

**ELABORACIÓN DE UN YOGUR ESTANDARIZADO CON ADICIÓN DE
HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA), CON PROPIEDAD
FUNCIONAL (ANTIOXIDANTE)**

**RAMOS ARRIETA KAREN PAOLA
ZABALETA MEZA KAREN SOFÍA**

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
CARTAGENA DE INDIAS**

2013

**ELABORACIÓN DE UN YOGURT ESTANDARIZADO CON ADICIÓN DE
HIBISCUS SABDARIFFA (FLOR DE JAMAICA), CON PROPIEDAD
FUNCIONAL (ANTIOXIDANTE).**

RAMOS ARRIETA KAREN PAOLA

ZABALETA MEZA KAREN SOFIA

**INFORME FINAL COMO PRE-REQUISITO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO DE ALIMENTOS**

DIRECTOR

CLEMENTE GRANADOS CONDE

INGENIERO DE ALIMENTOS

Msc CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

FACULTAD DE INGENIERIA

PROGRAMA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS

CARTAGENA DE INDIAS

2013

CONTENIDO

1. ABREVIATURA Y SÍMBOLOS.....	1
2. RESUMEN.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
4. MARCO TEÓRICO.....	5
4.1 ALIMENTOS FUNCIONALES.....	5
4.2 EL YOGUR COMO ALIMENTO FUNCIONAL.....	6
4.2.1 Beneficios del yogur.....	7
4.2.2 Valor nutritivo o aporte nutricional del yogur.....	8
4.3 LA FLOR DE JAMAICA.....	9
4.4 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LA FLOR DE JAMAICA.....	12
4.5 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA FLOR DE JAMAICA.....	12
4.6 IMPORTANCIA, USOS Y APLICACIONES DE LA FLOR DE JAMAICA.....	13
4.7 USOS PRINCIPALES DE LAS ANTOCIANINAS O ANTOCIANIDINAS.....	14
4.8 ACEITES ESENCIALES.....	15
4.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	15
4.10 LOS ANTIOXIDANTES Y LOS RADICALES LIBRES.....	16
4.11 LOS ANTIOXIDANTES Y EL CÁNCER.....	16
4.12 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	17
5. JUSTIFICACIÓN.....	19
6. OBJETIVOS.....	20
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	20
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
7. METODOLOGÍA.....	21
7.1 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	21
7.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA, MEDICIÓN DEL RENDIMIENTO DEL AE Y DETERMINACIÓN DE SUS PROPIEDADES FÍSICAS.....	21
7.3 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA.....	22
7.3.1 Método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (ensayo DPPH ó captura del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo).....	22
7.3.2 Método directo para la determinación del valor del índice de ácido 2-tiobarbitúrico (Índice TBA) (AOAC 19.90).....	23
7.4 FORMULACIÓN DEL YOGUR.....	24
7.5 ELABORACIÓN DEL YOGUR.....	24
7.5.1 Análisis de la leche.....	25

7.5.2 Mezcla y precalentamiento.....	25
7.5.3 Pasterización.....	25
7.5.4 Enfriamiento.....	25
7.5.5 Inoculación.....	25
7.5.6 Incubación.....	25
7.5.7 Determinación de la acidez.....	26
7.5.8 Determinación de pH.....	26
7.5.9 Adición de aditivos.....	26
7.6 ESTANDARIZACIÓN.....	26
7.7 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL YOGUR.....	26
7.7.1 Acidez titulable total (ATT).....	27
7.8 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL YOGUR.....	27
7.8.1 Método del recuento en placa.....	27
7.9 VERIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGUR ADICIONADO CON EL ACEITE ESENCIAL DE LA FLOR DE JAMAICA.....	27
7.10 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL YOGUR.....	28
7.11 EVALUACIÓN SENSORIAL.....	28
8 RESULTADOS.....	29
8.1 CÁLCULOS.....	37
8.1.1 Cálculo de las cantidades en gramos de los ingredientes del yogur.....	37
8.1.2 Acidez del yogur.....	38
8.1.3 Rendimiento en aceite de la flor de Jamaica.....	38
8.1.4 Cálculos de la concentración en ppm de aceite de flor de Jamaica en las diferentes muestras de yogur.....	38
8.2 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	39
9 CONCLUSIONES.....	41
10 RECOMENDACIONES.....	42
11 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
12 ANEXOS.....	49
12.1 PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DEL ACEITE DE FLOR DE JAMAICA.....	51
12.2 PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES POR DPPH....	50
12.3 ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES MAYORITARIOS DEL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA POR CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG).....	52
12.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL YOGUR.....	54
12.5 PRUEBA DE EVALUACIÓN SENSORIAL DEL YOGUR.....	55

1. ABREVIATURA Y SÍMBOLOS

ρ = Densidad

AE = Aceite esencial

AOAC = Asociación oficial de químicos analistas

ATT = Acidez titulable

Cp = Centipoise

DES = Destilación-Extracción con solvente

DMSO = Dimetilsulfóxido

DPPH = 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo

EM = Espectros de masa

FSC = Destilación con fluidos supercríticos

GC = Cromatografía de gases

g = Gramos

G = Grasa

HS = Heat-space

Max = Máximo

MeOH = Metanol

Mg = Miligramos

Min = Mínimo

ml = Mililitros

m/m = Masa a masa

N = Normalidad

NMP = Número más probable

ppm = Partes por millón

P = Proteína

SNG = Sólidos no grasos

ST = Sólidos totales

TBA = Ácido tiobarbitúrico

T = Temperatura

Ufc = Unidades formadoras de colonia

W_{mv} = Peso en gramos (g) del material vegetal flor de Jamaica

2. RESUMEN

Se elaboró un yogur descremado utilizando leche en polvo descremada, adicionado con aceite esencial de Flor de Jamaica. Dicho aceite esencial se obtuvo mediante la técnica de extracción por arrastre de vapor. A éste aceite esencial se le realizaron diversos análisis o pruebas químicas, tales como índice de refracción, índice de acidez, índice de yodo, y dos pruebas químicas para la determinación de su capacidad antioxidante, DPPH ó método del 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo y TBA ó método del ácido tiobarbitúrico, por triplicado. Una vez elaborado el yogurt se le practicaron las siguientes pruebas fisicoquímicas: Porcentaje de grasa, proteína, sólidos totales, densidad y acidez.

Se prepararon yogures con concentraciones de 50, 100 y 150 ppm de aceite esencial extraído de la flor de Jamaica. A los tres yogures se le realizaron pruebas de capacidad antioxidante mediante el método de DPPH, a los días 1, 6, 11, y 16. En donde se encontró una alta capacidad antioxidante al día 1, y con el pasar de los días ésta fue disminuyendo paulatinamente. Adicional a esto, 20 panelistas no entrenados realizaron un test de evaluación sensorial al yogurt con las diferentes concentraciones, quienes lo caracterizaron con 4 parámetros: color, sabor, textura y aceptabilidad general, resultando como el más agradable en cuanto al color el yogurt con 150 ppm de aceite esencial de flor de Jamaica, y en cuanto al sabor, textura y aceptabilidad general el yogurt con 100 ppm de aceite esencial de flor de Jamaica. Luego se recogieron muestras del yogurt, para así realizarles las pruebas microbiológicas establecidas por el ministerio de protección social, tales como Coliformes totales, fecales y hongos y levaduras, resultando este producto como apto para el consumo humano. Así mismo le fue practicada la prueba de viscosidad cuyo resultado fue de 740 Cp. Esto se hizo con el objetivo de obtener un yogurt con propiedad funcional (antioxidante), adicionado con aceite esencial de flor de Jamaica, el cual tuvo efectividad en todos los tratamientos, ya que su capacidad antioxidante se incrementó dependiendo del aumento de la concentración del antioxidante o aceite esencial. En la evaluación de la capacidad antioxidante mediante el método del DPPH, el yogurt con concentración de 150 ppm en aceite esencial de flor de Jamaica presentó un porcentaje de captación de radicales libres de 100% en el primer día, 33,33% al sexto día, 23,81% al décimo primer día y 7,14% al décimo sexto día.

3. INTRODUCCIÓN

Actualmente las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales (Alvídrez *et al.*, 2002).

Diversas culturas han hecho uso extenso de la herbolaria y de alimentos a los que se ha reconocido como terapéuticos o beneficiosos para la salud. Existen algunos alimentos que particularmente se reconocen por sus aportes a la salud. Éstos se denominan funcionales o nutraceuticos, y han sido definidos como alimentos que proporcionan un beneficio probado científicamente a la salud humana. Entre estos, se encuentra la Flor de Jamaica, ya que cuenta con antioxidantes, como las antocianinas y procianidinas compuestos nutraceuticos que ejercen protección al sistema cardiovascular (Hernández y Serna, 2003).

Las plantas producen gran cantidad de metabolitos secundarios con el fin de adaptarse mejor a las condiciones ambientales, para protegerse de los ataques microbianos, y para resistir tanto al estrés biótico como al estrés abiótico. Estos compuestos fenólicos han recibido una atención significativa en los últimos años, debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorios, antimutagénico, y el poder anticoagulante que se han correlacionado con un riesgo disminuido de las enfermedades cardiovasculares y el desarrollo del cáncer (Fresco *et al.*, 2010, Han *et al.*, 2007, Loke *et al.*, 2010 y Ostertag *et al.*, 2010).

El término alimento funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para su uso específico de salud" ("Foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional (Alvídrez *et al.*, 2002).

Por lo anteriormente expuesto se presenta el siguiente trabajo de investigación que se denomina "Elaboración de un yogur estandarizado con adición de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica), con propiedad funcional (antioxidante)".

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ALIMENTOS FUNCIONALES

Un alimento funcional es cualquier alimento natural, transformado o ingrediente alimentario al cual se le ha incorporado, aumentado, substituido o eliminado, algún(os) componente(es) que lo hacen tener un beneficio potencial para la salud tanto física como mental del individuo y contribuyen en la prevención de ciertas enfermedades (Cortés, 2000).

Los alimentos funcionales son semejantes en apariencia al alimento convencional, consumido como parte de la dieta normal, capaz de producir efectos metabólicos o fisiológicos útiles en el mantenimiento de la salud física y/o mental, dando como resultado un mejor estado de salud y bienestar con la disminución del riesgo de desarrollar enfermedades de tipo crónico (Saldarriaga, 2012).

Los alimentos funcionales son aquellos alimentos que por su poder nutricional se diferencian del resto. Son la nueva generación de una industria alimenticia cada vez más sofisticada que propone una nueva manera de nutrirse (Saldarriaga, 2012).

Para mejorar la comprensión del consumidor en la elección de los alimentos funcionales, Ares y otros realizaron un estudio conjunto (estudio científico), el cual se llevó a cabo para investigar la influencia de los tres factores no sensoriales que tienen en cuenta los consumidores en la elección de los yogures con características funcionales. Cuatro atributos fueron considerados en el estudio conjunto: tipo de yogur (regulares, enriquecido con antioxidantes y enriquecida con fibra), marca (nacional, familiar, nacional y extranjera familiar), el precio (bajo, normal y alto) y demanda (con y sin "riesgo de reducción de las enfermedades" declaración de propiedades saludables) (Ares *et al.*, 2010).

La importancia relativa de la marca era similar a la del tipo de yogur. Por lo tanto, los resultados sugieren que los factores no sensoriales tales como la marca y el precio podrían tener un importante impacto en la percepción del consumidor de los alimentos funcionales. Marca, precio y propiedades saludables eran altamente tenidos en cuenta por el consumidor durante la elección de los yogures funcionales (Ares *et al.*, 2010).

En otro estudio científico, el extracto de cuatro diferentes variedades de uva (Cabernet Sauvignon, Chardonnay, Shyrah, y Merlot) y callos de las mismas

se complementaron en un yogur como ingredientes funcionales. El total de sustancias fenólicas, el contenido total de antocianinas y la actividad antioxidante de los yogures se midieron mediante análisis químicos. Los yogures inoculados con el extracto rojo de uva y el callo mostraron alto contenido fenólico y de antocianinas y así presentaron un mayor poder antioxidante en comparación con los yogures que contienen extractos de la variedad chardonnay y las muestras de control. El tiempo de almacenamiento afectó significativamente a la libre capacidad de captación de radicales libres de los yogures (Karaaslan *et al.*, 2011).

El análisis de la cromatografía de gases (GC) reveló la presencia de al menos 10 compuestos individuales fenólicos bioactivos en el yogur con callo. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que el callo de la uva tiene un potencial para ser utilizado como un suplemento alimenticio desempeñando un papel en la reducción del riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Karaaslan *et al.*, 2011).

Se ha sugerido que los zumos de frutas (Coisson *et al.*, 2005), polvos (Wallace y Giusti, 2008) y extractos tienen el potencial de ser utilizados como ingredientes funcionales en la industria alimentaria, incluyendo el sector lácteo (Karaaslan *et al.*, 2011).

4.2 EL YOGUR COMO ALIMENTO FUNCIONAL

El *yogur* se considera un alimento funcional porque proporciona múltiples beneficios. Aporta energía, nutrientes y proporciona una ventaja fisiológica adicional que puede ayudar a prevenir enfermedades y mejorar el estado de salud y de bienestar. Las propiedades funcionales del yogur se derivan de algunos de sus componentes, como bacterias probióticas, péptidos bioactivos, ácido linoléico conjugado y esfingolípidos (López, 2008).

En relación a estos tres últimos componentes, algunos expertos señalan que pueden tener un papel como agentes anticancerígenos. Cabe matizar que aunque por el momento no existen evidencias directas de que haya una supresión del cáncer en humanos como resultado del consumo de las bacterias lácticas presentes en las leches fermentadas, sí existen numerosas pruebas indirectas basadas en estudios experimentales con animales que así lo sugieren (López, 2008).

En lo que se refiere a las bacterias probióticas, entre sus beneficios se incluye la potenciación de la digestión de la lactosa, la modulación del sistema inmune, beneficios en la salud estomacal, intestinal y del tracto urinario, la disminución de la presión arterial, la reducción de cifras elevadas de colesterol LDL ("colesterol malo") y actividad antidiarréica, aparte de los efectos sobre ciertos tipos de tumores (López, 2008).

Entre los efectos beneficiosos del yogur tenemos que: Mejora la tolerancia a la lactosa y mantiene la microflora gastrointestinal y urogenital normal. Los efectos terapéuticos son: Prevención de la osteoporosis, protección contra la diarrea del viajero, prevención de la diarrea infantil, reducción de la diarrea inducida por antibióticos, mejora el estreñimiento, protección contra el cáncer de vejiga y colon, prevención de la hipercolesterolemia, prevención de las infecciones urogenitales, reducción de los efectos colaterales de la encefalopatía hepática, ayuda en casos de hipoclorhidria (López, 2008).

El yogur se recomienda en casos de dietas hipocalóricas (en su versión descremado saborizado, con frutas ó cereales sin azúcar), dietas para patología digestiva e intestinal (en versión descremado saborizado, sin frutas ni cereales, por tener menor concentración de lactosa), dietas para constipación (en versión descremado ó entero con frutas y cereales integrales, por su fibra y su complementación proteica) (Murad, 2010).

A nivel nutricional el yogur provee de proteínas de alta calidad, calcio, vitaminas, minerales y la concentración de grasa depende de la leche de base con que se elabore (Murad, 2010).

4.2.1. Beneficios del yogur

Los principales beneficios que el yogurt brinda a nuestro organismo son:

- a) *Generar tolerancia a la lactosa*: Como antes mencionamos, este es un punto muy importante, para así aclarar que su consumo es posible entre las personas que no toleran los lácteos. Las bacterias ácido lácteas contienen lactasa (enzima que digiere la lactosa).
- b) *Previene y mejora los síntomas de diarrea*: Esto se debe a que el yogur ayuda a restablecer la flora bacteriana intestinal sana, que se destruye por las diarreas. Por otro lado este alimento fortalece nuestro sistema inmunológico ayudándolo a defenderse contra las infecciones.

- c) *Reduce los valores de colesterol sanguíneo:* Diferentes estudios demuestran que el consumo de yogur desnatado baja los niveles de colesterol en sangre, en consecuencia este alimento debe formar parte de la dieta de aquellas personas que presentan riesgo cardiovascular.
- d) *Gran fuente de calcio:* Las pérdidas diarias de este mineral en nuestro organismo deben ser repuestas a través de la dieta diaria. El calcio presente en el yogur se ha disuelto en el ácido láctico, haciéndose así más absorbible para nuestro sistema digestivo y para su fácil paso posterior a todo nuestro cuerpo. Es notable que destaquemos que este producto lácteo tiene efecto preventivo ante el cáncer de colon (Murad, 2010).

4.2.2 Valor nutritivo o aporte nutricional del yogur

La composición química de un alimento, es el mejor indicativo de su potencial como nutriente de calidad.

Tabla 1. **Valor nutritivo del yogur**

	Entero	Desnatado / Light (bajas calorías)
Calorías	75	35 a 40
Aporte proteico	3,9	4,1
Contenido graso	3,4	0,1
Carbohidratos	5,0	4,5

(Murad, 2010).

Hidratos de carbono: La forma de azúcar que predomina en el yogur es la lactosa, pero como ya se ha dicho, al estar digerida por los microorganismos no provoca intolerancia (Murad, 2010).

Proteínas de alto valor biológico: Forman, mantienen y renuevan todos los tejidos de nuestro cuerpo. La concentración proteica en este lácteo, es superior a la concentración presente en la leche, esto es debido a la incorporación de extracto seco lácteo en la elaboración. 250 ml de yogur cubren los requerimientos diarios de proteínas de origen animal (15 g.) de un adulto promedio (Murad, 2010).

Con respecto a las proteínas existen dos puntos muy importantes que mencionar:

- Son altamente digestibles debido a la proteólisis provocada por las cepas bacterianas, y

- Se encuentran ya coaguladas antes de ser ingeridas, por lo tanto al consumir yogur no existen molestias estomacales e intestinales (Murad, 2010).

Grasas: Los lípidos influyen directamente en la consistencia y textura del producto. Siempre que el aporte de grasas en nuestra dieta esté dentro de los valores normales establecidos, este será beneficioso para nuestra salud, ya que es una fuente energética, está presente en las membranas celulares y ejercen función de protección a nuestros órganos internos (Murad, 2010).

Calcio, fósforo y magnesio: Facilitan los procesos de mineralización de los huesos, junto con la vitamina D.

Riboflavina (vitamina B2): Mejora la utilización energética de nuestro cuerpo.

Vitamina B12 o Cobalamina: Nutriente esencial del tejido nervioso.

Zinc: Importante mineral para el sistema inmunológico que también contribuye a la correcta utilización energética de los carbohidratos.

Vitamina C: Fundamental para cicatrizar heridas, mantenimiento de cartílagos, huesos y dientes sanos.

Vitamina D: Antioxidante que bloquea los efectos de los radicales libres.

No existe duda alguna que el yogur es un alimento equilibrado nutricionalmente y que debe ser incorporado en la dieta de manera diaria por todas sus ventajas nutritivas (Murad, 2010).

4.3 LA FLOR DE JAMAICA

La *Hibiscus sabdariffa*, **rosa de Jamaica** o también conocida como **rosa de Abisinia** o **flor de Jamaica**, es un hibisco de la familia de las malváceas, originario de África tropical, desde Egipto y Sudán hasta Senegal, aunque, debido a sus propiedades medicinales, se cultiva con éxito en México, América Central y en el sur y sudeste asiático, incluido el sur de China (Cano, 2000).

Las hojas, tri o pentalobuladas, tienen unos 15 cm de longitud, alternas en el tallo, y las flores, de color rojo en la base y más pálido en los extremos, tienen de 8 a 10

cm de diámetro, aunque lo más destacable de la planta es el cáliz, carnoso y de un color rojo intenso, rico en ácido málico (León, 1968).

La flor tiene un elevado contenido de ácidos orgánicos, entre ellos cítrico, málico y tartárico (Vanaclocha *et al.*, 2003). Las bebidas de Jamaica son de color rojo vino, debido a su contenido de antocianos (Cano, 2000).

En un principio, esta planta se cultivaba para obtener la fibra que se extraía de sus duros tallos, utilizada como sustituto del yute utilizado para hacer arpillera. Más tarde, los cálices de la planta se emplearon como colorante alimentario, sobre todo en Alemania, pero resultan fáciles de encontrar en los mercados de Francia, utilizada por la comunidad senegalesa como flores o jarabe. Las hojas verdes se usan como una especie de espinacas especiadas que los senegaleses añaden a veces al arroz y al plato nacional de su país, el *tiéboudienne*, de arroz con pescado (Vanaclocha *et al.*, 2003).

Los cálices se cosechan cuando adquieren un tono semejante al vino, y se dejan secar para usarlos principalmente en la preparación de bebidas refrescantes sin cafeína. Debido a sus características organolépticas, el extracto se utiliza frecuentemente como corrector del sabor de otras bebidas o de medicamentos (Vanaclocha *et al.*, 2003).

A la rosa de Jamaica se le atribuyen propiedades diuréticas, antihipertensivas, antiparasitarias y ligeramente laxantes. La efectividad de un extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* en el tratamiento de la hipertensión arterial de leve a moderada fue confirmada en un estudio clínico en el que participaron 39 pacientes (Herrera, 2004).

En América Central se toma como bebida refrescante o como infusión caliente, y con ella se preparan también mermeladas, dulces, jarabes y otros refrescos. En México es muy popular tomar la infusión fría, como acompañamiento de la comida y se conoce como Agua de Jamaica. En El Salvador se ha desarrollado un proceso de fermentación en el cual no interviene ningún tipo de tratamiento con insumos químicos, permitiendo la elaboración de un vino basado en la Rosa de Jamaica, cuyo consumo es recomendado para el acompañamiento de carnes rojas, guisos y postres o como bebida alcohólica refrescante en los climas cálidos o ambientes costeros como las playas (Cano, 2000).

En el Caribe colombiano se le conoce como gabeche y su cosecha se da de noviembre a principios de febrero. En el departamento del Atlántico, los pétalos

son hervidos en agua y se toma como refresco, fermentados como especie de licor (Cano, 2000).

La flor de Jamaica está siendo muy empleada en muchos países de Latinoamérica debido a sus buenas propiedades. Se estima que es adelgazante, buena para el sistema digestivo, para el colesterol y también los riñones. Además, las investigaciones que se han realizado hasta el momento no han mostrado efectos secundarios (Díaz *et al.*, 2007).

La flor de Jamaica se ha vuelto muy popular en México y otros países latinoamericanos debido a sus grandiosas propiedades. Además, los estudios que se han realizado sobre ella hasta el momento no han demostrado efectos secundarios ni colaterales en la flor de Jamaica (Díaz *et al.*, 2007).

La parte que más se aprovecha de la planta de Jamaica es el cáliz o flor, que en México se utiliza en bebidas refrescantes, gelatinas e infusiones, así como para la preparación de mermeladas, ates, jaleas, cremas y otros derivados (Díaz *et al.*, 2007).

La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), de la familia de las Malváceas, es originaria de África, fue introducida a México en la época colonial y desde entonces se ha cultivado en regiones cálidas y semicálidas de nuestro país, siendo los estados de Guerrero, Oaxaca, Colima y Campeche, los principales productores de Jamaica (Aquino y León, 2005).

Las propiedades alimenticias y medicinales de la flor de Jamaica la hacen aceptable en muchos lugares del mundo sin importar su clima, se toma como agua fresca o como té (Aquino y León, 2005).

La planta de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es un arbusto anual nativo de África e intensamente cultivado en las regiones tropicales y subtropicales de la India, Tailandia, Senegal, Egipto, Estados Unidos, Panamá y México. Esta planta se conoce por diferentes nombres nativos o locales, tales como Karkade, Roselle, Sorrel, Guinea Sorrel, Rosa de Jamaica, flor de Jamaica, Jamaica, Agrio de Guinea, Quetmia ácida y Viña, por sólo mencionar algunos. Existen diferentes variedades como la Jerzy, la Sudan y la Brown. Se le cultiva principalmente por sus hojas, cálices carnosos, semillas y fibra; sin embargo, el mayor interés comercial se centra en su flor debido a su potencial farmacéutico y alimenticio. Su uso es como alimento o como un colorante que sustituye a los sintéticos (Carvajal *et al.*, 2006).

En algunos estudios se ha logrado la cuantificación de la fracción polifenólica, antocianinas y otros compuestos polares en el extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa*, la cual tiene acción por su capacidad antioxidante y la lucha contra hiperlipemias (Fernández *et al.*, 2011).

Estudios anteriores mostraron que *H. sabdariffa* tiene actividades contra - tumorales, contra -oxidantes y contra - hiperlipémicos (Chen *et al.*, 2003, Hou *et al.*, 2005, Kao *et al.*, 2009, Lin *et al.*, 2007, Tseng y col., 1997, Tseng y col., 2000, Fernández *et al.*, 2011).

Los pétalos de la *H. sabdariffa* son potencialmente una buena fuente de antioxidantes, como las antocianinas (Segura *et al.*, 2008). En general, ahora hay evidencia creciente de que los antioxidantes en la dieta humana son de gran beneficio para la salud y el bienestar. Las propiedades antioxidantes de *H. sabdariffa* y otros hibiscoespecies han sido ampliamente estudiadas (Fernández *et al.*, 2011).

Dentro del género *Hibiscus* se encuentran nueve especies (*acetosella* W., *brasiliensis* L., *cannabinus* L., *fursellatus* L., *mutabilis* L., *pernambucensis* A., *rosasinensis* L., *sabdariffa* L. y *syriacus* L.) que atraen la atención por su aprovechamiento comercial en la industria de los alimentos, en la manufactura de emulsiones para bebidas carbonatadas y por sus efectos terapéuticos en la salud (Carvajal *et al.*, 2006).

4.4 CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS DE LA FLOR DE JAMAICA

La Jamaica es una planta arbustiva de crecimiento anual, que mide aproximadamente 2,5 metros de altura; su tallo es rojo, cilíndrico, liso y suave. Sus hojas son verdes y se observan en ellas venas de color rojo que pueden ser largas o cortas, crecen de manera alterna y miden de 7,5 a 12,5 centímetros de longitud. Las hojas de la parte baja pueden contener de tres a siete lóbulos con márgenes dentados. Las flores aparecen individualmente en las axilas de las hojas y miden aproximadamente 12,5 centímetros de ancho; son amarillas, con un centro de color rosa a marrón, y cambian a rosado al final del día, cuando se marchitan. A esta hora del día, el cáliz, de 3,2 a 5,7 centímetros de longitud, es típicamente rojo y consiste de cinco largos sépalos con un collar (epicáliz) y de ocho a doce hojas delgadas de 3,2 a 5,7 centímetros dispuestas alrededor de la base. El collar comienza a engrandecerse o ensancharse haciéndose carnoso, quebradizo, jugoso y envuelve completamente la cápsula aterciopelada de 1,25 a 2 centímetros de longitud. La cápsula es verde cuando está inmadura y tiene cinco

válvulas. Cada válvula contiene de tres a cuatro semillas afelpadas de color ligeramente café y en forma de riñón que miden de 3 a 5 milímetros de longitud. Cuando la cápsula está madura y seca, cambia a color café y se separa. El cáliz, el tallo y las hojas tienen sabor ácido, muy parecido al arandino agrio de los pantanos (Carvajal *et al.*, 2006).

4.5 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LA FLOR DE JAMAICA

El análisis fitoquímico de la Jamaica ha revelado la presencia en ella de ciertas sustancias naturales que se encuentran en las plantas y en la mayoría de aceites vegetales llamadas fitosteroles, además de flavonoides, saponinas y otros glucósidos, además de carbohidratos, ácido ascórbico y una mezcla de ácido cítrico y málico. La flor de Jamaica contiene dos pigmentos coloridos: la hibiscina y la gosipitina, que se usan como base natural de jarabes y licores coloridos. Se han identificado los pigmentos extraídos de las flores, como la hibiscina, gosipetrina, quercetina, mirecetina, hibiscetina, hibiscetina y sabedaretina. Los principales pigmentos de esta planta son las antocianinas: la cianidina-3-glucósido y la delfinidina-3-glucósido, que tienen propiedades antioxidantes y que no presentan actividad tóxica ni mutagénica. Se ha demostrado que los compuestos fenólicos – como el ácido procatecuíco, aislado de las flores de esta planta– tienen fuertes propiedades antioxidantes, mientras que el ácido Hibiscus manifiesta una elevada actividad inhibitoria sobre ciertas enzimas pancreáticas (Carvajal *et al.*, 2006).

4.6 IMPORTANCIA, USOS Y APLICACIONES DE LA FLOR DE JAMAICA

Hay trabajos y evidencias epidemiológicas que asocian las dietas ricas en frutas y vegetales con un menor riesgo de contraer enfermedades crónicas y degenerativas. Generalmente se asume que los constituyentes dietarios activos juegan un papel importante en el desarrollo y progresión de esos padecimientos (Carvajal *et al.*, 2006).

En la actualidad, los numerosos fitoquímicos que hay en las plantas tienen diversos usos en la medicina y en la industria farmacéutica y alimentaria. Por ejemplo, los extractos de las flores de Jamaica se emplean como colorantes naturales para los alimentos, en emulsiones para las bebidas y en la preparación de mermeladas y gelatinas de color rojo brillante y placentero con un sabor ácido. La cocción de las flores también se usa como un sustituto del té o el café por personas que sufren de problemas de salud. Sin embargo, poco se sabe acerca de los efectos farmacológicos de dicha planta, aun cuando se sabe que los

constituyentes polisacáridos han sido utilizados para sanar posibles efectos inmunomoduladores (Carvajal *et al.*, 2006).

Las propiedades nutricionales del aceite y la semilla hacen que sea una fuente invaluable de alimento debido a su contenido proteico y calórico (33% proteína, 24% carbohidratos y 22% de grasa en base de peso seco) y sustanciales cantidades de fibra (14% de peso seco como fibra) y considerables micronutrientes. Las flores contienen altos niveles de minerales, tales como hierro (88 mg/100 g), magnesio (442 mg/100 g), calcio (1,28%) y selenio (0,09 mg/kg) (Carvajal *et al.*, 2006).

La semilla constituye una fuente excelente de aceite de cocina. Los tallos tiernos, hojas y cálices se usan en la preparación de sopas y salsas. Los cálices se ocupan en preparados que se consumen como sustitutos de la carne. Las investigaciones con los extractos de la flor de Jamaica demuestran que estos podrían actuar como antioxidantes y contribuir a las acciones anticancerígenas o cardioprotectivas (Carvajal *et al.*, 2006).

Por esto, se ha puesto la atención a los agentes anticancerígenos que se encuentran en forma natural o que son adicionados a los alimentos y bebidas para el consumo humano. Estos agentes quimioprotectores naturales, presentes en la dieta, revelan una acción inhibitoria sobre la iniciación, promoción y los estados progresivos en la carcinogénesis, ya que la dieta parece desempeñar un papel importante en el desarrollo de muchas enfermedades, especialmente las relacionadas con los trastornos cardiovasculares y el cáncer, las cuales se consideran asociadas con el estrés oxidativo. Pues bien, se sabe que muchas plantas medicinales poseen agentes quimioprotectores (Carvajal *et al.*, 2006).

Las antocianinas extraídas de las flores secas de la Jamaica son pigmentos naturales que se usan en la medicina y en la manufactura de alimentos. Estos pigmentos muestran actividad antioxidante. Tales propiedades antioxidantes de estos compuestos y de los flavonoides pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. El ácido procatecuico de las flores de esta planta disminuye la peroxidación de lípidos, que es un mecanismo potencial de daño celular. Este ácido es un agente eficaz para inhibir la acción carcinogénica de dietilnitrosoamina en el hígado, de la 1-óxido-4-nitroquinoleína en la cavidad oral, del azoxymetano en el colon, de la N-metil-N-nitroso urea en el tejido glandular del estómago y de la N-butil-N-(4-hidroxibutil) nitrosamina en la vesícula (Carvajal *et al.*, 2006).

4.7 USOS PRINCIPALES DE LAS ANTOCIANINAS O ANTOCIANIDINAS

Las antocianinas son antioxidantes tanto en medio acuosos como lipídicos. Su efecto antioxidante es 15-20 veces mayor que vitamina E y 20 mayor que la vitamina C en la neutralización de radicales libres (Lastras, 2009).

Las antocianidinas son unos compuesto seguros, de los que no se conocen efectos tóxicos, efectos secundarios ni interacciones con fármacos (Lastras, 2009).

Los antocianos es un grupo de pigmentos flavonoides hidrosolubles (glucósidos) que están en solución en las vacuolas de las células vegetales de frutos, flores, tallos y hojas. Los podemos encontrar en la uva, cerezas, kiwis, ciruelas, entre otros (Astuy, 2009).

4.8 ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas, normalmente líquidas, que presentan alta volatilidad y por lo tanto, son extraíbles en corriente de vapor de agua. En general, son los responsables del olor de las plantas (Bello, 1999) y químicamente están formados principalmente por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos (hidrocarburos, alcoholes, cetonas, entre otros, que pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos). En ocasiones presentan en su composición derivados del fenilpropano y raramente, cumarinas.

También se definen como líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces (Burt, 2004, Ortuño, 2006).

El valor económico de los AE y su aplicabilidad industrial están directamente relacionados con su composición química y con la actividad biológica (Stashenko *et al.*, 1996). El creciente interés por el uso de extractos naturales antioxidantes que pueden sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos, resulta una alternativa prometedora para la prevención y tratamiento de enfermedades producidas por compuestos sintéticos (Arcila *et al.*, 2004). De hecho, muchos autores han reportado propiedades antimicrobianas, anti fúngicas, antioxidantes y antiradicalarias de diferentes especias y aceites y en algunos casos, una aplicación directamente relacionada con los alimentos (Madsen y Bertelsen, 1995).

4.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

Los principales métodos utilizados para obtener aceites esenciales son los siguientes (Bandoni, 2002, Ortuño, 2006):

- Destilación con agua o hidrodestilación.
- Destilación por arrastre con vapor de agua.
- Destilación con agua y vapor. Cohobación.
- Destilación sometida a una degradación térmica.
- Destilación-extracción con solvente (DES).
- Head-space (HS) y Destilación con Fluidos supercríticos (FSC) y
- Destilación asistida por radiación microondas.

La extracción se puede realizar por métodos convencionales, como son, la destilación con arrastre de vapor, aunque actualmente se utiliza la extracción supercrítica con dióxido de carbono como solvente (Simándi *et al.*, 1998, Yépez, 2001). De acuerdo con las propiedades de este gas (no es tóxico ni explosivo y fácil de remover), su uso facilita las diferentes operaciones de separación de los productos extraídos (Thomann *et al.*, 1993). El AE obtenido por arrastre con vapor de agua se separa posteriormente de la fase acuosa, principalmente por decantación, y además se pueden realizar tratamientos físicos que no originen cambios significativos en su composición como redestilación y aireación (Arcila *et al.*, 2004).

4.10 LOS ANTIOXIDANTES Y LOS RADICALES LIBRES

Los antioxidantes son unas sustancias existentes en determinados alimentos que nos protegen frente a los radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y de algunas otras enfermedades (Astuy, 2009).

Por su parte, los radicales libres son moléculas "desequilibradas", con átomos que tienen un electrón en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de nuestras células (Astuy, 2009).

Los antioxidantes retrasan el proceso de envejecimiento combatiendo la degeneración y muerte de las células que provocan los radicales libres. La incapacidad de nuestro cuerpo para neutralizar los radicales libres a los que nos exponemos diariamente nos obliga a recurrir a alimentos con la propiedad antioxidante con capacidad de neutralizarlos (Astuy, 2009).

4.11 LOS ANTIOXIDANTES Y EL CÁNCER

Muchas investigaciones ponen énfasis en llevar dietas adecuadas que sean aliados activos contra el cáncer. Estas dietas parten de enzimas y sustancias antioxidantes de determinados alimentos que son ricos en los componentes que recogemos arriba. Los mecanismos son diversos y van desde la inhibición hasta una reacción más activa del sistema inmunológico en general (Astuy, 2009).

4.12 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

El método del DPPH se basa en la reducción del radical DPPH* por los antioxidantes de la muestra (Brand *et al.*, 1995). El radical es estable y tiene una coloración púrpura que se pierde progresivamente cuando se añade la muestra conteniendo sustancias antioxidantes. La decoloración del radical se determina a 515 nm y la cuantificación se realiza por lo general empleando soluciones patrón de Trolox. Los tiempos de reacción son variables dependiendo de la naturaleza de los antioxidantes. En particular, las moléculas pequeñas con mejor accesibilidad al centro activo del radical poseen aparentemente una mayor actividad antioxidante por este método (Prior *et al.*, 2005). En general la reacción puede medirse a los 2, 3, 4, 5 y 10 minutos del inicio, ya que en este intervalo se espera que la mayoría de sustancias completen la reacción con el DPPH*, y posteriormente en intervalos de 5 minutos hasta que las variaciones de absorbancia esté en torno a 0,003/minuto, lo cual indicaría que la reacción se ha completado (Schlesier *et al.*, 2002). El ensayo DPPH* es un método rápido y sencillo que no requiere un equipamiento sofisticado, sencillamente un espectrofotómetro. A diferencia del ensayo TEAC, en este ensayo no es necesario preparar radical previamente puesto que el DPPH* se comercializa ya en la forma de radical y sencillamente requiere su disolución en metanol para el desarrollo del método. Por esta razón se trata de un método ampliamente utilizado para evaluación de la actividad antioxidante total. Es un método adecuado para medir la actividad antioxidante en alimentos y extractos vegetales, mientras que no es adecuado para la determinación de la capacidad antioxidante del plasma o suero, ya que las proteínas precipitan con el metanol del medio de reacción (Sánchez, 2002).

Las actividades de radicales libres de varios antioxidantes se determinan utilizando el Difenil radical libre, 2,2-dipicrilhidrazil (DPPH*), el cual tiene una banda de absorción a 515 nm, que desaparece en la reducción de un compuesto de radicales libres (Brand *et al.*, 1995).

El método del DPPH puede ser empleado en diversas especies vegetales no solo como uso en la preservación de alimentos sino también para evaluar sus propiedades potencialmente beneficiosas para la salud (Pastene *et al.*, 2009).

La actividad antioxidante también se puede evaluar a través de otros métodos, como el método del TBA ó Ácido Tiobarbitúrico.

Junto con el índice de peróxido, el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) es uno de los más empleados; su principio se basa en la reacción de condensación entre dos moléculas de TBA con una de malonaldehído en la que se produce un compuesto cromógeno de color rojo cuya concentración se determina espectroscópicamente a 530 nm. Dependiendo del tipo de alimento, el análisis se lleva a cabo directamente, después de eliminar los pigmentos, o en la fracción que se logra por una destilación con vapor. Este método es poco preciso en productos deshidratados y en aquellos que tienen un contenido bajo de lípidos. El procedimiento adolece de algunas fallas: *a)* no siempre se forma el dialdehído malónico, ya que generalmente sólo proviene de los aceites que contienen los ácidos linolénico y araquidónico; *b)* el TBA, en ausencia del aldehído, también produce compuestos de color amarillo con otros derivados de la oxidación de las grasas; *c)* la presencia de sacarosa y de ácidos interfiere en la determinación, y *d)* el malonaldehído reacciona con proteínas, lo que reduce su concentración real para la determinación (Pastene *et al.*, 2009).

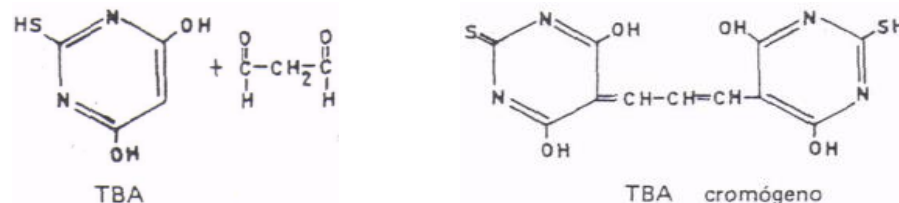


Imagen 1. Formación de un compuesto cromógeno a partir de la reacción del TBA

Este método permite la determinación directa del Índice TBA en aceites y grasas sin tener que aislar previamente los productos de oxidación secundaria. Es aplicable a grasas y aceites vegetales y animales, ácidos grasos y sus ésteres, ésteres parcialmente glicosilados y materiales similares (Pastene *et al.*, 2009).

5. JUSTIFICACIÓN

Los antioxidantes son todos aquellos elementos que tienen como función eliminar de nuestro organismo los radicales libres que se producen como resultado de la oxidación celular. Los radicales libres nos oxidan constantemente, aceleran nuestro envejecimiento y siembran enfermedad a su paso. Del mismo modo, los antioxidantes, contraatacan para contrarrestar los efectos nocivos de las sustancias oxidantes (Festy, 2007).

Los antioxidantes poseen la capacidad de proteger a las células contra el daño oxidativo, el cual provoca envejecimiento y enfermedades crónico-degenerativas, tales como el cáncer, enfermedad cardiovascular y diabetes (Azuma *et al.*, 1999). Adicionalmente los antioxidantes cumplen un papel preponderante en la preservación de la salud mediante la prevención de enfermedades, porque pueden inhibir la oxidación de los lípidos, minimizar la rancidez, retardar la formación de productos tóxicos y mantener la calidad nutritiva (Madhavi *et al.*, 1996, Kahkoren *et al.*, 1999).

Cuando se habla de complementos antioxidantes, a menudo se piensa en las vitaminas y los minerales. Tienden a olvidar enseguida que las plantas constituyen una reserva extraordinaria de aporte. Todos los venotónicos aportan flavonoides en grandes cantidades: vino tinto, brusco, castaño de Indias, entre otros.

Se pueden tomar estas plantas en tisanas o en cápsulas durante todo el año para reforzar la protección contra los radicales libres (Causse, 2010).

Recientemente se ha investigado acerca de los beneficios o propiedades que proporciona la *Hibiscus sabdariffa* o flor de Jamaica en las personas que la consumen por tanto es de gran ayuda para la salud. Además, muchos estudios han puntualizado y demostrado la capacidad que posee como antioxidante.

Teniendo en cuenta la ya mencionada propiedad de la flor de Jamaica como antioxidante, se propone la elaboración de un yogurt con dicha flor, el cual presentaría además de sus propiedades de aportar energía, nutrientes y proporcionar una ventaja fisiológica adicional, propias de un yogurt, la propiedad funcional de actuar como antioxidante con miras a mantener una adecuada alimentación, influyente en el mantenimiento de defensas antioxidantes (Zamora, 2007).

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar un yogurt estandarizado con adición de *Hibiscus sabdariffa* (flor de Jamaica), con propiedad funcional (antioxidante).

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar la capacidad antioxidante del aceite esencial de flor de Jamaica.
- Verificar la capacidad antioxidante del yogur adicionado con aceite esencial de flor de Jamaica.
- Evaluar la calidad del yogur adicionado con AE de flor de Jamaica por medio de pruebas fisicoquímicas, microbiológicas y reológicas.
- Verificar la aceptación del producto obtenido por medio de evaluación sensorial.

7. METODOLOGÍA

7.1 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

La leche en polvo descremada fue comprada en un almacén de cadena de la ciudad que le proporcionaba las condiciones de almacenamiento apropiadas. De igual forma, el azúcar también se compró en un almacén de cadena.

El cultivo láctico liofilizado fue facilitado por una empresa de la industria láctea ubicada en la ciudad de Cartagena.

La flor de Jamaica se compró en una finca del municipio de Pasacaballo, con 2 días de haber sido recolectada.

Como aditivos se utilizaron el benzoato de sodio y el colorante rojo carmín que nos fueron facilitados en el laboratorio de lácteos de las plantas pilotos de la Universidad.

7.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA, MEDICIÓN DEL RENDIMIENTO DEL AE Y DETERMINACIÓN DE SUS PROPIEDADES FÍSICAS

La extracción del AE de flor de Jamaica se realizó por el método de destilación por arrastre con vapor de agua. Se empleó un equipo de hidrodestilación con manta de calentamiento para un balón de 5 litros. Se tomaron 358 g. de la flor de Jamaica previamente pesados y se introdujeron en el balón, al cual se le adicionaron 1000 ml de agua. El tiempo de extracción fue de 4 horas. El AE se colectó en un recipiente con desprendimiento de vapor.



Imagen 2. Extracción del AE de flor de Jamaica mediante destilación por arrastre con vapor de agua.

El AE se separó por decantación, fue medido con jeringa de 2 ml para establecer el rendimiento y almacenado en 1 frasco de 5ml de vidrio color ámbar (Stashenko et al, 1998). Posteriormente se evaluaron algunas de sus propiedades físicas como: olor, color, densidad (en picnómetro de 2 ml.), índice de refracción (en

refractómetro ABBE), índice de acidez (AOAC 940.28/90) e índice de yodo (AOAC 940.150/90) (Bandoni, 2002). Cada determinación se hizo por duplicado.

El rendimiento del AE obtenido, se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = [(ml \text{ AE}) / (W_{mv})] \times 100$$

Donde, ml AE es el volumen (ml) obtenido del aceite esencial y donde W_{mv} corresponde al peso en gramos (g) del material vegetal.

7.3 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA

Los ensayos para medir la actividad antioxidante del AE de flor de Jamaica se realizaron utilizando dos metodologías: la del radical DPPH y el método del TBA, a temperatura constante.

7.3.1 Método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (ensayo DPPH ó captura del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo)

Se utilizó la metodología del radical DPPH descrita por Goupy y otros (1999) con modificaciones según Prior y otros (2005). El radical DPPH se disolvió en metanol para preparar una solución saturada de éste (80 mg en 5 ml), la cual se almacenó por 24 horas en la oscuridad. Transcurrido este tiempo, a partir de esta solución inicial, se preparó una solución diluida con metanol (protegida de la luz) hasta una absorbancia de $0,300 \pm 0,05$ a 517 nm. Se recuerda que en este método, cuando una solución de DPPH se mezcla con sustancias que pueden donar un átomo de hidrógeno, entonces se produce la forma reducida de este radical con la pérdida del color violeta.

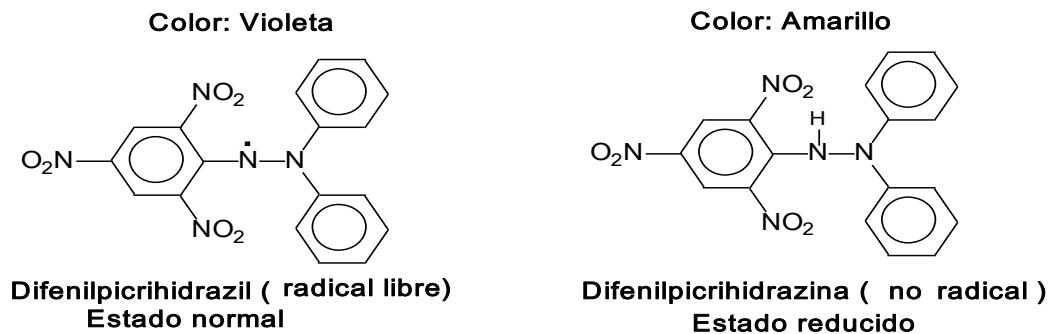


Imagen 3. Estructura del DPPH en su forma normal y su forma reducida.

Preparación de la solución madre de DPPH: Se tomaron 150 mg de DPPH (Sigma) y se disolvieron en 7 mL de MeOH, la solución obtenida fue llevada a oscuridad por 24 h. Pasado este tiempo se tomaron alícuotas y se diluyeron con MeOH hasta obtener una absorbancia ajustada de 0.300 ± 0.05 medidos a una $\lambda = 517$ nm en el espectrofotómetro, ajustado con MeOH como blanco del equipo.

Evaluación de la muestra:

- **Tubo de reacción:** Se prepararon soluciones concentradas de las muestras de 10000 ppm, 50 mg en 5ml de DMSO, y a partir de ésta se prepararon soluciones diluidas a diferentes concentraciones, 50, 100 y 150 ppm. De cada una se tomaron 40 μ L adicionando 1960 μ L de la solución del radical DPPH \cdot . Estos tubos se prepararon por triplicado.
- **Blanco de muestra:** De las celdas de las soluciones diluidas, se tomaron 40 μ L y se llevó a un tubo de ensayo donde se le adicionó 1960 μ L de MeOH.
- **Referencia:** A 40 μ L de DMSO se le adicionaron 1960 μ L de la solución del radical DPPH \cdot . Estos tubos fueron preparados por triplicado.

Los tubos de ensayo fueron llevados a oscuridad por 30 min. Posteriormente se midió la absorbancia a 517 nm empleando un espectrofotómetro Genesis 20 thermo spectronic modelo 4001/4, se anotaron los datos y se calculó el porcentaje de inhibición (% Inh) usando la ecuación (1).

$$\%Inh = \left[1 - \frac{A_{Muestra} - A_{Blanco}}{A_{Referencia}} \right] \times 100 \quad (1)$$

7.3.2 Método directo para la determinación del valor del índice de ácido 2-tiobarbitúrico (Índice TBA) (AOAC 19.90)

En primer lugar se preparó el reactivo TBA disolviendo 200 mg de ácido 2-tiobarbitúrico en 100 ml de 1-Butanol. Se dejó toda la noche, posteriormente se centrifugó, retirando así el sobrenadante y descartando el insoluble. La solución se llevó nuevamente a 100 ml con 1-Butanol. La vida del reactivo no superó la semana, aun conservándolo refrigerado.

Luego de que se obtuvo el reactivo TBA, se pesaron 50 mg de AE de flor de Jamaica en un matraz de 25 ml, luego se disolvieron con 1-Butanol y se llevó a volumen con el mismo reactivo. Inmediatamente se Tomaron 5 ml con una pipeta y fueron colocados en un tubo de ensayo seco. Se Agregaron 5 ml del reactivo TBA y se Tapó y agito muy bien.

Esta solución se llevó a baño de María durante 2 horas a 95 °C, se enfrió bajo corriente de agua durante 10 minutos hasta que alcanzó temperatura ambiente.

Por último se midió la absorbancia de la solución obtenida en cubetas de 10 mm a 530 nm usando agua destilada como referencia. Este procedimiento se realizó de igual forma para preparar una muestra patrón o blanco (AOAC 19.90).

Luego el índice de TBA se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice TBA} = [50 \times (A-B)] / M$$

A: Absorbancia de la muestra

B: Absorbancia del blanco

50: factor aplicado si el matraz utilizado es de 25 ml y el ancho de las cubetas de 10 mm

M: masa de la muestra en gramos (AOAC 19.90)

7.4 FORMULACIÓN DEL YOGUR

Para la elaboración del yogur se utilizaron varias formulaciones donde la variable de entrada era la concentración en ppm del aceite esencial de flor de Jamaica. También se utilizó una muestra patrón ó blanco que no tenía ninguna adición del aceite en mención. Dichas adiciones del aceite esencial fueron de: 50, 100 y 150 ppm.

La formulación aplicada fue la siguiente:

En base a 100 ml de agua se adicionaron:

- 8%p/p de azúcar
- 15% p/p de leche en polvo descremada
- 50 - 100 y 150 ppm del aceite esencial de Flor de Jamaica
- 0,01% de cultivo láctico (DELVO-DSL fermento liofilizado para incubación directa)
- 0,03% ó 300 ppm de benzoato de sodio (0,3 g/L como ácido benzoico) (*Códex Alimentarius*. CODEX STAN 243-2003)
- 0,005% de colorante rojo carmín

7.5 ELABORACIÓN DEL YOGUR

Inicialmente se pesaron los diferentes insumos o ingredientes teniendo en cuenta sus respectivos porcentajes en la formulación y la cantidad de materia prima o leche descremada.

7.5.1 Análisis de la leche

Se tomó una muestra de 5 ml de leche descremada para obtener los datos de las siguientes variables: Temperatura (T), porcentaje de grasa (%G), densidad (ρ), porcentaje de lactosa (% lactosa), porcentaje de sólidos totales (%S.T.), porcentaje de proteínas (%Proteínas), porcentaje de agua (%Agua) y sales mediante el equipo de análisis *MILK ANALYZER* o analizador de leche.

7.5.2 Mezcla y precalentamiento

La leche en polvo y el azúcar se mezclaron en proporciones de 15% y 8%, respectivamente para luego ser adicionados poco a poco al agua que se iba calentando hasta alcanzar unos 40°C para evitar así que se formaran grumos.

7.5.3 Pasterización

La mezcla se sometió a un proceso de pasterización a una temperatura de 80°C por 10 minutos (Romero Del Castillo y Mestres, 2004).

7.5.4 Enfriamiento

Una vez realizada la pasterización, la mezcla se enfrió hasta la temperatura de 45°C (temperatura de fermentación).

7.5.5 Inoculación directa

Al alcanzar la temperatura de 45°C, se agregó el cultivo o fermento láctico liofilizado por inoculación directa (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) a una concentración de 0,001 % y se agitó muy bien para distribuir uniformemente los microorganismos.

7.5.6 Incubación

Se incubó por un periodo de 7 horas a una temperatura de fermentación de 45°C hasta alcanzar los valores adecuados de pH y acidez, llevando un monitoreo de estos valores a temperatura constante (NTC 805), mediante muestras tomadas en 6 tubos de ensayos.

7.5.7 Determinación de la acidez (Acidez titulable total (ATT))

Se determinó de acuerdo a la técnica oficial de AOAC (1999), por titulación. Se tomaron 9 ml de la mezcla y se colocaron en un matraz de 250 ml, se adicionaron 2 gotas de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio a 0,1 N. El porcentaje de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez titulable} = ((\text{gasto de NaOH} \times 0,1 \text{ N} \times 90) / (10000)) * 100$$

Este procedimiento se realizó cada hora, durante el tiempo de incubación.

7.5.8 Determinación de pH (Método potenciométrico)

La medición del pH se realizó de acuerdo con el método potenciométrico, técnica A.O.A.C. 943.02/90. Se tomaron 5 ml del yogur y se midió el pH con ayuda del potenciómetro.

Este procedimiento se realizó cada hora, durante el tiempo de incubación.

7.5.9 Adición de aditivos

Se adicionó el benzoato de sodio como conservante luego del proceso de fermentación, a razón de 0,3 gramos por cada Litro de yogurt (0,3 g/L). (*Códex Alimentarius*. CODEX STAN 243-2003). De igual forma se agregó el colorante rojo carmín (E120), a razón de 0,005% (0,05g/L).

7.6 ESTANDARIZACIÓN

Se elaboraron diferentes muestras con concentraciones del aceite esencial de flor de Jamaica de 50, 100 y 150 ppm para determinar así cuál era la más adecuada en cuanto al sabor que impartiría al yogurt.

7.7 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL YOGUR

% Materia grasa, % Sólidos lácteos no grasos, % Acidez como ácido láctico y prueba de fosfatasa (Resolución 02310/86).

Tabla 2. Análisis físicoquímico del yogur

	Entero	Descremado
Materia grasa %m/m	Mín. 2,5	Máx. 0,8
Sólidos lácteos no grasos % m/m, mínimo	7,0	7,0
Acidez como ácido láctico % m/m	0,70-1,50	0,70-1,50
Prueba de Fosfatasa	Negativa	Negativa

7.7.1 Acidez titulable total (ATT)

Se determinó de acuerdo a la técnica oficial de AOAC (1999), por titulación. Se tomaron 9 ml de yogurt y se colocaron en un matraz de 250 ml, se adicionaron 2 gotas de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio a 0,1 N. El porcentaje de acidez se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez titulable} = ((\text{gasto de NaOH} \times 0,1 \text{ N} \times 90) / (10000)) * 100.$$

7.8 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL YOGUR

Para el análisis microbiológico se realizaron las pruebas indicadas en la Resolución Número 02310 de 1986.

- Coliformes *totales*
- Coliformes *fecales*
- Hongos y levaduras

7.8.1 Método del recuento en placa

Este es el método utilizado con más frecuencia para la medición de poblaciones bacterianas. En ésta técnica el inóculo original se diluye varias veces en un proceso denominado dilución seriada.

El recuento en placa se efectúa con el método de la placa vertida o con el método de diseminación en placa. Mediante éste último se extiende uniformemente 0,1 ml del inóculo sobre la superficie del medio previamente vertido y solidificado.

Los recuentos en placa se informan como unidades formadoras de colonias (UFC) (Tortora *et al.*, 2007).

7.9 VERIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL YOGUR ADICIONADO CON EL ACEITE ESENCIAL DE FLOR DE JAMAICA

Se verificó la capacidad antioxidante de cada yogur elaborado a diferentes concentraciones del aceite esencial de flor de Jamaica (50, 100 y 150 ppm) y durante un período de 16 días, partiendo del día 1 y realizándola cada 5 días, mediante el método DPPH (Decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Este yogur se encontraba almacenado a una temperatura constante de 4°C desde el momento de su elaboración.

7.10 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DEL YOGUR

Se determinó la viscosidad del yogur mediante un viscosímetro DV-E Brookfield.

7.11 EVALUACIÓN SENSORIAL

El yogurt con flor de Jamaica se sometió a una evaluación sensorial, con la participación de 20 panelistas no entrenados consumidores de yogur. A este grupo de panelistas se le aplicó una prueba de nivel de agrado con una escala hedónica de 5 puntos para la evaluación sensorial de los atributos de color, textura, sabor y aceptabilidad general (Castañeda *et al.*, 2008).

Se utilizaron los códigos 0123, 0234 y 0345 que correspondían a las diferentes muestras del yogur con cada una de las concentraciones del AE de flor de Jamaica en el mismo, así, 50, 100 y 150 ppm, respectivamente.

Tabla 3. Prueba de nivel de agrado

Puntaje	Nivel de agrado
5	Me gusta mucho
4	Me gusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

8. RESULTADOS

En la elaboración del yogurt se utilizó leche descremada en polvo debido a que esta posee mayor concentración de sólidos, lo que favorece el proceso de fermentación.

Estos son los datos arrojados por el MILK ANALYZER, en el análisis de la leche descremada:

Grasa = 0,1%

Densidad (ρ) = 1,036 gr/cc a 15°C

Lactosa = 4,3

Sólidos totales (ST) = 7,5%

Proteína = 2,96%

Acidez = 0,15 expresado en porcentaje de ácido láctico

Luego de mezclar todos los ingredientes en las cantidades mencionadas en la formulación del yogur, se procedió a pasteurizar a una temperatura de 80°C, durante 10 minutos, con agitación constante, seguida de un enfriamiento hasta llegar a la temperatura de 45°C (temperatura de incubación), momento en el cuál se realizó la inoculación directa. Para la inoculación de la mezcla se utilizó un cultivo iniciador liofilizado, que contenía *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus Thermophilus*. Después de dicha inoculación directa se agitó muy bien hasta homogenizar y se tomaron 6 muestras de 15 ml cada una, las cuales se mantuvieron a la misma temperatura de inoculación que el resto del yogurt (en baño de maría). Lo anterior para monitorear los valores de pH y acidez que registraban a lo largo del tiempo.

Inicialmente se determinaban estos valores cada 60 minutos y a medida que se acercaba a los valores deseados (acidez 0.7 y pH 5), se realizaba cada 30 minutos, para detener el proceso de acidificación en el momento adecuado y proceder a refrigerar durante un periodo de 24 horas. Estos valores de acidez y pH se determinaron por el método de titulación con NaOH 0,1 N y un potenciómetro respectivamente.

La acidez era expresada en términos de porcentaje (%) de ácido láctico.

Luego de pasadas 7 horas, la mezcla alcanzó los valores de pH y acidez ya mencionados, por lo cual se procedió a enfriar con el fin de detener la acción de las enzimas provenientes de los fermentos lácticos y controlar la acidez.

A continuación se muestran las gráficas de la variación del pH y la acidez, las cuales son resultados de las diversas mediciones que se hicieron a lo largo del período de incubación, cada 60 minutos.

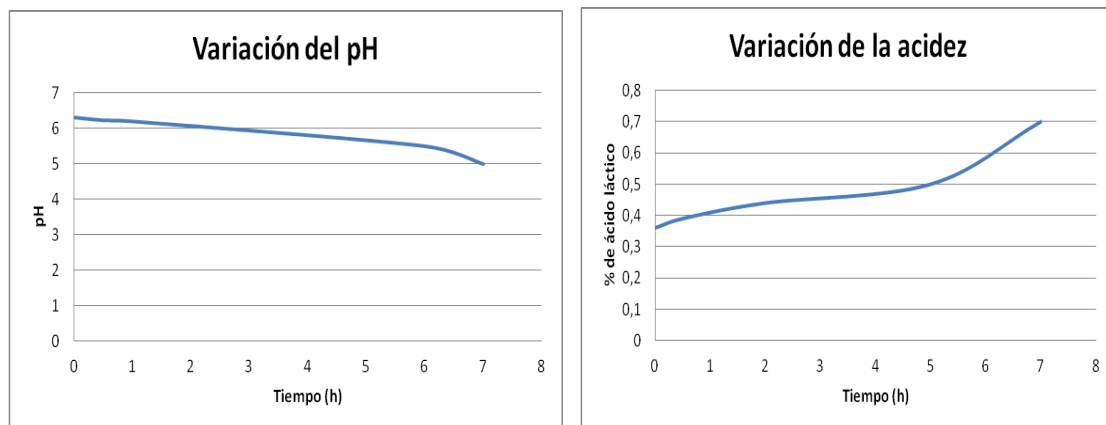


Gráfico 1. Variación de la acidez y pH de la mezcla.

Después de las 24 horas de refrigeración se obtuvieron valores de pH y acidez de $4,92 \pm 0,02$ y 1,4% de ácido láctico. Y se adicionaron los aditivos correspondientes, tales como conservante (benzoato de sodio) y colorante (rojo carmín).

A continuación se muestran los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico del yogur en relación con lo estipulado por la resolución para leches fermentadas por triplicado.

Tabla 4. Análisis fisicoquímico del yogur descremado

	Resolución 02310/86	Datos obtenidos
Materia grasa %m/m	Máx. 0,8	0,1
Sólidos lácteos no grasas % m/m, mínimo	7	28,56
Acidez como ácido láctico % m/m	0,70-1,50	1,40
Prueba de Fosfatasa	Negativa	Negativa

Para la extracción del aceite esencial de flor de Jamaica se utilizaron 358 g. de flor de Jamaica, de los cuales se obtuvieron 0,7424 g. del aceite esencial por medio de arrastre de vapor de agua. Este se mantuvo almacenado a 4°C en un recipiente de vidrio color ámbar. Seguidamente se evaluó el rendimiento y se determinaron las propiedades físicas del mismo, así como la capacidad antioxidante mediante los métodos TBA y DPPH.

El rendimiento en aceite esencial fue de 0,2355%.

A continuación se muestra el resultado del análisis practicado a una muestra de aceite esencial de flor de Jamaica por duplicado:

Tabla 5. **Parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de flor de Jamaica**

PARÁMETROS		NORMAS
MUESTRA	Aceite de flor de Jamaica	
Fecha	15-03-2013	
Densidad, g/cc a 25 pc	0,8802±0,0002	AOAC 940.28/90
Índice de refracción a 25°C	1,4565±0,0004	AOAC 919.28/90
Índice de acidez, mg KOH/g	0,32±0,02	AOAC 940.28/90
Índice de Yodo, g I ₂ /100 g	2,83±0,04	AOAC 940.150/90
% de captación de radicales libres por DPPH	74,23	
Índice de TBA, mg malonaldehído/100 g	< 0,05	AOACS 19.90

Con el aceite esencial obtenido se prepararon diferentes muestras del yogur descremado con diversas concentraciones del aceite en el mismo, de 50, 100 y 150 ppm, teniendo en cuenta mantener también una muestra control.

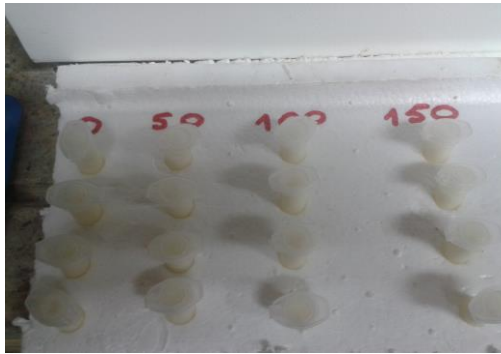
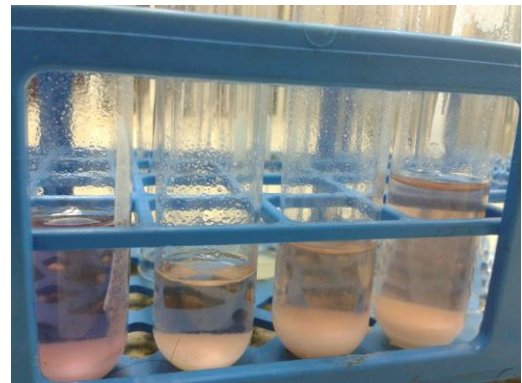


Imagen 4. Muestras del yogur a las diferentes concentraciones del aceite esencial de flor de Jamaica (0, 50, 100 y 150 ppm) tomadas para realizar las diferentes determinaciones de su capacidad antioxidante.

A todas estas muestras les fue practicado el método del DPPH para la determinación de su capacidad antioxidante a lo largo de un período de almacenamiento de 16 días, cada 5 días. Así, al día 1, al día 6, al día 11 y al día 16 de almacenamiento.



(a)



(b)

Imagen 5. (a) y (b). Resultado cualitativo de la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH a las diferentes muestras del yogur con concentraciones de 0, 50, 100 y 150 ppm.

A continuación se muestran los resultados arrojados por el método del 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo ó DPPH expresado en el porcentaje de captación de radicales libres de cada muestra.

% CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES POR DPPH

Tabla 6. DOSIS: 0 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	0
6 días	09-04-2013	0
11 días	15-04-2013	0
16 días	19-04-2013	0

Tabla 7. DOSIS: 50 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	16,67
11 días	15-04-2013	9,52
16 días	19-04-2013	0

Tabla 8. DOSIS: 100 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DÍAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	23,81
11 días	15-04-2013	14,28
16 días	19-04-2013	2,38

Tabla 9. **DOSIS: 150 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt**

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	33,33
11 días	15-04-2013	23,81
16 días	19-04-2013	7,14

Adicional a éstas determinaciones se realizó una más a un segundo lote de yogurt con una concentración de 100 ppm del AE de flor de Jamaica, ya que éste presentó una acidez de 0,79%, lo que corresponde prácticamente a la mitad de la acidez del primer lote de yogurt elaborado, que fue de 1,4%. La tabla 10 muestra los resultados obtenidos mediante el mismo método del radical DPPH.

DOSIS: 100 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4 °C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	19-04-2013	100
6 días	24-04-2013	100
11 días	29-04-2013	91,30
16 días	04-05-2013	78,26

Se tomaron muestras del yogurt y se llevaron a un laboratorio certificado (Laboratorio bacteriológico y fisicoquímico de aguas y alimentos –Miguel Torres Benedetti), en el cual se practicaron las pruebas indicadas en la resolución Número 02310/86 mediante la técnica de recuento en placa.

Tabla 11. Análisis microbiológico del yogur

Tipo de muestra	Coliformes totales	Coliformes fecales	Mohos y levaduras
Yogurt	<10 ufc/ml	<10 ufc/ml	30 ufc/ml
Parámetros microbiológicos yogurt	90 ufc/ml	Cero ufc/ml	100 ufc/ml

Por otra parte se realizó la prueba de viscosidad que arrojó como resultado 740 Cp.

Para la evaluación sensorial se instaló una sala donde 20 panelistas no entrenados que evaluaron los atributos de sabor, color, textura y aceptabilidad general, a tres muestras de yogurt cada una con una concentración diferente en aceite esencial de flor de Jamaica, de 50, 100 y 150 ppm, con los códigos 0123, 0234 y 0345 respectivamente.

Fueron evaluados cinco niveles de agrado:

Puntaje	Nivel de agrado
5	Me gusta mucho
4	Me gusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

A continuación se muestran las frecuencias relativas para cada característica organoléptica evaluada.

Para el yogurt con **50 ppm** de aceite esencial se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 12. Frecuencias relativas para el yogur con 50 ppm de aceite esencial de flor de Jamaica (muestra con código 0123)

Nivel de agrado	Color	Textura	Sabor	Aceptabilidad general
Me gusta mucho	55%	40%	10%	10%
Me gusta moderadamente	30%	40%	25%	45%
No me gusta ni me disgusta	15%	20%	50%	35%
Me disgusta moderadamente	0%	0%	15%	10%
Me disgusta mucho	0%	0%	0%	0%

Para el yogurt con **100 ppm** de aceite esencial se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 13. Frecuencias relativas para el yogur con 100 ppm de aceite esencial de flor de Jamaica (muestra con código 0234)

Nivel de agrado	Color	Textura	Sabor	Aceptabilidad general
Me gusta mucho	60%	30%	20%	20%
Me gusta moderadamente	35%	65%	60%	65%
No me gusta ni me disgusta	5%	5%	15%	10%
Me disgusta moderadamente	0%	0%	5%	5%
Me disgusta mucho	0%	0%	0%	0%

Para el yogurt con **150 ppm** de aceite esencial se obtuvieron los siguientes datos:

Tabla 14. Frecuencias relativas para el yogurt con 150 ppm de aceite esencial de flor de Jamaica (muestra con código 0345)

Nivel de agrado	Color	Textura	Sabor	Aceptabilidad general
Me gusta mucho	65%	35%	20%	20%
Me gusta moderadamente	25%	35%	45%	65%
No me gusta ni me disgusta	5%	15%	5%	15%
Me disgusta moderadamente	5%	15%	25%	25%
Me disgusta mucho	0%	0%	5%	5%

8.1 CÁLCULOS

8.1.1 Cálculo de las cantidades en g. de los ingredientes del yogurt

En base a 2 litros de agua se adicionaron las siguientes cantidades de cada ingrediente:

Tabla 15. Cantidad en gramos de cada ingrediente

Ingrediente	Porcentaje (%)	Cantidad en g.
Azúcar	8 %	160
Leche en polvo descremada	15%	300
Cultivo láctico	0,01%	0,2
Benzoato de sodio	0,03%	0,6
Colorante rojo carmín	0,005%	0,1

8.1.2 Acidez del yogur

$$\text{Acidez titulable} = ((\text{gasto NaOH} \times 0,1\text{N} \times 90) / (10000)) \times 100$$

$$\text{Acidez titulable} = ((15,6 \text{ ml} \times 0,1 \times 90) / (10000)) \times 100$$

$$\text{Acidez titulable} = 1,4\%$$

8.1.3 Rendimiento en aceite de la flor de Jamaica

$$\% \text{ Rendimiento} = [(\text{ml AE}) / (W_{mv})] \times 100$$

Donde, ml AE es el volumen (ml) obtenido del aceite esencial y donde W_{mv} corresponde al peso en gramos (g) del material vegetal.

$$\text{ml AE} = 0,8434446717 \text{ ml}$$

$$W_{mv} = 358 \text{ g}$$

$$\% \text{ Rendimiento} = [(0,8434446717 \text{ ml}) / (358 \text{ g})] \times 100$$

$$\% \text{ Rendimiento} = 0,2355\%$$

8.1.4 Cálculos de la concentración en ppm de aceite de flor de Jamaica en las diferentes muestras de yogur

Para 50 ppm

$$50 \text{ ppm} = 50 \text{ mg/L}$$

$$50 \text{ mg} \longrightarrow 1.000 \text{ ml}$$

$$X \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

$$X = 5 \text{ mg} * 1 \text{ g} / 1.000 \text{ mg} = 0,005$$

$$50 \text{ ppm} \iff 0,005 \% \text{p/v}$$

Para 100 ppm

$$100 \text{ ppm} = 100 \text{ mg/L}$$

$$100 \text{ mg} \longrightarrow 1.000 \text{ ml}$$

$$X \longrightarrow 100 \text{ ml}$$

$$X = 10 \text{ mg} * 1 \text{ g} / 1.000 \text{ mg} = 0,01 \text{ g}$$

100 ppm \Rightarrow 0,01 %p/v

Para 150 ppm

150 ppm = 150 mg/L

150 mg \longrightarrow 1.000ml

X \longrightarrow 100ml

$X = 15 \text{ mg} * 1 \text{ g} / 1.000 \text{ mg} = 0,015 \text{ g}$

150 ppm \Rightarrow 0,015 %p/v

8.2 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El aceite extraído de la flor de Jamaica presentó valores de las propiedades fisicoquímicas que se encuentran dentro de los valores estipulados para los aceites esenciales (Bandoni, 2002). Este aceite esencial presentó actividad o capacidad antioxidante con los dos métodos utilizados para su determinación, DPPH y TBA. Estos valores confirmaron que la flor de Jamaica posee capacidad antioxidante y puede ser usada como aditivo alimentario para impartir dicha propiedad y hacer que el alimento sea funcional.

El yogur adicionado con el aceite esencial de flor de Jamaica presentó una buena capacidad antioxidante, la cuál ha de beneficiar a quién lo consuma, lo que lo coloca como un alimento funcional. Aunque ésta capacidad antioxidante inicialmente se mostró muy acentuada, con el paso de los 16 días en almacenamiento a 4 °C tendió a disminuir hasta llegar a un valor de 0% de captación de radicales libres en el yogur con la concentración de 50 ppm del aceite esencial, mientras que en los yogures con concentraciones de 100 y 150 ppm llegó hasta valores de 2,38% y 7,14% de captación de radicales libres, respectivamente. Cabe anotar que las determinaciones de la capacidad antioxidante hechas a la muestra control no presentaron capacidad antioxidante alguna en ninguno de los días que se eligieron para las diferentes pruebas durante los 16 días de almacenamiento (1, 6, 11 y 16 días).

Las pruebas fisicoquímicas practicadas al yogur mediante el analizador de leche y los métodos de titulación y potenciometría demuestran que el yogur elaborado está dentro de los parámetros de %acidez y pH, así como de % de materia grasa y sólidos no grasos (SNG). Además, la prueba de fosfatasa resultó negativa.

El yogur presentó una buena viscosidad, no siendo ni tan fluido ni tan consistente.

Según los resultados obtenidos en la evaluación sensorial realizada para las muestras de yogur a las diferentes concentraciones se encontró que el que más gustó dentro de los panelistas no entrenados consumidores frecuentes de yogur, fue el que presentaba la concentración intermedia en aceite esencial de flor de Jamaica, de 100 ppm.

En cuanto a los parámetros o características organolépticas de textura, sabor y aceptabilidad general, los panelistas coincidieron al preferir el yogur con la concentración de 100 ppm, con el atributo “me gusta moderadamente”, que corresponde a la puntuación “4” del nivel de agrado de la escala hedónica de 5 puntos elegida para tal evaluación sensorial, con una frecuencia relativa del 65%, 60% y 65% respectivamente. Teniendo en cuenta el color, el que más gustó fue el yogur con la concentración de 150 ppm, con el atributo “me gusta mucho”, que corresponde a la puntuación “5” del nivel de agrado, con una frecuencia relativa del 65%, a pesar de que todos presentaban la misma coloración.

La textura también era la misma para todas las muestras.

El yogur que menos gustó fue el de concentración de 150 ppm en aceite de flor de Jamaica, evidenciado con frecuencias relativas de 25% para el atributo “me disgusta moderadamente” y 5% para el atributo “me disgusta mucho”, siendo igual tanto para la característica organoléptica de sabor como para la aceptabilidad general.

Por último cabe destacar que la muestra de yogurt que se llevó al laboratorio certificado para realizarle las pruebas microbiológicas, arrojaron que este es apto para el consumo humano y que los valores obtenidos se encuentran en los parámetros establecidos por la Resolución Colombiana N° 02310 de 1986.

9. CONCLUSIONES

- Al adicionar el aceite esencial de flor de Jamaica en un yogur, se pudo determinar que éste presenta actividad antioxidante en las concentraciones de 50, 100 y 150 ppm, utilizando el método del DPPH.
- Utilizando el mismo método en la muestra control, es decir, en la muestra de yogur sin adición del aceite esencial de flor de Jamaica, se pudo verificar que éste no presenta actividad antioxidante.
- La mayor actividad antioxidante se dio en la concentración de 150 ppm con un porcentaje de captación de radicales libres de 100% durante el día 1.
- La actividad antioxidante presentó decrecimiento con relación al tiempo de almacenamiento (1, 6, 11 y 16 días). El producto que presentó menor decrecimiento fue aquel al que se le adicionó la concentración de 150 ppm en aceite esencial de flor de Jamaica
- La flor de Jamaica posee capacidad antioxidante y puede ser usada como aditivo alimentario para impartir dicha propiedad y hacer que el alimento sea funcional.
- El yogurt adicionado con aceite esencial de flor de Jamaica con concentración de 100 ppm fue el que más aceptación tuvo entre los panelistas no entrenados, en cuanto a textura, sabor y aceptabilidad general.
- De igual forma el yogurt que menos aceptación tuvo entre los panelistas no entrenados fue el que presentaba la concentración de 150 ppm, en cuanto a las características de sabor y aceptabilidad general.
- El producto elaborado cumplió con todos los requisitos establecidos en lo referente a las características fisicoquímicas y microbiológicas.

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar otros tipos de estudios al aceite esencial de flor de Jamaica para que pueda ser usado en la industria alimentaria, debido a que mediante este trabajo se demuestra que posee una alta capacidad antioxidante que puede facilitar la elaboración de diversos alimentos funcionales.
- Presentar proyectos de investigación relacionados, para la adquisición de equipos e infraestructura, de tal forma que se pueda continuar con este tipo de investigaciones sobre el aprovechamiento de las sustancias naturales con actividad biológica para su posible aplicación en la industria alimentaria.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alarcón F. *et al.* (2007). Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. "Journal of Ethnopharmacology". 114. 66-71.

Alvídrez A., González B. y Jiménez Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos funcionales. Revista Respyn (Revista salud pública y nutrición). Vol. 3, nº3.

Aquino Y. y León A. Revista vinculando. Flor de Jamaica orgánica de México (*Hibiscus sabdariffa* L.). [En línea]. <http://vinculando.org/mercado/flor_jamaica.html>. [Citado en 17 de mayo de 2005].

Arcila Lozano, C.; Loarca, G., Lecona, S. y Gonzalez, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro. ALAN, mar. 2004, 54, (1): 100-111.

Ares G., Giménez A. y Deliza R. (2010). Influence of three non-sensory factors on consumer choice of functional yogurts over regular ones. "Food quality and preference". 21. 361-367.

Ashwell, M. (2001). Functional Foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. Public Health Nutrition, 4:859-863.

Astiasarán I y Martínez A. (1999). Alimentos, Composición y Propiedades. Mc.Graw-Hill. Interamericana España, 1ª edición.

Astuy. Alimentos antioxidantes. [En línea]. <<http://www.euroresidentes.com/Alimentos/salud/antioxidantes.htm>> [Citado en 2009].

Azuma, K., Ippoushi, K., Ito, H. Higashio, H. Y Terao, J. (1999). Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers, J. Sci. Food and Agric., 79: 2010-2016.

Bandoni, A. I. (2002). "Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica". Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata, La Plata – Argentina. 250 p.

Bello, A. (1999). Estudios de aceites esenciales de especie *Myrtaceae* de la flora de Pinar del Río. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas. 150p.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 28, (1):25-30.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of food microbiology* vol.94, Issue 3:223-253.

Carvajal O., Waliszewski S. e Infanzón R. Revista de divulgación científica y tecnológica de la universidad veracruzana. La ciencia y el hombre. Volumen XIX. Número 2. [En línea]. <<http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol19num2/articulos/jamaica/index.html>>. [Citada en agosto de 2006].

Castañeda B. *et al.* (2008). Probiótico elaborado en base a las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (chocho o tarwi). *Acta Med. Perú.* 210-215.

Causse. (2010). Los secretos de salud de los antioxidantes. Editorial Hispano Europea. 96 p.

Códex Alimentarius. Norma del Códex para leches fermentadas. CODEX STAN 243-2003. [En línea]. <www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS_243s.pdf>. [Citado en 2003].

Cortés M. (2000). Cátedra Agraria. Alimentos funcionales. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

Challem J. y Block M. (2008). Antioxidantes Naturales: Como reducir el riesgo de Cáncer, alzheimer y enfermedades cardiovasculares. Ediciones Nowtilus S.L. p. 30.

Espín J., García M. y Tomás F. (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry* 68. 2.986-3.008.

Fernández S., Rodríguez I., Beltrán R., Pasini F., Joven J., Micol V., Segura A. y Fernández A. (2011). Quantification of the polyphenolic fraction and *in vitro* antioxidant and *in vivo* antihyperlipemic activities of *Hibiscus Sabdariffa* aqueous extract. "Food Research International". 44. 1940-1945.

Festy D. (2007). Antioxidantes: Guía práctica. Ediciones Robin book. España. p. 17.

Goupy, P; Hugues' M; Boivin, P. (1999) Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. Institut National de la Recherche Agronomique, Vandoeuve Cedex, France, 79 (12): 1625 –1634.

Hernández C. y Serna S. Revista Transferencia (Revista Digital de Posgrado, Investigación y Extensión del Campus Monterrey). “Alimentos nutraceuticos...el futuro de nuestra alimentación”. 61. [En línea]. <<http://www.mty.itesm.mx/die/ddre/transferencia/63/63-III.03.html>>. [Citado en enero de 2003].

Herrera S., Flores M., Chávez S. y Tortoriello J. (2004). Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. “Phytomedicine”. 11: 375–382.

Hirunpanich V. *et al.* (2006). Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* L, in hypercholesterolemic rats. “Journal of Ethnopharmacology”. 103. 252-260.

Intermediate Technology Development Group ITDG- Perú, (1998). Fondo de las naciones unidas para el fondo de la mujer. Procesamiento de lácteos. Lima, Perú. [Libro de consulta sobre tecnologías aplicadas al ciclo alimentario, 4].

Jorge León. (2000). “Botánica de los cultivos tropicales”. IICA.

Jorge León. (1968). “Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales”. IICA.

Kahkoren, MP. Hopia, Al., Vucrela, HJ., Rauha, J-P., Pihlaja, Kujala, TS.y Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Department of Applied Chemistry and Microbiology, Division of Food Chemistry, University of Helsinki *J. Agric. Food Chem.*; 47(10): 3954-3962.

Karaaslan M., Ozden M., Vardin H. y Turkoglu H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. “Food science and technology”. Volumen 44, Número 4. 1065-1072.

Lampe J. (1.999) Health effects of vegetables and fruit: ssesing mechanisms of action in human experimental studies American. Journal of Clinical Nutrition 70,3, 475S-490S.

Lastras P. Propiedades de las antocianinas (antocianidinas). [En línea]. <<http://saludbio.com/articulo/antocianidinas-antocianinas>>. [Citado en abril de 2009].

López. (2008). Los alimentos funcionales: Importancia y Aplicaciones. Chile alimenta. 129-789.

Madhavi D, Singhal R, Kulkarni, P. (1996). Technological aspects of food antioxidants. Food Antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives, 4:159-265

Madsen, H. L. y Bertelsen, G. (1995). Spices as antioxidants. Trends in food science & technology, 6, (8): 271-277.

Mazza, G. (2000). Alimentos funcionales. Agriculture and agri-Food Canada. Acibia, Zaragoza, España. p.385. Medicine, 26 (9/10), 1231-1237.

Murad. El yogurt. [En línea]. <<http://www.zonadiet.com/bebidas/yogurt.htm>>. [Citado en 2010].

Norma Técnica Colombiana (NTC) 805. Productos lácteos. Leches fermentadas.

Ortuño, M. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Aiyama, España, 1ed. pp.7-109.

Padilla, F., Rincón, A. y Bou-Rached L. (2008) Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia, Unidad de Análisis de Alimentos. Caracas, Venezuela. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición Vol. 58 N° 3.

Pastene, E., Gómez, M. y Speisky, H. (2009). Un sistema para la detección de antioxidantes volátiles comúnmente emitidos desde especias y hierbas medicinales. Universidad de Chile. Quim. Nova, 32(2): 482-487.

Pokorny J. y Yanishlieva N. (2006). Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. 1ª Edición. Editorial Acribia S.A. (Zaragoza). p. 56.

Prior, R. (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am J Clin Nutr* 2003;78 (suppl):570S–8S.

Ramírez J. Revista Virtual Pro (Procesos Industriales). Alimentos funcionales. [En línea]. <http://www.revistavirtualpro.com/files/ed_201006.pdf>. [Citado en junio de 2010].

Resolución 02310 de 1986. Capítulo II. De la leche fermentada.

Romero S. y Mestres J. (2004). Productos lácteos, Tecnología. Universidad Politécnica de Catalunya. Barcelona. p. 123.

Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different in vitro methods. *Free Rad Res.* 36 (2):177-187.

Saldarriaga N. Merck chemicals. Fills por un bienestar completamente saludable. [En línea]. <http://www.merck-chemicals.com.co/alimentos-funcionales/c_yYKb.s1OJuoAAAEauh4tSxKn>. [Citado en 2012].

Sánchez, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems (métodos utilizados para evaluar la captación de radicales libres de la actividad en los Alimentos y Sistemas Biológicos). *Food Sci Tech Int.*, 8 (3):121-137.

Simándi, B., Oszagyán, M., Lemberkovics, É. Kéry, Á. Kaszács. J, Thyrión, F.y Mátyás, T. (1998). Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of oregano oleoresin. *Food Res. Int.*; 31 (10): 723-728.

Stashenko, E. E., Puertas, M. A. y Combariza, M.Y. (1996). Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation-solvent extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, 752(1-2):223- 232.

Thomann, R., Ehrich, J. y Bauermann, U. (1993). Destillation and use of essential oils from dill, celery, lovage and parsley made in Germany. *Acta Hort.* 333:101-11.

Tortora *et al.* (2007). Introducción a la microbiología. Buenos Aires. Médica panamericana S. A. Novena edición, 988 p.

Vanaclocha B. y Cañigüeral S. (2003). Fitoterapia: vademécum de prescripción. Elsevier.

Violeta. Agua de Jamaica y una buena salud. [En línea]. <<http://www.jugosylicuados.com/agua-de-jamaica-y-una-buena-salud/37/>>. [Citado en 22 de octubre de 2006].

Yépez, B. (2001). Extracción de aceite esencial de limoncillo (*Cymbopogon citratus*) con dióxido de carbono super crítico. Univalle, XXI Congreso Colombiano de Ingeniería Química, 3, 5.

Zamora S. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud (Antioxidants: micronutrients fighting for health). Programa de Maestría en nutrición humana. Universidad de Costa Rica. Rev chil nutr vol. 34, nº1.

12. ANEXOS

Cartagena, 19 de abril de 2013

% CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES POR DPPH

DOSIS: 0 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	0
6 días	09-04-2013	0
11 días	15-04-2013	0
16 días	19-04-2013	0

DOSIS: 50 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	16,67
11 días	15-04-2013	9,52
16 días	19-04-2013	0

DOSIS: 100 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	23,81
11 días	15-04-2013	14,28
16 días	19-04-2013	2,38

DOSIS: 150 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4°C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	04-04-2013	100
6 días	09-04-2013	33,33
11 días	15-04-2013	23,81
16 días	19-04-2013	7,14

ORLANDO DE LA ROSA MERCADO, Q.F.
ANALISTA PROFESIONAL

Cartagena, 04 de Mayo de 2013

Señor(es)

KAREN ZABALETA

KAREN RAMOS

Ciudad

Cordial saludo.

A continuación informamos el resultado del análisis practicado a una (1) muestra de yogurt con 100 ppm de aceite de flor de Jamaica.

% CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES POR DPPH

DOSIS: 100 ppm de aceite de flor de Jamaica en yogurt

DIAS DE ALMACENAMIENTO, refrigerados a 4 °C	Fecha	% de captación de radicales libres por DPPH
1 día	19-04-2013	100
6 días	24-04-2013	100
11 días	29-04-2013	91,30
16 días	04-05-2013	78,26

ORLANDO DE LA ROSA MERCADO, Q.F.

ANALISTA PROFESIONAL

Cartagena, 15 de Marzo de 2013

Señor(es)

KAREN ZABALETA
KAREN RAMOS

Ciudad

Cordial saludo.

A continuación informamos el resultado del análisis practicado a una (1) muestra de aceite esencial de flor de Jamaica por duplicado.

PARÁMETROS		Normas
MUESTRA	Aceite de flor de Jamaica	
Fecha	15-03-2013	
Densidad, g/cc a 25 pc	0,8802±0,0002	AOAC 940.28/90
Índice de refracción a 25°C	1,4565±0,0004	AOAC 919.28/90
Índice de acidez, mg KOH/g	0,32±0,02	AOAC 940.28/90
Índice de Yodo, g I ₂ /100 g	2,83±0,04	AOAC 940.150/90
% de captación de radicales libres por DPPH	74,23	
Índice de TBA, mg malonaldehido/100 g	< 0,05	AOACS 19.90

Cordialmente

ORLANDO DE LA ROSA MERCADO, Q. F.
ANALISTA PROFESIONAL