidos de café y Stevia en la muestra respecto al aumento de fenoles totales, sin embargo, no en la misma proporción como ocurre con el hajo. Si se aprecia la gráfica 2 puede evidenciarse el mismo fenómeno antes mencionado (el contenido presenta una proporcionalidad directa respecto a la capacidad antioxidante), sin embargo, se refleja que la a medida que se incrementa el

contenido de Stevia y Café la capacidad antioxidante decrecería.

La variación respecto al contenido de fenoles totales y en la capacidad antioxidante de las muestras puede estar ligado a diversos factores, tales como el origen geográfico de las muestras, los procesos realizados para su obtención (procesos de tostado y molienda, en el caso del café) o en el tipo de procedimientos realizados para la elaboración de las bebidas (Hecimovic et al., 2011).

caso de la capacidad antioxidante la mezcla de los dos componentes que mayormente potencializaría esta característica en la bebida resultaría ser la de Stevia y Hayo, mientras que, aunque en el contenido de fenoles se evidencia que es la misma mezcla no es tan significativo como lo es el caso de la capacidad antioxidante. La mezcla menos aportante sería la de Stevia y Café para ambos casos. Podría inferirse entonces, que el Hayo en la bebida cumple un papel radical como aportante antioxidante principal en la bebida.

Los resultados obtenidos pueden ser contrastados con la afirmación de diversos autores, los cuales, expresan que el contenido de fenoles totales en bebidas de este tipo puede variar entre 200 a 550 mg/100 ml (Natella et al., 2002), de este modo, puede apreciarse que los valores obtenidos, efectivamente, están inmersos entre dicho rango. Se puede encontrar una gran similitud en el rango obtenido respecto a la capacidad antioxidante (1205,02 a 2173,5 Trolox mmol/ 100 ml) en varias investigaciones de esta misma índole, como el caso de (Londoño et al., 2013) los cuales obtuvieron un rango similar (1250,5 a 2350,8 Trolox mmol/ 100 ml).

bebida seleccionada. El rango establecido para esta propiedad antioxidante fue (1205,02 a 2173,5 Trolox mmol/100 ml de bebida) y el valor promedio fue de 1611,94 Trolox mmol/100 ml de bebida.

Se encontró una relación entre la capacidad antioxidante de la bebida con la cantidad de fenoles totales en la misma. Pudo apreciarse una proporcionalidad directa en cuanto a estas dos características (4,2/1 para capacidad antioxidante y fenoles totales respectivamente).

Logró estandarizarse el proceso de elaboración de la bebida bajo la formulación ( 9% de café tostado molido, 0,5% de Stevia

Diagrama de Pareto Estandarizada para Capacidad antioxidante

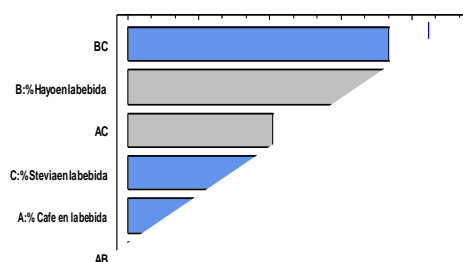


Figura 4. Diagrama de Pareto Estandarizado para Capacidad Antioxidante.

Diagrama de Pareto Estandarizada para Fenoles Totales

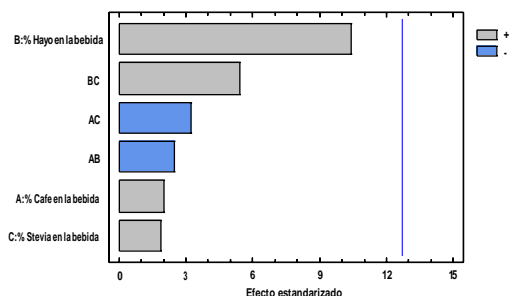


Figura 5. Diagrama de Pareto estandarizado para Fenoles Totales.

Los diagramas de Pareto representados en las figuras 3 y 4 reflejan la importancia de cada componente de la mezcla, de manera individual y colectiva respecto a la capacidad antioxidante y los fenoles totales de la bebida. Ha de evidenciarse que en el

y 0,5 de Hayo), la cual fue sensorialmente más aceptada, no se realizaron pruebas para determinar si la ingesta de la bebida podría causar o no algún tipo de afectación a la salud humana a corto, mediano o largo plazo, por dicha razón se aconseja realizar estas pruebas antes de distribuirse y/o consumirse la bebida.

Se encontraron grandes diferencias en cuanto al error absoluto de los valores obtenidos para la capacidad antioxidante y fenoles totales de las repeticiones de la muestra, respectivamente.

---

#### 4. CONCLUSIONES.

Las grandes diferencias encontradas respecto al error absoluto de los valores obtenidos para la capacidad antioxidante y fenoles totales de las repeticiones de la muestra nos permiten considerar que, posiblemente hubo errores en los procesos y manejo de las técnicas de elaboración de las bebidas y/o determinación de las variables de respuesta.

Respecto a la evaluación sensorial la formulación número 5 (correspondiente a 9% de café tostado molido, 0,5% de Stevia y 0,5 de Hayo) presentó mayores puntajes respecto a las tres características fundamentales analizadas (aroma, sabor y apariencia), por lo tanto, esta fue sometida al análisis microbiológico y potencial antioxidante (fenoles totales y capacidad antioxidante).

La bebida seleccionada indicó un cumplimiento en cuanto a la normativa microbiológica nacional vigente dictada por el Instituto Nacional de Medicamentos y alimentos (INVIMA) respecto a este tipo de

bebidas (recuento de microorganismo mesófilos  $\leq 3000$ , número más probable de coliformes totales  $< 3$ , número más probable de coliformes fecales  $< 3$ , recuento de mohos y levaduras  $\leq 100$ , recuento de *Staphylococcus coagulasa positiva*  $< 100$ ), de este modo se establece que bajo este parámetro indica que podría ser comercializada.

Se logró determinar los parámetros fisicoquímicos estipulados en este tipo de bebidas, sólidos solubles: 2%, pH: 4,0, acidez: 0,048 g de ácido/litro. La bebida evaluada posee un porcentaje mayor de sólidos solubles totales, que el mínimo establecido (1.1%) por las normas colombianas vigentes respecto a las bebidas de este tipo (NTC 4602-01 Y NTC 4602-02), de este modo se establece que bajo este parámetro indica que podría ser comercializada.

Se logró determinar los valores promedio, mínimos y máximos respecto a la cantidad de polifenoles totales en las formulaciones de la bebida seleccionada. El rango

establecido para esta propiedad antioxidante fue (239,0 a 396,68 mg equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida) y el valor promedio fue de 305,24 68mg equivalentes de ácido gálico/100 ml de bebida.

Se logró determinar los valores promedio, mínimos y máximos respecto a la capacidad antioxidante en las formulaciones de la

---

## 5. RECOMENDACIONES

De esta forma fomentar que en la universidad popular del cesar y en todo Colombia se realice más investigaciones acerca de las propiedades fisicoquímicas, nutricionales y/o funcionales del hayo y todas las partes del árbol, teniendo en cuenta los beneficios que este podría aportar a la salud de las personas en compañía de otros componentes que aporte cambios en sabor y de soporte a sus contenido funcional.

Se recomienda estudiar más afondo sobre las propiedades de la bebida y el índice de nivel glicémico para determinar si es un producto apto para los diabéticos.

Debido a que el color de la bebida es poco llamativo, se recomienda utilizar diferentes

métodos de clarificación para mejorar la apariencia y por consiguiente la aceptabilidad del producto.

Se debería crear normativas más específicas sobre la planta de hayo, en esta investigación se dificultó el estudio debido a no contar con normas de dicha referencia.

Se aconsejan realizar pruebas para determinar si la ingesta de la bebida podría causar o no algún tipo de afectación a la salud humana a corto, mediano o largo plazo, por dicha razón se aconseja realizar estas pruebas antes de distribuirse y/o consumirse la bebida.

---

## 6. BIBLIOGRAFIA

Agudelo, C., & Cardona, C. (2016). *DESARROLLO DE UNA BEBIDA COMPLETAMENTE NATURAL Y NUTRITIVA UTILIZANDO COMO MATERIA PRIMA ALOE VERA VARIEDAD BARBADENSIS MILLER CULTIVADA BAJO LOS PRINCIPIOS DE PRODUCCIÓN LIMPIA EN EL MUNICIPIO DE SANTA ROSA DE CABAL EN*

*RISARALDA COLOMBIA.* Universidad Tecnológica de Pereira. Recuperado a partir de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7422/581192A282.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Angarita, A. (2018, junio). Las consecuencias de engañar a los consumidores. *Asuntos Legales*, pp. 6–9. Recuperado a partir de <https://www.asuntoslegales.com.co/analisis/annabelle-angarita-529131/las-consecuencias-de-enganar-a-los->

consumidores-2738961

- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis., Methods 33.2.06, 33.2.11, 33.2.08, 33.2.10 and 37.1.15* (17th Editi). Gaithersburg, MD, USA.: The Association of Official Analytical Chemists.
- Cabezas-Zabala, C., Hernández-Torres, B., & Vargas-Zárate, M. (2016). Azúcares adicionados a los alimentos: efectos en la salud y regulación mundial. Revisión de la literatura. *Rev. Fac. Med.*, 64(2), 19–29.
- Calle-Alzar, S. (2011). *Determinación analítica de la cafeína en diferentes productos comerciales*. Universitat Politècnica de Catalunya (UPC). Recuperado a partir de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/11148/PFC1.pdf>
- Calle-Chumo, D., & Mendoza-San Martin, J. (2017). *Extracción de taninos de la borra de café mediante lixiviación soxhlet*. Univesidad de Guayaquil. Recuperado a partir de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/r-edug/18205/1/401-1220> - Extracción de Taninos de la borra de café mediante lixiviación soxhlet.pdf
- Camacha, I. (2017). *Diseño optimo de experimentos para modelos de mezclas aplicados en la ingenieria y las ciencias experimentales*. Universidad de Castilla- La Mancha.
- Chaves-Ulate, E., & Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Chlorogenic acids present in coffee: Antioxidant and antimicrobial capacity. *Agronomy Mesoamerican*, 30(1), 299–311. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>
- Contreras, E., & Purisaca, J. (2018). *Elaboracion de una bebida funcional a partir de Yacon (Smallanthus sonchifolius) y piña (Ananas comosus) endulzado con Stevia*. Universidad Nacional del Santa. Recuperado a partir de <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/3060/47077.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- CORFO-Chile. (2010). ANÁLISIS DE ANTIOXIDANTES: ¿QUÉ Y CÓMO SE DEBEN MEDIR? Recuperado a partir de <http://www.portalantioxidantes.com/analisis-de-antioxidantes/>
- Cristancho, J. (2015). *SQUASH, PRODUCTO CLAVE PARA LA INTERNACIONALIZACION DE POSTOBON EN ESPAÑA*. Universidad Pontificia Bolivariana.
- De Avila, N. (2017, agosto 7). Poporos y mochilas, símbolos de los indígenas de la Sierra. *Redaccion Regional*, pp. 1–3. Recuperado a partir de <https://www.elheraldo.co/cesar/poporos-y-mochilas-simbolos-de-los-indigenas-de-la-sierra-390239>
- Desmarchelier, C. ., & Ciccía, G. (1998). Antioxidantes de Origen Vegetal. *Asociación Ciencia Hoy*, 8(0327-1218), 32–44.
- FAO. (2007). Glosario de términos. Recuperado a partir de <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/vetdrugs/glossary/es/>
- Fórumcafé. (s. f.). *El PH del Cafe*.
- Fuchs-Tarlovsky, V., Rivera, M., KA, A., & Lopez-Alvarenga JC, C.-R. G. (2013). Antioxidant supplementation has a positive effect on oxidative stress and hematological toxicity during oncology treatment in cervical cancer patients. *Support Care Cancer*, 21(12),

59–63.

- Fuentes-berrio, L., & Acevedo-correa, D. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad Colombiana. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140–149.  
[https://doi.org/10.18684/BSAA\(13\)140-149](https://doi.org/10.18684/BSAA(13)140-149)
- Fuentes, L., Acevedo, D., Chantré, C. A., & Gelvez, V. M. (2015). Alimentos Funcionales: Impacto Y retos Para El Desarrollo Y Bienestar De La Sociedad Colombiana. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140.  
[https://doi.org/10.18684/bsaa\(13\)140-149](https://doi.org/10.18684/bsaa(13)140-149)
- Gamarra Ochoa, V., Fuertes R, C., Chavez S, N., Contreras C, D., Goya S, E., Huamantumba B, K., ... Ruiz Pacco, G. (2018). Metabolitos en las hojas de *Erythroxylum coca* Lam y *Erythroxylum novogranatense* (Morris) Hieron y evaluación de sus propiedades biológicas mediante bioensayos. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 2(4), 828.  
<https://doi.org/10.26722/rpmi.2017.24.70>
- Gamarra, V. (2018). *Estudio de los alcaloides y flavonoides de las hojas de Erythroxylum coca Lam y Erythroxylum novogranatense (Morris) Hieron; y evaluación de su actividad antioxidante, antibacteriana, tóxica y citotóxica*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Recuperado a partir de [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7857/Gamarra\\_ov.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7857/Gamarra_ov.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- García, J., Enizarraraz, M., Sosa, M., Gómez, J., & Ceron, A. (2019). Caracterización colorimétrica y propiedades fisicoquímicas en bebidas a base de café soluble. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos Caracterización*, 4, 782–790.
- Gomez, C. (2018). La batalla empresarial por los alimentos saludables. En: consultado el 12 de noviembre de 2010). *Periódico Portafolio*.
- Gomez, C. K. (2017). Estudiantes crean infusión funcional con café. Recuperado a partir de <http://www.cienciamx.com/index.php/tecnologia/biotecnologia/12835-estudiantes-crean-infusion-funcional-con-cafe>
- Gonzalez-Villa, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
- González, D. L. N., Pérez, Y. V. T., & Núñez, W. E. R. (2016). Determination of polyphenols and antioxidant activity of polar extracts of comfrey (*Symphytum officinale* L.). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 125–132.
- Hecimovic, I., Belscak-Cvitanovic, A., Horzic, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chem.*, 129(3), 991–1000.
- Hernandez, E. (2005). EVALUACION SENSORIAL.
- Hernández, F. (2004). Nutrientes esenciales en la práctica deportiva. *Cuadernos Psic Dep*, 4(1), 215–221.
- Huang, D. ., Ou, B. ., & Prior, R. (2005).

- The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53(18), 41–56.
- INTERGRANO. (2018). La acidez del Cafe en la percepcion en boca. *Caffee consulting*, 14(N893-123), 59–59. Recuperado a partir de [https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/la\\_acidez\\_del\\_cafe.pdf](https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/la_acidez_del_cafe.pdf)
- Judith, M., Payán, G., López, R., Romero, D., Arredondo, M., Miguel, S., ... Ortega, O. N. (2015). Uso de la metodología del diseño por mezclas en el sector agrícola. *Cultura Científica y Tecnológica*, 12(55), 201–211.
- Krawczyk, S. (2008). EXAMEN DE FITOMEDICINA. *MONOGRAFÍA: LA HOJA DE COCA*, 12(1), 5–15.
- Lacayo, L. (2013). *FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA EN POLVO A BASE DE CAFÉ Y LECHE INCORPORANDO MATERIAS PRIMAS QUE POTENCIALIZAN EL SABOR DULCE Y LÁCTEO Y QUE PERMITEN LA DISMINUCIÓN DE AZÚCAR Y GRASAS EN COMPARACIÓN CON LA BEBIDA EXISTENTE EN EL MERCADO. FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA EN POLVO A BASE DE CAFÉ Y LECHE INCORPORANDO MATERIAS PRIMAS QUE POTENCIALIZAN EL SABOR DULCE Y LÁCTEO Y QUE PERMITEN LA DISMINUCIÓN DE AZÚCAR Y GRASAS EN COMPARACIÓN CON LA BEBIDA EXISTENTE EN EL MERCADO.*
- Lemus-Mondaca, R. ., Vega-Gálvez, A. ., & Zura-Bravo, L. . (2012). Stevia rebaudiana Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*, 132, 1121–1132.
- Londoño, J., & Gil-Garzón, A. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), 90–115.
- Londoño L., J., Naranjo C., M., & Quintero O., M. M. (2013). Study of the antioxidant activity changes of coffee beverages during its shelf life using in-vitro and ex-vivo methods. *Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, 20(2), 95–104.
- Marin-Castillo, S. E., & Mejia-Castillo, C. M. (2012). *Extraccion de colorante a partir de la flor de jamaica*. Universidad Nacional de Ingeniería. Recuperado a partir de <http://ribuni.uni.edu.ni/619/1/37975.pdf>
- Melendez, A., Rosas, M., & Rios, A. (2016). Determinacion de la inocuidad de extractos de cafe. *Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada*, 23(3), 46–58.
- Miranda-Lopez, J. (2016). Incremento del recobrado de Ni y Co en la lixiviación carbonato-amoniaca. *Tecnología Química*, XXXVI(1), 49–68. <https://doi.org/10.1590/2224-6185.2016.1.%x>
- Morales de la Peña, M., Salvia, L., & Rojas, M. (2010). Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. *Food Science and Technology*, 43, 872–881.

- <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.015>.
- Natella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C., & Scaccini, C. (2002). Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Agric Food Chem.*, 50(21), 6211–6264.
- OMCE. (2011). Guía de buena práctica clínica en alimentos funcionales. *Organización Médica Colegial de España*, 13(1), 23–30.
- Ortega, J., Caballero, L., & Maldonado, L. (2014). Evaluación Del Rendimiento De La Extracción De Café Tostado Molido Comercial. *Alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria.*, 12(1), 40–47. <https://doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2014.923>
- PACS. (2018). Valores nutricionales de la coca. Recuperado a partir de [http://www.controlsocial.bo/respaldo\\_2/nutricion/files/nutritivo\\_hoja\\_de\\_coca.pdf](http://www.controlsocial.bo/respaldo_2/nutricion/files/nutritivo_hoja_de_coca.pdf)
- Perez, J., & Sandoval, C. (2012). *Formulación de una bebida funcional con propiedades antioxidantes a base de toronja (Citrus paradisi, variedad Ruby Red) Que cumpla con la norma salvadoreña NSO 67.18.01:01 Productos alimenticios. Bebida no carbonatada sin alcohol.* Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
- PILJAC-ŽEGARAC, J. ., VALEK, L. ., MARTINEZ, S. ., & BELŠČAK, A. (2009). Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. *Food Chemistry.*, 113, 394–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.048>.
- Pineda, D.; Salucci, M.; Lázaro, R.; Maiani, G.; Ferro, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 13(2), 104–111.
- Pita, G.; Cabrera, A.; Serrano, G.; Macías, C.; Hernández, M. (2000). Vitaminas antioxidantes en un grupo de adolescentes como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 14(2), 79–85.
- Ramirez, J., Garcia, C., & Cardenas, J. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes? *Revista de Divulgación Científica de la Universidad de Veracruzana*, 15(2).
- Reznick, A.; Cross, C. (2000). The antioxidant miracle: your complete plan for total health and healing. *Am J Clin Nutr J Clin Nutr*, 71(2), 604–605.
- Rojas, G. (2019). *EVALUACIÓN DE LA ACEPTACIÓN DEL CONCEPTO DE BEBIDAS FUNCIONALES A BASE DE ALOE VERA, SOYA Y TE VERDE PARA EL MERCADO DE CONSUMO MASIVO EN BOGOTÁ.* Universidad Pontificia Javeriana. Recuperado a partir de <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/10762/RojasBabativaGinaPaola2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ruíz, N. (2005). Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros. *Revista Chilena de Nutrición*, 32(3), 191–199.
- Salamanca, G., Osorio, P., Leidy, T., & Montoya, M. (2010). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DE ALTO VALOR BIOLÓGICO A BASE DE BOROJO (Borojoa patinoi Cuatrec). *Rev Chil*

- Nutr*, 37(2), 87–95. Recuperado a partir de <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v37n1/art09.pdf>
- Santander, M. (2013). *Elaboracion de una bebida con características funcionales basada en una mezcla de leche con la pulpa natural de una fruta regional andina: Tomate de arbol (Solanum betaceum (Cav.) Sendtn) como una alternativa para el desarrollo agroindustrial del departa.* Universidad de Nariño.
- Scarpetta-Ramirez, L. . (2017). *Reconocimiento Fitoquímico y etnobotánico de Erythroxylum coca en la población Nasa del Departamento del Cauca – Colombia\**. Nasa-Valle del Cauca. Recuperado a partir de <https://pdfs.semanticscholar.org/bbd2/928ba6bbd926ca690278548d951006592986.pdf>
- Soto, M. (2018). *DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE STEVIA (Stevia rebaudiana B.) EN LA IRRIGACIÓN DE SANTA RITA DE SIGUAS - AREQUIPA.* UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA.
- Trigo-pérez, K., & Suárez-cunza, S. (2017). Evaluation of the effect of coca leaf powder consumption on bone turnover in postmenopausal women. *Kusy Trigo*, 63(4), 519–527.
- USDA. (2019). Composition of coffee grains. Recuperado a partir de <https://www.fas.usda.gov/commodities/coffee>
- Valencia, J., Pinzon, M., & Gutierrez, R. (2015). Caracterización Físicoquímica Y Sensorial De Tazas De Café Producidas En El Departamento Del Quindío. *Revista de la Asociacion Colombiana de Ciencia y Tecnologia de Alimentos: Alimetnos hoy*, 23(36), 150–156.
- Villa, J.; Córdova, A.; González, J. (2000). *Nutrición del Deportista. (Primera Edición)*. España, Madrid.: Gymnos.
- Webb, G. (2007). *Complementos nutricionales y alimentos funcionales.* (1ª ed.). Zaragoza.: Acribia.
- Zamora S., J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 23. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>

