

**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA CON CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES  
BASADA EN UNA MEZCLA DE LECHE CON LA PULPA NATURAL DE UNA  
FRUTA REGIONAL ANDINA: TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* (Cav.)  
Sendtn) COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL DESARROLLO  
AGROINDUSTRIAL DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**MARGARETH GISSETH SANTANDER MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
SAN JUAN DE PASTO  
2013**

**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA CON CARACTERISTICAS FUNCIONALES  
BASADA EN UNA MEZCLA DE LECHE CON LA PULPA NATURAL DE UNA  
FRUTA REGIONAL ANDINA: TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* (Cav.)  
Sendtn) COMO UNA ALTERNATIVA PARA EL DESARROLLO  
AGROINDUSTRIAL DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.**

**MARGARETH GISSETH SANTANDER MUÑOZ**

**Trabajo de grado en modalidad de investigación presentado como requisito  
parcial para optar al título de Ingeniera Agroindustrial**

**Asesor:  
Ph. D. OSWALDO OSORIO MORA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
SAN JUAN DE PASTO  
2013**

## **NOTA DE RESPONSABILIDAD**

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo son responsabilidad exclusiva de su autora”

Artículo 1º de acuerdo 324 de octubre 11 de 1966 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

Firma del Asesor  
OSWALDO OSORIO MORA

---

Firma del Jurado  
DIEGO MEJIA ESPAÑA

---

Firma del Jurado  
MAURICIO BUCHELI JURADO

San Juan de Pasto, 6 de Noviembre de 2013

## **DEDICATORIA**

Durante el vivir hay que reinventarse no menos de mil maneras ni más de las necesarias para continuar llenando el espacio que nos abunda de sueños realizados y de otros menesteres que otorgan de sentido a la existencia. Es así como en esa búsqueda de la felicidad es imposible prescindir de aquellos que te obsequian una parte de sí mismos y te motivan a crecer en conciencia.

Por tanto, la llegada a este triunfo la agradezco a Dios, el cual es el Maestro quien me enseñó que lo imposible deja de serlo cuando se hace, tan solo se requiere ser constante durante el camino.

De igual forma, quiero hacer partícipe de mi alegría a mis Padres, mi Hermanita, mi Tía especial: Gabrielita y en general a toda mi familia, puesto que con cada amanecer recibo su bondad de corazón, su apoyo incondicional y su amor sin medida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Ph.D Oswaldo Osorio por su asesoría en el desarrollo del proyecto.

Ing. Mauricio Bucheli y M.Sc. Diego Mejía, quienes con su valiosa colaboración permitieron direccionar el proyecto cuando la duda y la dificultad se hicieron presentes.

Juan Pablo Jiménez y David Arturo por su amable colaboración en el desarrollo de procedimientos y análisis del proyecto.

Iván Otero y al Docente Arsenio Hidalgo por su aporte en equipos y asesoría estadística del proyecto.

Grupo de investigación TEA por el aporte en materiales, instalaciones y equipos para la realización de esta investigación.

Vicerrectoría de investigaciones postgrados y relaciones internacionales-VIPRI por la financiación del presente proyecto.

Laboratorios Especializados Universidad de Nariño por toda la ayuda brindada en el desarrollo de procedimientos y análisis.

Funcionarios del SENA por su contribución en la realización de la investigación.

Personal de planta piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial por su apoyo y gentileza.

A todos los docentes, compañeros y a cada una de las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

Pág.

INTRODUCCIÓN.....	25
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
2. OBJETIVOS .....	31
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	31
2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	31
3. MARCO TEÓRICO.....	32
3.1. TOMATE DE ÁRBOL ( <i>Solanum betaceum</i> ).....	32
3.2. PEROXIDASA (POD).....	33
3.2.1. Mecanismo de reacción.....	34
3.2.2. Estabilidad térmica.....	35
3.2.3. Capacidad de regeneración.....	35
3.3. LECHE.....	35
3.4. ALIMENTOS FUNCIONALES.....	36
3.5. BEBIDAS BASADAS EN UNA MEZCLA DE LECHE Y FRUTAS .....	39
3.6. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LAS BEBIDAS .....	45
3.6.1. Vida útil .....	45
3.6.2. Tratamientos de conservación aplicados a las bebidas.....	45
4. METODOLOGÍA .....	48
4.1. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL Y LA LECHE.....	48
4.1.1. Adquisición de la materia prima.....	48
4.1.2. Tratamiento del tomate de árbol.....	48
4.1.3. Análisis fisicoquímico de las materias primas.....	49
4.1.3.1. Tomate de árbol.....	49
4.1.3.2. Leche.....	51
4.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RESIDUAL DE POD EN LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS.....	52
4.2.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE POD EN LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL.....	52
4.2.1.1. Metodología de extracción de POD.....	52
4.2.1.2. Obtención del extracto enzimático.....	52
4.2.1.3. Metodología de medición de la actividad POD.....	53
4.2.1.4. Medición de actividad POD.....	53
4.2.1.5. Diseño experimental.....	54
4.2.1.6. Tratamiento térmico .....	54
4.2.1.7. Diseño experimental .....	56
4.2.1.8. Diseño de los análisis .....	57
4.3. DETERMINACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA BEBIDA CON BASE EN LA ACEPTABILIDAD DE SUS PROPIEDADES SENSORIALES .....	58
4.3.1. Evaluación Sensorial.....	59

4.4.	DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA BEBIDA A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, ÁCIDO ASCÓRBICO Y CAROTENOIDES .....	60
4.4.1.	Evaluación de la actividad antioxidante .....	60
4.4.2.	Determinación del contenido de fenoles totales .....	62
4.4.3.	Determinación de ácido ascórbico.....	62
4.4.4.	Determinación de carotenoides. ....	63
4.5.	EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO .....	65
4.5.1.	Condiciones de almacenamiento .....	65
4.5.2.	Características fisicoquímicas .....	65
4.5.3.	Actividad Microbiológica.....	67
4.5.4.	Reactivación de POD.....	67
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	68
5.1.	DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL Y LA LECHE .....	68
5.1.1.	Análisis fisicoquímico de las materias primas.....	68
5.1.1.1.	Tomate de árbol.....	68
5.1.1.2.	Leche.....	69
5.2.	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RESIDUAL DE POD EN LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL ( <i>Solanum betaceum</i> (Cav.) Sendtn) PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO.....	70
5.2.1.	Estandarización del protocolo de extracción y medición de POD .....	70
5.2.2.	Evaluación de la efectividad de los tratamientos térmicos sobre la inactivación de POD en la pulpa .....	77
5.3.	DETERMINACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA BEBIDA CON BASE EN LA ACEPTABILIDAD DE SUS PROPIEDADES SENSORIALES .....	83
5.3.1.	Balances de materia para determinar las formulaciones de la bebida a ser empleadas en la evaluación sensorial .....	83
5.3.2.	Análisis estadístico de la prueba sensorial afectiva-medición del grado de satisfacción a través de la escala hedónica verbal.....	87
5.4.	DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA BEBIDA A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, ÁCIDO ASCÓRBICO Y CAROTENOIDES .....	93
5.4.1.	Análisis fisicoquímico de la bebida .....	93
5.4.2.	Determinación del contenido de fenoles totales en la bebida .....	95
5.4.2.1.	Análisis estadístico .....	98
5.4.3.	Determinación del contenido de ácido ascórbico.....	100
5.4.3.1.	Análisis estadístico .....	104
5.4.4.	Determinación del contenido de carotenoides.....	106
5.4.4.1.	Análisis estadístico .....	110
5.4.5.	Evaluación de la capacidad antioxidante de la bebida .....	112
5.4.5.1.	Análisis estadístico .....	116
5.5.	EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, Y FÍSICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO .....	119
5.5.1.	Análisis de las características fisicoquímicas durante el almacenamiento .....	119
5.5.1.1.	Análisis estadístico del pH de la bebida durante el almacenamiento .....	120

5.5.1.2. Análisis estadístico de la acidez de la bebida durante el almacenamiento .....	122
5.5.1.3. Análisis estadístico de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento .....	125
5.5.2. Análisis microbiológico de la bebida durante el almacenamiento .....	127
5.5.2.1. Análisis estadístico .....	131
5.5.3. Reactivación de POD en la bebida durante el almacenamiento. ....	133
5.5.3.1. Análisis estadístico .....	136
6. CONCLUSIONES.....	138
7. RECOMENDACIONES .....	140
BIBLIOGRAFÍA.....	141
ANEXOS .....	163

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Métodos y técnicas para la caracterización de la materia prima .....	51
Cuadro 2. Factores experimentales del DCC para la estandarización del protocolo de extracción y medición enzimática de POD.....	52
Cuadro 3. Variable respuesta del DCC para la estandarización del protocolo de extracción y medición enzimática de POD.....	54
Cuadro 4. Tratamientos térmicos empleados en la inactivación de POD en frutas y vegetales .....	55
Cuadro 5. Factores experimentales del DCC para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad residual de POD .....	57
Cuadro 6. Variable respuesta del DCC para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad residual de POD .....	57
Cuadro 7. Análisis Físicoquímico del tomate de árbol.....	69
Cuadro 8. Análisis Físicoquímico de leche UHT descremada .....	70
Cuadro 9. Actividad enzimática promedio de cada tratamiento de POD en pulpa de tomate de árbol.....	71
Cuadro 10. Análisis de Varianza para Actividad POD en Pulpa de tomate de árbol .....	72
Cuadro 11. Optimización de la actividad POD .....	73
Cuadro 12. Actividad Residual promedio de POD de cada tratamiento en Pulpa de tomate de árbol pasteurizada .....	77
Cuadro 13. Análisis de Varianza para Actividad Residual de POD en Pulpa de tomate de árbol pasteurizada .....	79
Cuadro 14. Optimización de la Actividad residual de POD .....	81
Cuadro 15. Propiedades físicoquímicas de las muestras de tomate de árbol analizadas.....	84
Cuadro 16. Balance de materia para estandarizar el IM del tomate de árbol.....	85
Cuadro 17. Balance de materia para la formulación de la bebida con leche UHT descremada .....	85
Cuadro 18. Balance de materia para la formulación de la bebida con la mezcla de leche UHT descremada y agua en proporción 70:30.....	86
Cuadro 19. Balance de materia para la formulación de la bebida con la mezcla de leche UHT descremada y agua en proporción 40:60.....	86
Cuadro 20. Formulaciones de las muestras de bebida para la evaluación sensorial .....	87
Cuadro 21. Análisis de varianza para color .....	87
Cuadro 22. Prueba LSD Fisher para color .....	88
Cuadro 23. Análisis de varianza para olor.....	88
Cuadro 24. Prueba LSD Fisher para olor .....	89
Cuadro 25. Análisis de varianza para sabor.....	89
Cuadro 26. Prueba LSD Fisher para sabor .....	90
Cuadro 27. Análisis de varianza para viscosidad .....	90

Cuadro 28. Prueba LSD Fisher para viscosidad .....	91
Cuadro 29. Análisis fisicoquímico de la bebida .....	93
Cuadro 30. Cantidad de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento	96
Cuadro 31. Resumen estadístico del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	98
Cuadro 32. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	98
Cuadro 33. Prueba LSD Fisher para el contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	100
Cuadro 34. Contenido de ácido ascórbico en la bebida durante el almacenamiento .....	101
Cuadro 35. Resumen estadístico del contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento.....	104
Cuadro 36. Análisis de varianza para el contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento.....	105
Cuadro 37. Prueba LSD Fisher para el contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento.....	105
Cuadro 38. Contenido de $\beta$ -caroteno en la bebida durante el almacenamiento..	106
Cuadro 39. Identificación de carotenos en las muestras de la bebida durante el almacenamiento por HPLC-PDA scan (210-500nm) .....	107
Cuadro 40. Resumen estadístico del contenido de $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento.....	110
Cuadro 41. Análisis de varianza para el contenido de $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento.....	111
Cuadro 42. Prueba LSD Fisher de varianza para el contenido de $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento .....	111
Cuadro 43. Capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento....	113
Cuadro 44. Resumen estadístico de la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento.....	116
Cuadro 45. Análisis de varianza para la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento.....	117
Cuadro 46. Prueba LSD Fisher para la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento.....	117
Cuadro 47. Características fisicoquímicas de la bebida durante el almacenamiento .....	119
Cuadro 48. Resumen estadístico del pH de la bebida durante el almacenamiento .....	120
Cuadro 49. Análisis de varianza para el pH de la bebida durante el almacenamiento .....	120
Cuadro 50. Prueba LSD Fisher para el pH de la bebida durante el almacenamiento .....	121
Cuadro 51. Resumen estadístico de la acidez de la bebida durante el almacenamiento .....	122
Cuadro 52. Análisis de varianza de la acidez de la bebida durante el almacenamiento .....	122

Cuadro 53. Prueba LSD Fisher para la acidez de la bebida durante el almacenamiento .....	123
Cuadro 54. Resumen estadístico de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	125
Cuadro 55. Análisis de varianza para los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	125
Cuadro 56. Prueba LSD Fisher para sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	126
Cuadro 57. Análisis microbiológicos realizados a la bebida durante cinco semanas de almacenamiento a 4°C.....	127
Cuadro 58. Análisis microbiológicos realizados a la bebida durante la primera semana de almacenamiento a 4°C.....	130
Cuadro 59. Resumen estadístico del recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento.....	131
Cuadro 60. Análisis de varianza del recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento.....	131
Cuadro 61. Prueba LSD Fisher para el recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento.....	132
Cuadro 62. Actividad residual de POD durante el almacenamiento.....	133
Cuadro 63. Actividad POD del puré de fresa (%del puré fresco) .....	133
Cuadro 64. Resumen estadístico de la Actividad enzimática POD en la bebida durante el almacenamiento.....	136
Cuadro 65. Análisis de varianza para actividad enzimática de POD en la bebida durante el almacenamiento.....	136
Cuadro 66. Prueba LSD Fisher para actividad enzimática de POD en la bebida durante el Tiempo de almacenamiento.....	137

## LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Extracción de la pulpa de tomate y determinación de algunas propiedades fisicoquímicas.....	50
Figura 2. Determinación de algunas propiedades fisicoquímicas de la leche mediante EKOMILK .....	51
Figura 3. Extracción enzimática y determinación de la actividad de POD.....	53
Figura 4. Tubos capilares empleados en la pasteurización.....	56
Figura 5. Proceso de elaboración de la bebida de leche y tomate de árbol .....	59
Figura 6. Muestras de Bebida para análisis .....	59
Figura 7. Aplicación de la prueba sensorial afectiva en el campus Universitario ..	60
Figura 8. Determinación de la curva de calibración con trolox para evaluar la capacidad antioxidante de la bebida.....	61
Figura 9. Determinación de la curva de calibración con ácido gálico para evaluar fenoles totales en la bebida .....	62
Figura 10. Extracción y determinación de ácido ascórbico en la bebida .....	63
Figura 11. Extracción de carotenoides en la bebida.....	64
Figura 12. Inyección de una muestra de carotenoides de la bebida en el equipo HPLC .....	65
Figura 13. Determinación de propiedades fisicoquímicas en la bebida.....	66
Figura 14. Determinación de densidad y viscosidad en la bebida.....	67
Figura 15. Muestra de Bebida en el día 47 de almacenamiento .....	124

## LISTA DE GRÁFICAS

Pág.

Gráfica 1. Efectos principales para Actividad POD del Tiempo de Centrifugación, la Cantidad de Pulpa y el Volumen de Extracto sobre la Actividad Peroxidasa en pulpa de tomate de árbol. ....	75
Gráfica 2. Gráfico de interacción del Tiempo de Centrifugación, la Cantidad de Pulpa y el Volumen de Extracto sobre la Actividad POD en pulpa de tomate de árbol.....	76
Gráfica 3. Superficie de respuesta estimada para un tiempo de centrifugación de 30 minutos .....	76
Gráfica 4. Curva patrón de cinética de POD .....	78
Gráfica 5. Parte Lineal de la curva de Cinética de POD.....	78
Gráfica 6. Efectos principales para Actividad Residual de POD.....	80
Gráfica 7. Gráfica de interacción de factores para Actividad Residual POD .....	81
Gráfica 8. Superficie de respuesta estimada para Actividad residual de POD .....	83
Gráfica 9. Evolución del índice de madurez del tomate de árbol durante el proceso de crecimiento y maduración .....	84
Gráfica 10. Gráfica de medias para color .....	88
Gráfica 11. Gráfica de medias para olor.....	89
Gráfica 12. Gráfica de medias para sabor.....	90
Gráfica 13. Gráfica de medias para viscosidad .....	91
Gráfica 14. Valoración global de los atributos de la bebida evaluados por los consumidores en la prueba sensorial .....	92
Gráfica 15. Curva de calibración para determinar la cantidad de fenoles totales..	95
Gráfica 16. Variación del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento .....	97
Gráfica 17. Gráfica de medias del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento.....	100
Gráfica 18. Variación del contenido de ácido ascórbico en la bebida durante el almacenamiento .....	102
Gráfica 19. Gráfica de medias del contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento.....	106
Gráfica 20. Variación del contenido de $\beta$ -caroteno en la bebida durante el almacenamiento .....	108
Gráfica 21. Gráfica de medias del contenido para el contenido de $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento.....	112
Gráfica 22. Curva de calibración para evaluar la actividad antioxidante en la bebida .....	113
Gráfica 23. Variación de la capacidad antioxidante total de la bebida durante el tiempo de almacenamiento.....	114
Gráfica 24. Gráfica de medias de la capacidad antioxidante de la bebida durante el tiempo de almacenamiento .....	118
Gráfica 25. Comportamiento de las características fisicoquímicas de la bebida durante el almacenamiento: (A) pH y SST y (B) Acidez. ....	119

Gráfica 26. Gráfica de medias de la variación de pH de la bebida durante el almacenamiento .....	122
Gráfica 27. Gráfica de medias de la variación de la acidez de la bebida durante el almacenamiento .....	123
Gráfica 28. Gráfica de medias de la variación de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento .....	126
Gráfica 29. Crecimiento microbiano de mesófilos en la bebida durante el almacenamiento .....	128
Gráfica 30. Seguimiento de las bacterias mesófilas durante la primera semana de almacenamiento .....	130
Gráfica 31. Gráfica de medias del crecimiento microbiano de mesófilos en la bebida durante el almacenamiento .....	132
Gráfica 32. Actividad enzimática residual de POD en la bebida durante el almacenamiento .....	134
Gráfica 33. Actividad enzimática de POD en la bebida durante el almacenamiento: (A) curva patrón y tratamientos y (B) tratamientos. ....	135
Gráfica 34. Gráfica de medias para actividad enzimática de POD en la bebida durante el Tiempo de almacenamiento.....	137

## LISTA DE DIAGRAMAS

**Pág.**

Diagrama 1. Diagrama de flujo de la obtención de la pulpa de tomate de árbol ..	49
Diagrama 2. Diagrama de pareto estandarizado para Actividad Enzimática de POD en pulpa de tomate de árbol .....	74
Diagrama 3. Diagrama de Pareto estandarizado para Actividad Residual de POD .....	80

## LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1. METODOLOGIAS DE EXTRACCION DE PEROXIDASA.....	164
Anexo 2. METODOLOGIAS DE MEDICION DE PEROXIDASA .....	166
Anexo 3. MATRIZ DE DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA ESTANDARIZACIÓN DEL PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y MEDICIÓN ENZIMÁTICA DE POD .....	171
Anexo 4. MATRIZ DE DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR EL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS SOBRE LA ACTIVIDAD RESIDUAL DE POD.....	172
Anexo 5. HOJAS DE RESPUESTA DE LA PRUEBA SENSORIAL AFECTIVA DE LA BEBIDA.....	173
Anexo 6. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=1)...	174
Anexo 7. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=2)...	175
Anexo 8. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=3)...	176
Anexo 9. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA LECHE UHT DESCREMADA (n=1).....	177
Anexo 10. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA LECHE UHT DESCREMADA (n=2).....	178
Anexo 11. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN LA PULPA DE TOMATE DE ARBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO (n=1).....	179
Anexo 12. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN LA PULPA DE TOMATE DE ARBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO (n=2).....	180
Anexo 13. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=1).....	181
Anexo 14. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=2).....	182
Anexo 15. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=3).....	183
Anexo 16. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA.....	184
Anexo 17. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA.....	192
Anexo 18. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=1).....	199
Anexo 19. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=2).....	200
Anexo 20. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=3).....	201
Anexo 21. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO DE LA BEBIDA (n=1) DEL DÍA CERO DE ALMACENAMIENTO.....	202

Anexo 22. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO DE LA BEBIDA (n=2) DEL DÍA CERO DE ALMACENAMIENTO .....	203
Anexo 23. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	204
Anexo 24. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	205
Anexo 25. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	206
Anexo 26. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	207
Anexo 27. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	208
Anexo 28. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	209
Anexo 29. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	210
Anexo 30. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	211
Anexo 31. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	212
Anexo 32. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	213
Anexo 33. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	214
Anexo 34. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	215
Anexo 35. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	216
Anexo 36. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO.....	217
Anexo 37. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO .....	218
Anexo 38. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 0 (n=1) .....	219
Anexo 39. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 0 (n=2) .....	220
Anexo 40. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 1 (n=1) .....	221
Anexo 41. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 1 (n=2) .....	222
Anexo 42. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 2 (n=1) .....	223
Anexo 43. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 2 (n=2) .....	224

Anexo 44. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 3 (n=1) .....	225
Anexo 45. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 3 (n=2) .....	226
Anexo 46. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 4 (n=1) .....	227
Anexo 47. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 4 (n=2) .....	228
Anexo 48. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 5 (n=1) .....	229
Anexo 49. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 5 (n=2) .....	230
Anexo 50. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 6 (n=1) .....	231
Anexo 51. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 6 (n=2) .....	232
Anexo 52. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 7 (n=1) .....	233
Anexo 53. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 7 (n=2) .....	234

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido ascórbico
Abs	Absorbancia
AR	Actividad residual
DE	Desviación estándar
°C	Grados celcius
DCC	Diseño de composición central
DO	Densidad óptica
FJ-SM	Jugo de fruta con leche descremada
FJ-SoyM	Jugo de fruta con leche de soja
FJ-WM	Jugo de fruta con leche entera
g	gramo
GAE	Equivalente ácido gálico
Kg	Kilogramo
L	Litro
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	milímetro
M	Molar
mM	Milimolar
N	Normal
nm	nanómetro
N.R.	No reporta
ND	No detectado
PG	Poligalacturonasa
PME	Pectínmetilesterasa
POD	Peroxidasa
PP	Porcentaje de pulpa
ppm	Partes por millón
p/v	Peso/volumen
R	Relación
r/min	Revoluciones por minuto
s	Segundos
SST	Sólidos solubles totales
t	Tiempo
TC	Tiempo de centrifugación
T	Temperatura
Ton	Tonelada
UFC	Unidades formadoras de colonia
UHT	Ultra alta temperatura
µL	Microlitro
VE	Volumen de extracto

## RESUMEN

El creciente interés en el estudio de los compuestos antioxidantes naturales se ha visto acompañado por un aumento en el mercado de los llamados alimentos funcionales, dentro de los cuales reciben considerable atención las bebidas basadas en frutas y productos lácteos. Es así como se desarrolló una bebida basada en la mezcla de leche UHT descremada con pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn).

Previamente al desarrollo de la bebida, se evaluó la actividad enzimática de Peroxidasa en pulpa de tomate de árbol, para lo cual se estandarizó el protocolo de extracción y medición de la enzima, empleando un diseño experimental de composición central (DCC)  $2^3$  más puntos estrellas y puntos centrales con metodología de superficie de respuesta con dos repeticiones para un total de 32 unidades experimentales y se hizo variar el tiempo de centrifugación (TC) entre 10-30 min, el porcentaje de pulpa en la extracción (PP) entre 20-50% y la cantidad de extracto enzimático (VE) empleado en la medición, entre 30-90  $\mu\text{L}$ , resultando como valores óptimos para maximizar la actividad enzimática un TC de 34 min, PP de 60% y un VE de 110  $\mu\text{L}$ .

Adicionalmente la pulpa de tomate de árbol fue sometida a tratamientos térmicos tomando como referencia la inactivación de peroxidasa (POD), teniendo en cuenta que es una de las enzimas más termoestables, que afecta negativamente las características organolépticas del producto. Para ello, también se empleó un DCC  $2^3$  más puntos estrellas y puntos centrales con metodología de superficie de respuesta con dos repeticiones y un total de 32 unidades experimentales y se evaluaron condiciones de temperatura y tiempo entre 60 a 90°C y 20 a 60 s, respectivamente, resultando como óptima una pasteurización a 92°C por 56 s, tratamiento con el cual también se logró la inocuidad de la pulpa.

Por otra parte, la bebida empleada para el análisis de su capacidad antioxidante mediante el método DPPH, la determinación de contenido de fenoles totales a través del método de Folin-Ciocalteu, la determinación de ácido ascórbico y carotenoides por cromatografía líquida de alto rendimiento, así como también para realizar el análisis microbiológico, el seguimiento de sus propiedades fisicoquímicas y la reactivación de POD durante un mes almacenamiento a 4°C, fue obtenida tomando como referencia las mayores calificaciones en cuanto a sabor y viscosidad después de realizar una evaluación sensorial.

De esta manera, se observó una disminución en el contenido de fenoles totales de  $33,150 \pm 2,020$  hasta  $21,467 \pm 1,360$  mg GAE/100 mL, al igual que en el contenido de ácido ascórbico de  $12,967 \pm 0,603$  hasta  $5,167 \pm 0,321$  mg/100 mL y en el de  $\beta$ -caroteno de  $243,00 \pm 5,66$  hasta  $146,50 \pm 2,12$   $\mu\text{g}/100$  mL, durante el almacenamiento a 4°C, lo cual se reflejó en la disminución de la capacidad antioxidante de la bebida de  $3,450 \pm 0,041$  a  $1,581 \pm 0,025$  mmol Trolox/L. Por otra

parte, el pH y los sólidos solubles totales no presentaron un descenso significativo, mientras que la acidez aumentó con el tiempo. Además, los análisis microbiológicos permitieron establecer que la bebida almacenada a 4°C tiene un periodo de vida útil de 3 días, ya que al cabo de este tiempo el recuento de mesófilos sobrepasó el límite máximo permitido por la normatividad vigente.

**Palabras clave:** TOMATE DE ÁRBOL, BEBIDAS CON LECHE, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, ÁCIDO ASCÓRBICO, COMPUESTOS FENÓLICOS, CAROTENOIDES, PASTEURIZACIÓN, PEROXIDASA, ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

## ABSTRACT

The growing interest in the study of natural antioxidant compounds has been accompanied by an increase in the market of so-called functional foods, within which receive considerable attention beverages based in fruits and dairy products. Thus we developed a drink from the UHT skim milk mixture with tree tomato (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) pulp.

Previously to the development of the beverage, POD enzymatic activity was evaluated and standardized the extraction and measurement protocol of the enzyme, using a central composite experimental design (CCD)  $2^3$  more star and central points with response surface methodology with two replicates for a total of 32 experimental units, it was varied the centrifugation time (CT) between 10-30 min, the percentage of pulp in the extraction (PP) between 20-50% and the amount of the enzyme extract (EV) used in the measurement, 30-90  $\mu\text{L}$ , resulting optimum values as to maximize the enzyme activity a CT of 34 min, a PP of 60% and an EV of 110  $\mu\text{L}$ .

Additionally the tree tomato pulp was subjected to heat treatment with the aim of the inactivate peroxidase, considering that it is one of the most thermostable enzymes, which adversely affects the organoleptic characteristics of the product. For this we also used a CCD  $2^3$  more star and central points with response surface methodology with two replications and a total of 32 experimental units and evaluated conditions of temperature and time between 60 to 90°C and 20 to 60 s, respectively, resulting as optimal pasteurization at 92°C for 56 s, which treatment also achieved the safety of the pulp.

Moreover, the beverage used for analysis in antioxidant capacity by DPPH method, the determination of total phenol content through the Folin-Ciocalteu method, the determination of ascorbic acid and carotenoids by high performance liquid chromatography as well as for microbiological analysis, monitoring of their physicochemical properties and the reactivation of POD for one month storage at 4°C, was obtained by reference to the highest marks for taste and viscosity after performing a sensory evaluation.

Thus, there was a reduction in total phenolic content of  $33,150 \pm 2,020$  to  $21,467 \pm 1,360$  mg GAE/100 mL, in the ascorbic acid content of  $12,967 \pm 0,603$  to  $5,167 \pm 0,321$  mg/100 mL and the  $\beta$ -carotene content of  $243,00 \pm 5,66$  to  $146,50 \pm 2,12$   $\mu\text{g}/100$  mL during storage at 4°C, which is reflected in the decrease in the antioxidant capacity of the beverage of  $3,450 \pm 0.041$  to  $1.581 \pm 0.025$  mmol Trolox/L. Moreover, pH and total soluble solids not had a significant decrease, while the acidity increased with time. In addition, microbiological analyzes allowed to establish that the beverage has a lifetime stored at 4°C of 3 days, and that after this time the mesophilic count exceeded the maximum limit allowed by current regulations.

**Keywords:** TREE TOMATO, MILK DRINKS, ANTIOXIDANT CAPACITY, ASCORBIC ACID, PHENOLIC COMPOUNDS, CAROTENOIDS, PASTEURIZATION, PEROXIDASE ENZYME ACTIVITY.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad los consumidores buscan adquirir productos naturales que satisfagan los requerimientos nutricionales y que adicionalmente aporten beneficios a la salud por su contenido de compuestos bioactivos, dando lugar a una disminución de la mortalidad y una mejor calidad de vida de la población. Por tanto, la industria alimentaria busca elaborar este tipo de alimentos conocidos como funcionales debido a una mayor conciencia de los efectos de los alimentos sobre la salud.

De acuerdo a lo anterior, una gran cantidad de alimentos líquidos pasteurizados basados en bebidas de frutas y leche han aparecido en el mercado y están cobrando mayor popularidad debido a que sus atributos promueven la salud (Pszczola, 2005). Es así como el mercado de alimentos y bebidas funcionales ha experimentado un rápido crecimiento en los últimos años, y representa una oportunidad de innovación en el desarrollo de nuevos productos, tanto para la industria alimentaria y la comunidad científica (Salvia *et al.*, 2011).

La investigación relacionada con los alimentos funcionales se centra en el estudio de sus propiedades antioxidantes. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir el daño oxidativo de otras moléculas como los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos por especies reactivas del oxígeno, las cuales se generan por causas ambientales (radiación, polución), por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo y se asocian al riesgo de padecer enfermedades crónicas cardiovasculares, neurodegenerativas, derrames cerebrales, cáncer, diabetes, Alzheimer, cataratas y al envejecimiento humano (Castañeda *et al.*, 2008).

Entre esas moléculas que remueven los radicales libres y que se encuentran naturalmente en los alimentos están la vitamina C, los compuestos fenólicos (flavonoides y antocianinas) y carotenoides (el  $\beta$ -caroteno que es fuente de vitamina A). Estos se consideran antioxidantes naturales ya que muchos estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de alimentos y bebidas ricos en estos se asocia con un menor riesgo de padecer enfermedades. Se consideran antioxidantes eficaces debido a su alto poder donador de electrones y a su capacidad de atrapar directamente al radical superóxido, al singlete de oxígeno, al peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (Gardner *et al.*, 2000).

Cabe resaltar que en la literatura disponible en la actualidad, hay una falta de información sobre la actividad de los antioxidantes en bebidas de leche con jugos de frutas. Además, en el departamento de Nariño no se han desarrollado investigaciones acerca de este tipo de bebidas empleando la mezcla de leche y frutas regionales a pesar del potencial de la región para su elaboración. Es por eso que el desarrollo de productos con características funcionales y su implementación por parte de empresas agroindustriales se presenta como una

alternativa para mejorar las condiciones económicas de dos cadenas productivas: la láctea y la hortofrutícola, estableciendo un panorama general que amplía el interés de muchos investigadores y empresarios alrededor de este tema.

Dicho interés se refleja en el desarrollo de algunas investigaciones en las cuales se reporta que además de tener gran preponderancia el estudio de la capacidad antioxidante de las bebidas funcionales, también es importante aplicar tecnologías para su conservación y considerar los ingredientes y su formulación (Salvia *et al.*, 2011).

Con la utilización de las tecnologías de conservación, se debe lograr la inactivación de microorganismos patógenos y de deterioro, así como la inactivación de enzimas como requisitos previos para la prolongación de la vida útil de las bebidas. Lo anterior con el fin de evitar la alteración de las propiedades organolépticas y fisicoquímicas del producto (generación de malos sabores, olores y la decoloración del producto) y evitar causar enfermedades (Velásquez *et al.*, 2012).

Estas bebidas se estabilizan comúnmente por procesos térmicos, que a pesar de constituirse en el método más sencillo y fiable para garantizar su inocuidad y estabilidad al almacenamiento, la alta temperatura alcanzada durante el proceso destruye muchos de sus constituyentes deseables, lo cual se traduce en el detrimento de sus propiedades bioactivas (Morales de la Peña *et al.*, 2011).

De acuerdo al panorama anterior, el objetivo de este proyecto se centra en la elaboración de una bebida basada en la mezcla de leche UHT descremada y pulpa natural de tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) estudiando su composición fisicoquímica y su valor funcional al evaluar sus características antioxidantes mediante el análisis de la concentración de ácido ascórbico, compuestos fenólicos, carotenoides y su estabilidad durante el almacenamiento en refrigeración, lo que podría sugerir su inclusión en el grupo de los alimentos funcionales.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y SU JUSTIFICACIÓN

Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (2006) el departamento de Nariño por su ubicación y heterogeneidad climática, presenta condiciones adecuadas para el desarrollo de frutales tanto de clima cálido como de clima frío, especialmente mora, lulo y tomate de árbol.

En el mismo sentido, Nariño dispone de 332.000 hectáreas aptas para frutales, lo cual indica que el departamento tiene área suficiente para expandir su frontera frutícola y las condiciones necesarias para ser competitivos en este subsector (M.A.D.R, 2006).

Es así como en el Consolidado agropecuario de Nariño (2010) el área sembrada de tomate de árbol por 1704 unidades productoras fue 680,5 Has, con una producción de 4477,5 Ton. De acuerdo a este panorama, el tomate de árbol es un frutal andino priorizado por su importancia social y económica, debido a que el número de población rural involucrada en su producción es significativa, constituyéndose así en un motor de desarrollo social, enmarcado en los beneficios económicos y sociales que traería la transferencia de tecnología que contribuya a la transformación de este tipo de productos en el departamento de Nariño y el mejoramiento integral de las condiciones de vida de los campesinos a través del aprovechamiento potencial que posee Nariño en el campo agrícola y la apropiación del conocimiento a favor del desarrollo social y productivo en la región.

De otra parte, el departamento de Nariño sobresale a nivel pecuario con la producción de leche. El altiplano nariñense comprende dos regiones altamente productoras de leche. La primera se ubica en el municipio de Pasto y la segunda corresponde a los municipios de Guachucal, Cumbal, Túquerres, Ipiales y Pupiales, en esta región predomina el minifundio de explotación familiar campesina, cuya producción promedio por municipio supera los 30.000 L/día. Entre todos los municipios en promedio se producen 786.288 L/día. Con un número de predios aproximado de 31.949 y 361.803 hectáreas, donde el 76% de éstos no supera el tamaño de 10 hectáreas, y el 88% de los predios tiene entre 1 y 6 cabezas con producción promedio de 22 Litros por predio (Secretaría de agricultura de Nariño, 2010).

Considerando que una familia depende directamente de un predio de producción, son alrededor de 32.000 familias que encuentran el sustento de la producción lechera, solamente en la etapa primaria.

En cuanto al eslabón industrial, en Nariño existen 57 empresas transformadoras, donde el 93% corresponde a micro empresas y 4% a pequeñas empresas, teniendo como principal deficiencia el bajo nivel de adopción de tecnologías (Solarte *et al.*, 2006).

Bajo estas afirmaciones de producción, en el mercado interno tanto las frutas como la leche tienen aplicaciones en la transformación agroindustrial, desde los productos y derivados lácteos en la leche, hasta jugos, pulpas y dulces en el caso de las frutas. Sin embargo, en Nariño no hay estudios sobre los beneficios que la mezcla de estos dos podría aportar a la salud humana, lo cual ha conducido a la necesidad de emprender investigaciones relacionadas con el desarrollo de nuevos productos enfocados en la calidad nutricional, organoléptica y funcional.

Es así como se establece que a pesar de que Nariño tiene el potencial agropecuario capaz de satisfacer al sector económico secundario de materias primas como leche y frutas, el nivel de agroindustrialización es bajo, por lo cual se requiere un proceso de dinamización, a través del desarrollo de productos que generen valor agregado. En este sentido, la cadena productiva de elaboración de este tipo de bebidas contribuiría a generar ingresos a los productores primarios y al sector encargado de la transformación, impulsando la economía regional y aportando al mejoramiento de la calidad de vida de los actores involucrados en ella.

Sumado a lo anterior, es importante establecer que hoy en día los consumidores buscan alimentos saludables que generen beneficios a la salud humana, que preserven su esencia natural y contribuyan a prevenir enfermedades, por tanto cabe resaltar que en los mercados mundiales este tipo de bebidas han tenido gran participación dada las tendencias mundiales de la alimentación. En los últimos años, se indica un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa en la reducción de ciertas enfermedades. Estos son los denominados alimentos "funcionales" (Castañeda, *et al.* 2008).

Es así como en Europa la venta de productos funcionales en 2004 ascendió a US\$ 21,5 mil millones y entre el 2005 y 2006, 400 millones de habitantes gastaron, per cápita, entre US\$ 300-400 en productos funcionales al año. Dentro de las razones por las cuales los europeos consumen alimentos y bebidas funcionales se encuentran: tratamiento de problemas de salud, salud diaria, pérdida de peso y por tener salud futura (ProCHILE, 2007).

En otros países se considera como relevante las características fisicoquímicas, nutricionales y funcionales de los alimentos por contribuir directamente al bienestar y calidad de vida; en donde se han encontrado diversidad de compuestos con capacidad antioxidante, que al ser consumidos en forma regular sin ser indispensables para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento del organismo humano influyen en uno o más procesos fisiológicos según sea su interacción con otros constituyentes (Terpinc & Abramovic, 2010).

Consciente de lo anterior, la agroindustria busca un aprovechamiento cada vez más integral de las materias primas de las que se dispone en una región y así elaborar este tipo de alimentos, partiendo de que contienen compuestos naturales que podrían sustituir aditivos de carácter sintético, puesto que el uso de antioxidantes de origen vegetal, tales como los ácidos fenólicos, flavonoides, tocoferoles, carotenoides, entre otros, en la industria alimentaria cobra cada día mayor importancia debido al efecto anticarcinogénico y a que generan otros beneficios para la salud humana (Choi *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2007; Iqbal & Bhangar, 2007; Siddhuraju & Becker, 2007).

En este sentido, la interacción entre leche y frutas, lograría dar valor agregado a estos productos, contribuir con beneficios para la salud humana y se constituye en una alternativa conducente a articular dos cadenas productivas priorizadas en el departamento de Nariño.

De esta manera, las cadenas láctea y hortofrutícola se establecen como una estrategia industrial, que parte de un proceso de integración y articulación económica y social, involucra factores como dinamización de mercados, desarrollo institucional y creación de condiciones en infraestructura a nivel regional (Yoshioka *et al.*, 2003).

De ahí, que la Gobernación de Nariño en el plan de desarrollo 2012 – 2014: NARIÑO MEJOR plantea entre sus objetivos el incentivar la investigación y el desarrollo tecnológico aplicados a las actividades productivas de la región y contribuir a elevar el nivel de ingresos de pequeños y medianos productores con base en el mejoramiento de procesos de producción, transformación, comercialización y organización socio empresarial en los diferentes sectores y fortalecer procesos para abrir nuevos mercados y mejorar los canales de comercialización de la producción regional.

De esta manera, el diseño y desarrollo de nuevos productos es fundamental para generar valor, tecnificar la producción y diversificar la demanda de productos saludables. Por tanto, la elaboración de este tipo de bebidas involucra aspectos como la formulación, la aceptabilidad de sus características organolépticas y el método de conservación.

Este último aspecto reviste especial interés, debido a que la tecnología aplicada para la conservación debe asegurar calidad nutricional, funcional y organoléptica. Actualmente se ha venido desarrollando una serie de innovaciones y tendencias, ante todo buscando además de un método de conservación idóneo, la obtención de un alimento seguro y de alta calidad sensorial y nutricional; en estas características se engloban los denominados alimentos funcionales (Andlauer y Furst, 2002; Bello, 2001). Sin embargo, el método de conservación por tratamientos térmicos, sigue siendo el proceso mediante el cual un gran porcentaje de las empresas basan su procesamiento, debido a su eficiencia y sencillez.

En este orden de ideas, la elaboración de la bebida se presenta como una oportunidad de desarrollo e innovación tanto para la industria alimentaria como para la comunidad científica, debido a que para comercializar con éxito este tipo de productos la tecnología aplicada para su conservación es considerada tan importante como los ingredientes y la formulación (Granato *et al.*, 2010).

Bajo este contexto, los anteriores aspectos condujeron al planteamiento de la siguiente pregunta de investigación:

¿Es posible desarrollar una bebida mediante la mezcla de leche y pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) que posea características funcionales, garantizando su inocuidad y conservación?

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una bebida con características funcionales basada en una mezcla de leche y una fruta regional de la zona andina: tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn), aplicando tratamientos térmicos a la pulpa.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ✓ Evaluar la actividad enzimática residual de peroxidasa (POD) en la pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) para determinar la efectividad de los tratamientos térmicos.
- ✓ Determinar la formulación de la bebida con base en la aceptabilidad de sus propiedades sensoriales.
- ✓ Determinar el potencial funcional de la bebida a través de la evaluación de su actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, ácido ascórbico y carotenoides.
- ✓ Evaluar las características microbiológicas y físicoquímicas de la bebida durante el almacenamiento.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn)

Según Belén *et al.* (2004), el tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) pertenece a la familia *Solanaceae*, originaria de Perú, incluye entre 35 y 50 especies, distribuidas en los bosques mésicos de América tropical en latitudes que van desde los 20° Norte hasta los 30° Sur, con un esparcimiento especialmente en Sur América. En general se trata de una planta arbustiva, de tallo semileñoso que alcanza hasta 5 m de altura y buen desarrollo bajo condiciones favorables.

Asimismo, en Colombia el tomate de árbol, según Bernal *et al.* (2003), es un cultivo importante, con un área de siembra cercana a 7.000 hectáreas, concentrada en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Boyacá, Huila, Valle del Cauca, Tolima, Nariño y los Santanderes. Este tiene una participación significativa dentro de las exportaciones agropecuarias colombianas, y se citan entre los cultivos promisorios de exportación en los programas de incremento y diversificación de exportaciones (Lasso, 2007).

En el departamento de Nariño se constituye en uno de los frutales andinos con un gran potencial de agroindustrialización, debido a que se cuenta con la materia prima disponible para ello, así, según se reporta en el Consolidado agropecuario de Nariño (2010) de un área sembrada de 680,5 Has, se obtuvieron 4477,5 Ton de tomate de árbol.

Teniendo en cuenta lo anterior, según Jaramillo (2003) el cultivo de tomate de árbol es importante, no solo por lo que representa para la seguridad alimentaria del país, ya que es básico en la canasta familiar, sino por la generación de mano de obra para las labores del cultivo, transporte, comercialización y transformación agroindustrial, que se traduce en mejor calidad de vida para las personas vinculadas de manera directa o indirecta a dichas actividades y mayor desarrollo de los municipios.

Además, el consumo regular de tomates y productos basados en tomate han sido asociados a la reducida incidencia de algunos tipos de cáncer y enfermedades del corazón (Clinton, 1998). Esas propiedades benéficas han sido atribuidas en parte a su contenido en varios componentes antioxidantes representativos, entre los que se encuentran la vitamina C y compuestos fenólicos, los cuales están presentes en mayor cantidad, tanto en tomates de color rojo como amarillo. Mientras que algunos carotenoides y la vitamina E están presentes en niveles más bajos, resaltando que los tomates son una fuente predominante de  $\beta$ -caroteno el cual exhibe una alta capacidad antirradical y es el principal carotenoide con actividad provitamina A (Beecher, 1998). De esta manera, se concluyó que el tomate rojo

tiene mayor actividad antioxidante que el amarillo, pero ambos tienen mayor actividad antioxidante que muchos alimentos comunes (Lister *et al.*, 2005).

Así mismo, varios estudios han reportado que el tomate de árbol es una fuente importante de Vitamina A, B<sub>6</sub>, C (25 mg por cada 100 g), E (Lister, C. *et al.*, 2005), de minerales como el hierro, calcio, potasio y de otros compuestos como fibra y beta carotenos (provitamina A, carotenos 150 unidades internacionales (UI) por 100 g) (FAO, 2006; Repo de Carrasco y Encina, 2008; Calvo, 2009; Ordoñez, *et al.* 2005) y son bajos en carbohidratos (un promedio del fruto contiene menos de 40 calorías).

Por esto, el consumo de tomate y sus derivados es considerado como un indicador nutricional de buenos hábitos alimenticios y un estilo de vida saludable.

### 3.2. PEROXIDASA (POD)

Según Ercan y Soysal (2011), POD es una enzima que contiene el grupo hemo y puede catalizar un gran número de reacciones en las que el peróxido es reducido, mientras que un donante de electrones se oxida. Se ha encontrado que la presencia de esta enzima tiene relación con sabores desagradables y colores indeseados en los vegetales crudos congelados y sin escaldar. Por lo tanto, la inactivación de esta enzima aumenta la vida útil de las hortalizas durante el almacenamiento congelado y se usa a menudo como un índice de un escaldado adecuado.

Anthon *et al.* (2002) establecen que esta enzima es un indicador de la inactivación enzimática en muchas frutas y verduras debido a su alta estabilidad térmica y a los cambios desfavorables que puede generar en las características organolépticas del producto, ya que según señala Agüero *et al.* (2008) si esta enzima se inactiva, otros sistemas enzimáticos responsables de la degradación de los tejidos también se desactivarán.

Los métodos espectrofotométricos han sido los más usados para cuantificar la actividad de esta enzima desde que lo propusieron en 1954 Maehly y Chance (1954). Para determinarla se puede medir la cantidad de producto formado o la de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) consumido. Para ello hay que controlar muy bien la concentración del oxidante, del dador y el tiempo de reacción (Saunders, *et al.*, 1964).

Los estudios sobre la cinética de inactivación térmica de POD han demostrado curvas en dos fases, lo que podría deberse a la presencia de isoenzimas con estabilidad térmica diferente. El diseño de los procesos térmicos requiere el conocimiento de los parámetros de la cinética de inactivación y la fracción lábil y resistente al calor. Esta información es única para cada vegetal, especie, variedad en determinadas condiciones ambientales (Agüero, *et al.*, 2008).

Actualmente no hay muchos datos publicados para la inactivación térmica de POD en tomate de árbol, sin embargo Ercan y Soysal (2011), plantean tres procesos principales que participan en la inactivación de POD: (1) la disociación del grupo prostético (hemo) de la haloenzima (sistema activo de la enzima), (2) cambio de conformación en la apoenzima (parte proteica de la enzima), y/o (3) la modificación o la degradación del grupo prostético.

Es así como la reducción de la actividad POD en el jugo de tomate es un objetivo importante para evitar el deterioro del color, la formación de mal sabor y la pérdida de nutrientes (Civello, *et al.* 1995) en frutas crudas y productos procesados (López, *et al.* 1994).

Además, POD puede producir un gran número de reacciones separadas, por lo que tiene un grado de versatilidad muy elevado en comparación con otras enzimas. Es capaz de catalizar reacciones peroxidativas, oxidativas, catalíticas e hidroxilaciones utilizando un sustrato oxidante y uno reductor (Robinson, 1991). De esta forma, POD es una enzima capaz de reaccionar con numerosos compuestos. Se sabe que probablemente está involucrada en reacciones de degradación de flavonoides (Schreier, 1985). También, a partir de los sustratos naturales, incluyendo compuestos fenólicos presentes en frutas, se pueden formar gamas muy amplias de productos a través de reacciones, que incluyen radicales libres. Es así como según Fang *et al.* (2008) la oxidación fenólica mediada por POD se cree que está asociada con el deterioro en el sabor, color, textura y valor nutricional de los alimentos procesados. En condiciones donde se utilizan compuestos fenólicos, sólo es importante la reacción peroxidativa (Whitaker, 1994) y ésta se da con sustratos como guayacol, resorcinol, p-cresol o p-fenilendiamina, entre otros.

**3.2.1. Mecanismo de reacción.** POD es una oxidoreductasa que cataliza reacciones usando oxígeno o peróxido como aceptor de hidrógeno. Los mecanismos de acción de POD están basados en la formación de un complejo enzima - donante de hidrógeno, como se observa en la siguiente reacción:



POD cataliza la reacción de ciertos compuestos dadores de hidrógeno, como fenoles (guayacol, pirogalol) y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) por medio de peróxidos ( $H_2O_2$ ). El sustrato oxidable más usado es el guayacol, que es oxidado a un complejo coloreado de tetraguayacol en presencia de peróxido. La velocidad de formación del color rojo ladrillo puede ser utilizada como medida de la actividad enzimática por lecturas espectrofotométricas de las absorbancias con relación al tiempo (López, 2003).

**3.2.2. Estabilidad térmica.** Las diferencias en la conducta de la POD de un vegetal a otro pueden estar relacionadas con la presencia de isoenzimas que actúan diferente frente a la presencia de antioxidantes, temperatura, pH óptimo etc. Las PODs de diversas fuentes presentan variadas estabilidades térmicas y son inactivadas a diferentes velocidades por calor, presumiblemente debido a heterogeneidad estructural de las enzimas. Las múltiples formas de POD no son igualmente susceptibles a tratamientos por calor y otros, por lo que se requiere determinar las condiciones óptimas de proceso para cada vegetal y fruta (López, 2003).

Uno de los problemas de la inactivación de POD es la presencia de 1 - 10% o más de isoenzimas termoestables en la mayoría de los vegetales. Por otro lado, uno de los inconvenientes de no destruir completamente a POD es que puede regenerarse bajo ciertas condiciones (López, 2003).

**3.2.3. Capacidad de regeneración.** Se ha estudiado las condiciones en que POD se regenera y se señala que se produciría por una desactivación parcial con el tratamiento térmico. Sin embargo, algunos estudios demuestran que aún con la desactivación total de peroxidasa por sobreprocesamiento, se produce regeneración cerca del tercer mes de almacenamiento en congelación, y que esta actividad regenerada no estaría relacionada con pérdidas de calidad del producto (López, 2003)

### **3.3. LECHE**

La leche de vaca es una fuente única de nutrientes y componentes bioactivos, entre ellos se encuentran las proteínas de alto valor biológico, por contener una gran variedad de aminoácidos y péptidos bioactivos con diferentes características funcionales, destacando que la leche contiene 5,3 g/Kg de nitrógeno, del cual aproximadamente el 80% corresponde a caseínas (CA) y el resto a proteínas del suero (Walstra y Jannes, 1987). Además, cabe resaltar que su grasa es muy digestible, es buena fuente de calcio y fósforo y aporta notables cantidades de vitaminas (Di Michele, *et al.*, 1987),

Debido a la gran importancia nutricional de la leche, las autoridades deben ser exigentes en lo que respecta a su obtención, composición, pruebas de calidad y procesamiento industrial (Decreto 616 de 2006). Además, su calidad es de vital interés para la salud pública obligando a una constante atención y control a nivel de planta.

En cuanto a las propiedades que ofrece la leche, se ha encontrado en los diversos productos lácteos y fracciones obtenidas de ella por ejemplo, leche descremada, suero de leche, la caseína y la lactoferrina, un carácter antioxidante (Calligaris, *et*

*al.*, 2004; Lo Scalzo, *et al.*, 2004; Steijns & Van Hooijdonk, 2000; Tong, *et al.*, 2000). Sus antioxidantes tienen un papel importante en la prevención de la peroxidación lipídica y el mantenimiento de su calidad.

Algunos autores mencionan la importancia de determinar la actividad antioxidante de la leche y caracterizar los compuestos responsables de esta (Chen, *et al.*, 2003; Vanderjagt, *et al.*, 2001) porque la leche es un alimento básico para el desarrollo humano. Dependiendo de su naturaleza, los antioxidantes de la leche se diferencian en antioxidantes proteicos y no proteicos. En el grupo no proteico, están las vitaminas A, C y E, y en el grupo proteico se incluye a varios tipos de enzimas, y también una serie de proteínas y péptidos (Cervato, *et al.*, 1999; Lindmark, *et al.*, 2000; Satué, *et al.*, 2000).

### **3.4. ALIMENTOS FUNCIONALES.**

Según Neira y Yuri (2004), las causas ambientales (radiación, contaminación), así como la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, surgen algunas moléculas que poseen uno o más electrones desapareados y que pueden provocar daño al reaccionar con moléculas de grasa, proteínas, carbohidratos, ARN o ADN, alterando su estructura y función. A estas se les conoce como especies oxígeno reactivas, las cuales se asocian al riesgo de padecer enfermedades crónicas cardiovasculares, cáncer, diabetes, Alzheimer, cataratas y al envejecimiento humano.

En nuestro organismo, la producción de los radicales libres que se dan constantemente "*in vivo*", ha permitido desarrollar diversos mecanismos de defensa antioxidante, entre ellos se encuentran las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir el daño oxidativo de otras moléculas como los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos por especies reactivas del oxígeno. Entre esas moléculas que remueven los radicales libres se encuentran: el glutatión reducido, los tocoferoles (vitamina E), el ácido ascórbico (Vitamina C), entre otros, pero cuando la defensa antioxidante, no es cien por ciento eficiente, incrementa la formación de radicales libres en el organismo; a esto se denomina estrés oxidativo (Castañeda, *et al.*, 2008).

En vista de esta situación, se han comenzado a tomar medidas, Weng y Chen (1996) mencionan una solución en los alimentos funcionales o alimentos para la salud, el término "funcional" implica que el alimento tiene algún valor identificado que conduce a beneficios para la salud, incluyendo la reducción del riesgo de enfermedad para la persona que lo consume (Pascal, G., 1996).

Es así como Ramírez (2010) establece que una categoría de alimentos funcionales podría ser aquella en la cual se incorporaron nutrientes o agentes

beneficiosos para la salud en el proceso de fabricación, entre estos se puede encontrar en el mercado, adicionados con:

ÁCIDOS GRASOS (p.ej., omega 3), que reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de tumores; también se sabe que reducen los síntomas de la menopausia (p.ej., huevos, productos de mar).

ANTIOXIDANTES (vitaminas C y E, carotenos, flavonoides y polifenoles), que reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y el desarrollo de tumores (p.ej., zumos y refrescos).

FITOQUÍMICOS (fitoesteroles, isoflavonas y lignina), que reducen los niveles de colesterol y los síntomas de la menopausia (p.ej., margarinas)

PREBIÓTICOS (fructo-oligosacáricos), que favorecen el crecimiento de las bacterias intestinales beneficiosas (p.ej., cereales integrales).

PROBIÓTICOS (lactobacilos y bífidobacterias), que mejoran la función intestinal (p.ej., yogures bio)

VITAMINAS y MINERALES (vitaminas B6, B12, D y K, ácido fólico, calcio, magnesio y zinc), que reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y osteoporosis y fortalecen el sistema inmune (p.ej., productos lácteos y de panadería).

Hoy en día, tomando ventaja de esta situación, han surgido las bebidas basadas en una mezcla de jugos de fruta y leche fortificada con vitaminas, minerales y fibra, como los alimentos funcionales más ampliamente consumidos (Pszczola, 2005).

En el mismo sentido, el nivel de compuestos antioxidantes endógenos y bioactivos es una corriente de interés y muchos trabajos están conduciendo a determinar el perfil de pigmentos y antioxidantes en los jugos y cómo estos pueden ser nutricionalmente beneficiosos (Huang, Y., *et al.* 2009).

Estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de frutas tiene un efecto benéfico en la salud y contribuye a la prevención de procesos degenerativos, particularmente aterosclerosis y cáncer (Gundgaard, *et al.*, 2003; Gosslau y Chen, 2004). Estos efectos benéficos han sido atribuidos en parte a la presencia de componentes bioactivos con actividad antioxidante, cuyo mecanismo de acción es inhibir la iniciación o impedir la propagación de las reacciones de oxidación, evitándose así el daño oxidativo (Shi, *et al.*, 2001). Por esta razón, el consumidor debe valorar positivamente aquellos alimentos vegetales que no solo le proporcionan nutrientes indispensables para la vida (hidratos de carbono, proteínas, vitaminas, etc.), sino que además posean sustancias con un posible efecto protector como es el caso de los antioxidantes (Prior y Cao, 2000).

Murillo (2002), demostró una estrecha correlación entre el consumo de frutas y la menor incidencia de enfermedades crónicas degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibra, antioxidantes naturales y minerales.

Liu (2003), menciona que las bebidas de frutas poseen muchos componentes bioactivos como el ácido ascórbico, los tocoferoles, carotenoides y polifenoles, que ejercen efectos antioxidantes y anticancerígenos actuando de forma aditiva y sinérgica.

Es así como la vitamina C, es un antioxidante natural que puede inhibir el desarrollo de enfermedades. Según varios estudios epidemiológicos mostraron que los sujetos con una mayor ingesta de vitamina C tienen menor riesgo de padecer varias enfermedades crónicas del corazón, diabetes, cáncer o enfermedades neurodegenerativas. Además, esta vitamina es requerida como un co-factor para muchas enzimas y su forma reducida, el ácido L-ascórbico, es su principal forma biológicamente activa y es un eficaz antioxidante debido a su alto poder donador de electrones y la conversión a la forma reducida activa. Por tanto, es considerada como el antioxidante hidrosoluble más importante, ya que en la mayoría de los sistemas biológicos protege a los componentes de los espacios extracelulares e intracelulares, reduciendo a su forma activa a los radicales tocoferol en las membranas celulares y atrapando directamente al radical superóxido, al singlete de oxígeno, al peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (Gardner *et al.*, 2000).

Por otra parte, los polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides, monómeros catequina, antocianidinas, flavonas, flavanonas, antocianinas) han recibido mucha atención, ya que muchos estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de alimentos y bebidas ricos en estos está asociado con un menor riesgo de enfermedades cardiovasculares, derrames cerebrales y ciertos tipos de cáncer. Estos efectos protectores en parte se han atribuido a las propiedades antioxidantes de especialmente los flavonoides (Klimczak *et al.*, 2007).

Así mismo, la actividad antioxidante de los carotenoides se debe a su capacidad de interactuar con varias especies de radicales que se pueden generar dentro de las células como el singlete de oxígeno y radicales peroxilo, por lo cual se les atribuye algunas propiedades anticancerígenas, así como también a que mejoran las respuestas inmunes frente a varias enfermedades ya que juegan un papel importante en la protección de células y organismos contra los efectos nocivos del medio ambiente (Palace, *et al.*, 1999). Por ejemplo, el  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno) se oxida en presencia de radicales libres, produciendo compuestos epoxi, hidroxilo y carbonilo y fragmentos de bajo peso molecular, tales como  $\beta$ -ionona, 5,6-epoxi- $\beta$ -ionona y dihidroactinidiolida (DHA) (Vásquez, *et al.*, 2007).

De esta manera, como muchos zumos de fruta contienen vitamina C, compuestos fenólicos y carotenoides, algunos de los cuales tienen un potencial antioxidante y cuya ingesta también ha sido inversamente asociada con las enfermedades anteriormente mencionadas, con el fin de establecer la contribución relativa de la vitamina C, los carotenoides y compuestos fenólicos al potencial antioxidante de varios zumos de frutas, se los ha evaluado utilizando su capacidad para reducir especies sintéticas de radicales libres (Gardner, *et al.*, 2000).

Existen diversas formas de medir la actividad antioxidante total y el contenido de fenoles en las bebidas. Algunos métodos han sido desarrollados para medir la capacidad antioxidante total, entre los que se encuentra el método de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) capaz de medir la capacidad de reducción de un antioxidante y los métodos ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-ácido-6-sulfónico)), DPPH (2,2-difenil-2-picrilhidrazilo) y el método de decoloración del  $\beta$ -caroteno que miden la capacidad de los antioxidantes de neutralizar y evitar la propagación en cadena de los radicales libres (Espinal, 2010).

El segundo método se basa en la reducción del radical DPPH en la reacción con un antioxidante (AH) o especies de radicales (R) de acuerdo con la siguiente reacción:



En su forma radical el DPPH es de color púrpura oscuro y absorbe a 515 nm, pero después de la reducción el color púrpura cambia a amarillo. El cambio en la absorción es proporcional a la capacidad de inactivación de radicales del antioxidante probado (Piljac-Žegarac *et al.* 2009).

Por otra parte, el contenido de fenoles puede ser determinado por la capacidad del polifenol de reducir el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico y ocasionar la formación de los óxidos de molibdeno y tungsteno de color azul que pueden ser cuantificados a 760 nm, este cambio de color es proporcional a la concentración de antioxidante (Espinal, 2010).

### **3.5. BEBIDAS BASADAS EN UNA MEZCLA DE LECHE Y FRUTAS**

Las nuevas bebidas funcionales a base de jugos de frutas con leche son cada vez más y más populares debido a sus atributos en la promoción de la salud. El mercado de alimentos y bebidas funcionales ha experimentado un rápido crecimiento en los últimos años, y representa una oportunidad de desarrollo de nuevos productos y la innovación tanto para la industria alimentaria como para la comunidad científica (Granato, *et al.*, 2010).

En este sentido, las bebidas a base de frutas y productos lácteos están recibiendo una considerable atención debido a que su mercado potencial está creciendo. Sin embargo, en la literatura disponible en la actualidad hay una falta de información sobre la actividad de los antioxidantes en las bebidas de leche con frutas (Zulueta, *et al.*, 2007).

A partir de la determinación del poder antioxidante total, es posible evaluar la capacidad antioxidante de un producto, independientemente de su composición particular. Este parámetro puede ser utilizado para la caracterización de la materia prima y su evolución en relación con el tratamiento o las condiciones de almacenamiento (Arnao, *et al.*, 1998). En particular, se cree que los tratamientos térmicos son la causa principal de la reducción de los antioxidantes naturales (Anese, *et al.*, 1999).

Bajo este contexto, Zulueta *et al.* (2007), estudiaron la composición fisicoquímica y el valor nutricional de bebidas comercializadas en España basadas en la mezcla de leche y frutas, proporcionando un análisis más extenso de sus características antioxidantes mediante el estudio de la concentración de vitaminas A y C y compuestos fenólicos bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración y a temperatura ambiente.

En dicha investigación se obtuvo que los valores de sólidos solubles totales variaron desde 4 hasta 14,43°Brix. El pH osciló desde 2,96 hasta 4,10. La densidad varió desde 1,017 hasta 1,062 g/mL. En las bebidas lácteas, el contenido de ácido ascórbico osciló desde 9,32 hasta 53,9 g/100mL. El promedio de las muestras almacenadas a temperatura ambiente ( $34,0 \pm 10,1$  mg/100 mL) fue mayor que la de las muestras refrigeradas ( $31,5 \pm 16,1$  mg/100 mL), pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Se determinó que la adición de vitamina C en la etiqueta influyó en la concentración final de la vitamina. El pH sólo tuvo una influencia significativa, y una correlación negativa con las concentraciones de vitamina C aportadas por la fruta. El contenido de vitamina A, expresado como equivalentes de retinol (RE), osciló entre  $0,44 \pm 0,08$  a  $34,0 \pm 5,98$  RE.

El total de carotenoides y de vitamina A no fueron estadísticamente diferentes en diversas condiciones de almacenamiento. Esto se debió a la gran variedad de concentraciones encontradas en las muestras, resultante de la composición de la fruta, la fortificación del producto hecha por el fabricante, o su adición como antioxidantes.

Los valores de pH no mostraron correlaciones con los carotenoides o vitamina A, mientras que los °Brix y la densidad de cada uno mostró una correlación positiva para el  $\beta$ -caroteno. La capacidad antioxidante (TEAC) de las bebidas comerciales, oscilaron entre 3,60 a 0,61 mmol Trolox/L. La capacidad antioxidante total de las

muestras almacenadas bajo refrigeración ( $2,74 \pm 0,82$  mmol Trolox/L) fue ligeramente superior, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa al compararlas con la de las muestras almacenadas a temperatura ambiente ( $2,34 \pm 1,04$  mmol Trolox/L). TEAC fue mayor en las muestras que contenían limón ( $p=0,031$ ), seguido de naranja, la cual tiene una alta concentración de carotenoides, especialmente  $\beta$ -criptoxantina, que tiene una influencia significativa en TEAC, y también es rica en compuestos fenólicos (naringina, hesperetina), y por lo tanto tiene una alta capacidad antioxidante.

TEAC se debió principalmente a la vitamina C, seguido por los compuestos fenólicos. Los altos valores de °Brix y de densidad contribuyeron a la estabilidad de los antioxidantes presentes en las muestras.

Cilla *et al.* (2011) mencionan que para producir alimentos funcionales, las bebidas de frutas son suplementadas con vitaminas y/o minerales como el hierro y el zinc y/o leche. El estudio de estos autores consistió en evaluar la influencia de la suplementación con minerales y/o leche en la capacidad antioxidante de las bebidas de fruta, el contenido de ácido ascórbico, y polifenoles totales y la evolución de esta capacidad antioxidante durante el almacenamiento en frío y después de la digestión gastrointestinal *in vitro*.

Respecto a la elaboración, Salamanca y otros (2010) mencionan que para la obtención de jugos, néctares, conservas, compotas, mermeladas, yogures y demás se requiere encontrar la mezcla óptima de ingredientes que permita generar un nuevo producto cuya formulación ofrezca características de producto funcional con alto valor nutricional y en las que se mantengan propiedades organolépticas de aroma y sabor deseables.

Es así como Zuleta *et al.* (2010) elaboraron una bebida basada en mezcla de leche y jugo de naranja, utilizando (50% v/v) jugo de fruta, (20% v/v) leche UHT, descremada (30% v/v) agua, (7.5% w/v) azúcar, (0.1% w/v) ácido cítrico y (0.3% w/v) de pectina, evaluando en esta bebida la degradación del ácido ascórbico al tratarla con campos eléctricos y un tratamiento térmico convencional.

En la anterior investigación se obtuvo que la concentración de ácido ascórbico (AA) en la bebida sin tratar fue  $26,35 \pm 1,35$  mg/100 mL, después de la pasteurización por calor este valor disminuyó. El procesamiento por el método de pulsos eléctricos causó una reducción significativa en las concentraciones de AA y la retención mínima obtenida fue de alrededor del 90%, con  $22,66 \pm 1,42$  mg/100mL presentándose alrededor del 86% de retención. Además, las bebidas almacenadas a 10°C presentaron alteraciones y se separaron en dos fases después de 6 semanas (42 días) de almacenamiento. Las bebidas almacenadas a 4°C también presentaron estos cambios durante la última semana del estudio (49 días).

La vida útil de las bebidas realizadas a partir de jugo de naranja y leche, tratadas con pulsos eléctricos, es similar a las bebidas pasteurizadas. Las diferencias se pueden atribuir a las condiciones de almacenamiento (tiempo y temperatura). No obstante, la degradación inicial de ácido ascórbico es menor en las muestras tratadas por pulsos eléctricos y la concentración de ácido ascórbico es mayor durante el período de almacenamiento en las muestras tratadas mediante esta tecnología (Zuleta, *et al.*, 2010).

Salvia *et al.*, (2011) extrajeron el jugo de diferentes frutas y las mezclaron en las siguientes proporciones: naranja (30%), kiwi (25%), mango (10%) y piña (10%). Los jugos de frutas se mezclaron con leche entera o descremada (17,5%) y azúcar (7,5%), en seguida ajustaron el pH a 3,35 con ácido cítrico. Las proporciones de cada ingrediente según Salvia *et al.*, (2011) se seleccionaron en base a estudios previos con el fin de maximizar el contenido de vitamina C, la concentración total de fenoles y la capacidad antioxidante en las bebidas. Todas las muestras se almacenaron en frascos estériles de plástico a 4°C.

De dicha investigación se obtuvo que la supervivencia de *L. innocua* en bebidas tratadas con pulsos eléctricos de alta intensidad de campo disminuyó significativamente al aumentar el tiempo de tratamiento. Sin embargo, en los tiempos más altos de tratamiento la tasa de inactivación disminuyó.

Los recuentos iniciales de mohos y levaduras en muestras frescas de jugo de fruta con leche entera (FJ-WM) y jugo de fruta con leche descremada (FJ-SM) fueron 4,26 y 3,61 log UFC/mL, mientras que los de bacterias psicotrópicas fueron 3,87 y 3,12 log UFC/mL, respectivamente. Los pulsos eléctricos y los tratamientos térmicos redujeron los recuentos microbianos (bacterias psicotrópicas y mohos y levaduras) en <1 log UFC/mL inmediatamente después del tratamiento.

Las muestras de FJ-SM mostraron menores valores de acidez (1,10±0,02 mg ácido cítrico/100 mL) y de sólidos solubles totales (SST) (18,48± 0,27%) en comparación con las muestras de FJ-WM (1,33±0,05 mg ácido cítrico/100 mL y 19,41± 0,38%), mientras que no se observaron diferencias significativas en su pH.

Además, a pesar de sus bajos valores de pH y la acidez alta, las bebidas tratadas y no tratadas de FJ-SM y FJ-WM después de 56 días a 4°C no manifestaron separación de fases. El procesamiento con pulsos eléctricos no influyó en los valores de acidez, pH o de SST. Las propiedades fisicoquímicas de las bebidas a base de frutas y leche se mantuvieron prácticamente constantes a lo largo del tiempo de almacenamiento a 4°C, independientemente del tratamiento aplicado. Los resultados mostrados indican que en ambas bebidas el tratamiento térmico fue más eficaz para la inactivación de Pectínmetilesterasa (PME) que los pulsos eléctricos, disminuyendo la actividad PME hasta 29,34± 4,02% y 12,67± 1,66% para FJ-SM y FJ-WM, respectivamente.

La actividad residual de PME fue de  $58,77 \pm 8,71\%$  en la bebida FJ-WM inmediatamente después del procesamiento con pulsos eléctricos, mientras que la inactivación de PME no se observó en las muestras de FJ-SM tratadas con este método de conservación.

El procesamiento con pulsos eléctricos de alta intensidad de campo inactivó a la enzima poligaracturonasa (PG) de las bebidas de forma significativa, alcanzando los valores residuales de actividad de  $79,07 \pm 3,02\%$  y  $73,08 \pm 5,47\%$  en FJ-WM y FJ-SM, respectivamente. La bebida FJ-SM tratada térmicamente mostró  $67,30 \pm 2,92\%$  de actividad de PG inmediatamente después de su transformación, y un ligero aumento de la actividad de esta enzima fue observado en el caso de bebidas FJ-WM.

La viscosidad de las bebidas FJ-SM y FJ-WM sin tratar fue 34,93 cP y 36,13 cP, respectivamente. Un aumento significativo de la viscosidad fue detectado en las bebidas inmediatamente después del tratamiento en comparación con las no tratadas, los cambios de viscosidad pueden estar influenciados por la actividad de enzimas pectinolíticas tales como la PME y PG.

Morales de la Peña *et al.*, (2010) prepararon la bebida mezclando jugos de frutas en las siguientes proporciones: naranja (250 mL/L), kiwi (180 mL/L) y piña (70 mL/L), formulación considerada según previos estudios y escogida según las consideraciones anteriormente mencionadas por Salvia, *et al.* (2011). Los jugos fueron mezclados con leche de soja (425 mL/L), azúcar (75g/L) y ácido cítrico hasta llegar a un pH de 3.7.

De acuerdo a la anterior investigación se obtuvo una reducción microbiana máxima de 5,44 y 5,09 unidades logarítmicas después de aplicar un tratamiento con pulsos eléctricos de 800 o 1400  $\mu\text{s}$  a la bebida realizada a partir de jugo de fruta con leche de soja (FJ-SoyM) inoculada con *Lactobacillus brevis* y *Lactococcus innocua* respectivamente. La inactivación total ( $<1 \log \text{UFC/mL}$ ) de ambos microorganismos se observó después del tratamiento térmico aplicado (90°C, 60 s).

El tratamiento con pulsos eléctricos en 800 y 1400  $\mu\text{s}$  redujo en 17,5% y 29% la actividad de POD en la bebida FJ-SM, respectivamente, del mismo modo la actividad de lipoxigenasa (LOX) se redujo en un 39% y 34% inmediatamente después del tratamiento con 800 y 1400  $\mu\text{s}$ . La inactivación enzimática más alta (100% - POD y 51% LOX) se obtuvo después de aplicar el tratamiento térmico. Justo después de la transformación, no hubo diferencias significativas en la retención de vitamina C (87 - 90%) entre las bebidas tratadas térmicamente y con pulsos eléctricos. Como se sabe, el ácido ascórbico es un nutriente termolábil, pero a bajas condiciones de pH se estabiliza. El contenido de vitamina C de las bebidas FJ-SoyM disminuyó gradualmente durante el almacenamiento, independientemente del tratamiento aplicado.

La concentración inicial de los compuestos fenólicos totales en las bebidas FJ-SoyM varió de 79,88 (sin tratar) a 83,09 (1.400  $\mu$ s- tratado con pulsos eléctricos) mg de ácido gálico/100 mL, sin diferencias significativas entre las muestras sin tratar y tratadas. No hubo pérdidas significativas de fenoles totales en las muestras tratadas con pulsos eléctricos, aunque algunas fluctuaciones se observaron durante todo el período.

La capacidad antioxidante de las bebidas no tratadas y tratadas evaluadas inmediatamente después de los tratamientos varió de 27,26% (tratamiento térmico) a 29,61% de inhibición de DPPH (800  $\mu$ s- tratadas con pulsos eléctricos), sin diferencias significativas entre las muestras. El porcentaje de inhibición de DPPH en las bebidas no tratadas y tratadas disminuyó gradualmente a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, y fue significativamente menor en las bebidas tratadas por calor.

Sampedro *et al.*, (2009) realizaron la formulación de la bebida empleando: jugo de naranja pasteurizado (50% v/v), leche descremada UHT (20% v/v), pectina de alto metoxilo (0.3 % m/v) como estabilizante, ácido cítrico comercial (0.1% m/v), azúcar (7.5% m/v) y agua destilada (30% v/v). Los ingredientes sólidos fueron puestos en el agua en los pesos en la proporción indicada. La bebida fue preparada justo antes de ser usada.

En esa investigación se estudiaron los efectos de procesamiento con tratamientos térmicos, pulsos eléctricos (PE) y alta presión hidrostática (APH) sobre la actividad de pectínmetilesterasa (PME) y la concentración de compuestos volátiles en la bebida. Se requirió un tratamiento térmico (85°C, 1 min), otro mediante CE a 25 kV/cm, 65°C o el tratamiento APH a 650 MPa, 50 °C para inactivar 90% de PME. Doce compuestos volátiles fueron extraídos por microextracción en fase sólida (SPME) y seleccionados para la cuantificación por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) después de la aplicación de los diferentes tratamientos.

La pérdida media de la concentración de compuestos volátiles estuvo entre 16,0 y 43,0% después del tratamiento térmico. Después del tratamiento mediante PE la pérdida promedio fue entre -13,7 y 8,3% a 25°C, 5,8 y 21,0% a 45°C y 11,6 y 30,5% a los 65°C. Después del tratamiento con APH la pérdida promedio fue entre -14,2 y 7,5% a 30°C y 22,9 y 42,3% a 50°C. Los resultados demostraron el potencial de las tecnologías no térmicas en el suministro de alimentos con un alto estándar de calidad en comparación con el tratamiento térmico.

Y la relevancia industrial dada por los autores señala que el uso de tecnologías no térmicas como una alternativa para el procesamiento en la pasteurización de bebidas ha adquirido relevancia en los últimos años, puesto que el tratamiento con PE puede lograr un alto grado de inactivación de PME en una bebida a base de zumo de naranja y se mantiene mejor el aroma natural que con AHP y los

tratamientos térmicos. El procesamiento con PE tendría entonces un enorme potencial para pasteurizar zumos de fruta y preservar sus características naturales de calidad.

### **3.6. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LAS BEBIDAS**

**3.6.1. Vida útil.** La vida útil o caducidad de un alimento puede definirse como “el periodo de tiempo, después de la elaboración y/o envasado y bajo determinadas condiciones de almacenamiento, en el que el alimento sigue siendo seguro y apropiado para su consumo”. Todos los alimentos poseen una caducidad microbiológica, una caducidad química y/o físico-química y una caducidad sensorial; la cual depende de las condiciones de formulación, procesamiento, empaçado, manipulación y almacenamiento (Vankerschaver, *et al.* 1996).

Comúnmente la determinación de la vida útil se hace por prueba y error siendo la forma más habitual el mantener el producto bajo condiciones de almacenamiento típicas hasta que ocurra su descomposición. Sin embargo, la aplicación de modelos matemáticos es una herramienta científica para predecir la vida de anaquel, debido a que brinda una rigurosidad en su metodología permitiendo obtener resultados confiables monitoreando el comportamiento de cada uno de los agentes que interactúan en ese entorno cuando cambian uno o varios factores (tiempo, temperatura, humedad, acidez, pH, etc.) que ejercen influencia sobre el producto (Vankerschaver, *et al.* 1996).

Además, cabe resaltar que el periodo de vida útil funcional de un producto se estima usando la vida media de los componentes que le otorgan dicha característica entre los cuales se tiene la vitamina C, contenido de fenoles totales y carotenoides (Laorko, *et al.*, 2013), aplicando la cinética química de deterioro de los alimentos a través de modelos matemáticos como el de Arrhenius calculando parámetros cinéticos como: la constante de velocidad de reacción (k), la energía de activación del modelo (Ea), el parámetro  $Q_{10}$  (Vankerschaver, *et al.* 1996).

**3.6.2. Tratamientos de conservación aplicados a las bebidas.** Respecto a los tratamientos de conservación utilizados para el procesamiento, Zuleta *et al.* (2010), mencionan que el principal desafío en la elaboración de una bebida es el de preservar sus nutrientes y hacerlo atractivo desde el punto de vista sensorial. Entre las tecnologías de conservación se destacan: las altas presiones hidrostáticas (Harte, *et al.*, 2003; Guerrero, *et al.*, 2005; Guerrero, *et al.*, 2006; Penna, *et al.*, 2006; Raso, *et al.*, 1998; San Martín, *et al.*, 2002; Norton y Sun, 2008), los pulsos eléctricos de alta intensidad de campo (Sepúlveda, *et al.*, 2000; Barbosa, *et al.*, 1998; Bendicho, *et al.*, 2002; Bendicho, *et al.*, 2005; Cortes, *et al.*, 2006; Fernández, *et al.*, 2005); el ultrasonido (Barbosa y Rodríguez, 2002; López, *et al.*, 1994), las radiaciones ionizantes, (Guerrero y Barbosa, 2006; Guerrero y Barbosa, 2005; Guerrero y Barbosa, 2004; Song, *et al.*, 2007); las atmósferas

modificadas (García, *et al.*, 1998) y los envases "inteligentes". Tecnologías que además de presentar ventajas y limitaciones en su procesamiento tecnológico, hacen pensar además en el marco legal que regula su utilización en la industria.

Por lo anterior, los tratamientos térmicos son los métodos más utilizados para extender la vida útil de los alimentos líquidos por la inactivación de microorganismos y enzimas, sin embargo, el calor provoca la destrucción en diversos grados de constituyentes deseables de los alimentos, tales como nutrientes, cambios indeseados en las características fisicoquímicas como color, sabor y textura (Lee y Coates, 2003; Manso, *et al.*, 2001), y la alteración de sus propiedades antioxidantes (Plaza, *et al.*, 2006; Braddock, 1999). La efectividad del tratamiento depende de variables como el tiempo, temperatura y pH (Osorio, *et al.* 2008), de la composición del alimento y del tipo de enzima.

En la tecnología de conservación de los productos, es esencial tener en cuenta que los consumidores están interesados en los alimentos procesados térmicamente donde los compuestos nutritivos importantes sean afectados lo mínimo posible. Por lo tanto, es de gran importancia especificar condiciones y objetivos adecuados para el procesamiento de los alimentos (Polata *et al.*, 2009).

Es así como, el ajuste de los parámetros adecuados de un método de preservación para un nuevo producto requiere de la selección de microorganismos y enzimas objetivos. Por eso, según reporta Morales *et al.* (2010) *Lysteria monocytogenes* y *Lactobacillus brevis* causan el deterioro de los alimentos y enfermedades transmitidas por estos y peroxidasa y lipoxigenasa catalizan algunas reacciones afectando un amplio rango de compuestos naturales como fenoles y ácidos grasos poliinsaturados (Bruemmer, *et al.*, 1976; Eskin, *et al.*, 1977). Como consecuencia, se genera flavor y olor a rancio en varios vegetales y jugos de frutas.

Por otro lado, hay varios estudios acerca de la mezcla de leche y frutas, que incluyen la aplicación de diversos métodos de conservación basándose en actividad enzimática, microorganismos de interés y la evaluación de cambios en la capacidad antioxidante y características organolépticas del producto. De esta forma, Sampedro *et al.* (2008), estudiaron la cinética de inactivación de Pectinmetilesterasa en una bebida a base de leche y jugo de naranja, así como en diferentes matrices de naranja bajo condiciones combinadas de altas presiones hidrostáticas y calor.

Sampedro *et al.* (2009), estudiaron los efectos de los pulsos eléctricos, las altas presiones hidrostáticas y los procesos térmicos en la actividad de Pectinmetilesterasa y los compuestos volátiles en una bebida a base de leche y jugo de naranja.

Morales de la Peña *et al.*(2010), compararon los efectos de las altas presiones hidrostáticas y las tecnologías térmicas en la estabilidad microbiana, los parámetros de calidad y los cambios en las propiedades antioxidantes de una bebida a base de jugo de frutas y leche de soya teniendo en cuenta la inactivación de *Listeria monocytogenes* y *Lactobacillus brevis* .

Salvia *et al.* (2011), estudiaron el efecto de los campos eléctricos de alta intensidad y tratamientos térmicos en la estabilidad microbiana, parámetros físicoquímicos y enzimas relacionadas con la viscosidad de una bebida a base de zumo de fruta y leche entera y descremada, teniendo en cuenta la inactivación de *Listeria innocua*, como microorganismo objetivo.

Por otra parte, la exploración de métodos basados en campos eléctricos es una alternativa de preservación no térmica que podría ser utilizada como complemento en la pasteurización de los alimentos líquidos, ya que han demostrado buenos resultados para la inactivación de microorganismos y enzimas y para la preservación de las características organolépticas (Bendicho, *et al.*, 2002; Cortés, *et al.*, 2005; Elez, *et al.*, 2007; Fernández, *et al.*, 2005; Zulueta, *et al.*, 2007).

Sin embargo, estudios previos desarrollados por Osorio, *et al.* (2008); Guerrero y Barbosa, (2006); Guerrero y Barbosa, (2005); Guerrero y Barbosa, (2004); Song, *et al.* (2007); han demostrado que el uso de tecnologías emergentes y entre ellas la pasteurización a temperaturas bajas han inhibido la acción enzimática de jugos de frutas sin ir en detrimento de la calidad de los productos implicados.

Por otra parte, Nagy y otros, (1993) establecen que los típicos tratamientos térmicos para jugos con pH bajos varían desde 90 a 95°C entre un rango de tiempo de 15 segundos a 1 min.

Asimismo algunos autores han demostrado que los tratamientos térmicos son apropiados teniendo en cuenta que el sustrato es la leche y que además, se requieren de alternativas conjuntas como los envases y las bajas temperaturas de almacenamiento para lograr óptimos resultados (Klopotek, *et al.*, 2005; Chisari, *et al.*, 2007; Dutta, *et al.*, 2006).

Aunado a lo anterior, los estudios de retención de las vitaminas para evaluar los efectos de los tratamientos son de gran importancia. Los investigadores han utilizado el ácido ascórbico como indicador de calidad en frutas y verduras (Ayhan, *et al.*, 2001) debido a que es un compuesto bioactivo sensible.

## 4. METODOLOGÍA

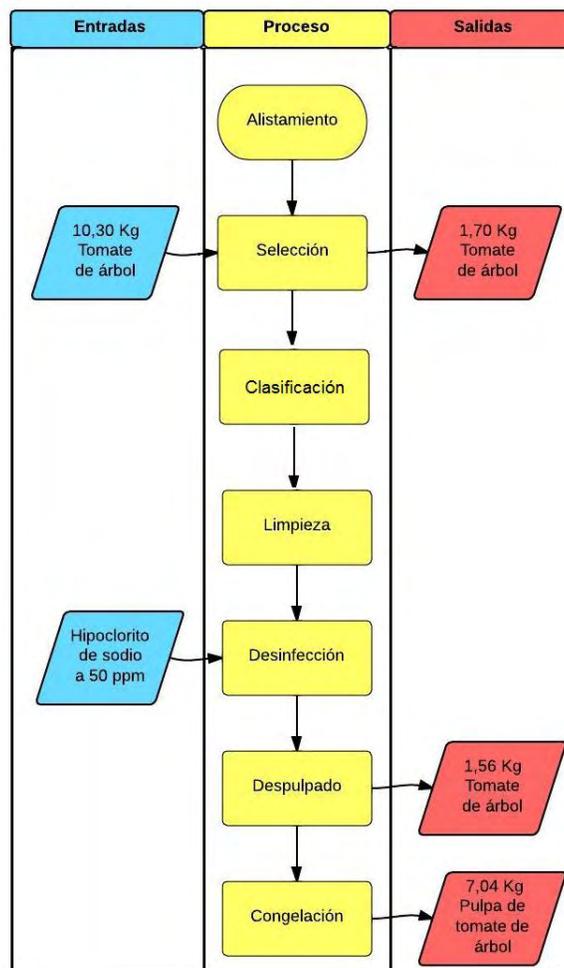
### 4.1 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL Y LA LECHE.

**4.1.1 Adquisición de la materia prima.** Se utilizó tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) en grado óptimo de madurez, proporcionado por la empresa INPADENA dedicada a la obtención de pulpas en el municipio de Pasto.

Por otra parte, se trabajó con leche UHT descremada la cual se obtuvo de un supermercado local.

**4.1.2 Tratamiento del tomate de árbol.** Los frutos fueron seleccionados y clasificados conforme a la NTC 4105 por su estado de madurez comercial; se lavaron con agua potable y se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a 50 ppm durante 5 minutos. Posteriormente fueron enjuagados, troceados y homogeneizados empleando una despulpadora industrial marca Comek 500. La pulpa obtenida fue almacenada bajo condiciones de congelación (-23°C) hasta su uso (ver diagrama 1).

**Diagrama 1. Diagrama de flujo de la obtención de la pulpa de tomate de árbol**



Fuente: esta investigación

**4.1.3 Análisis fisicoquímico de las materias primas.** Este análisis se realizó tanto a la pulpa de tomate de árbol como a la leche. Los reactivos que se utilizaron fueron de grado analítico.

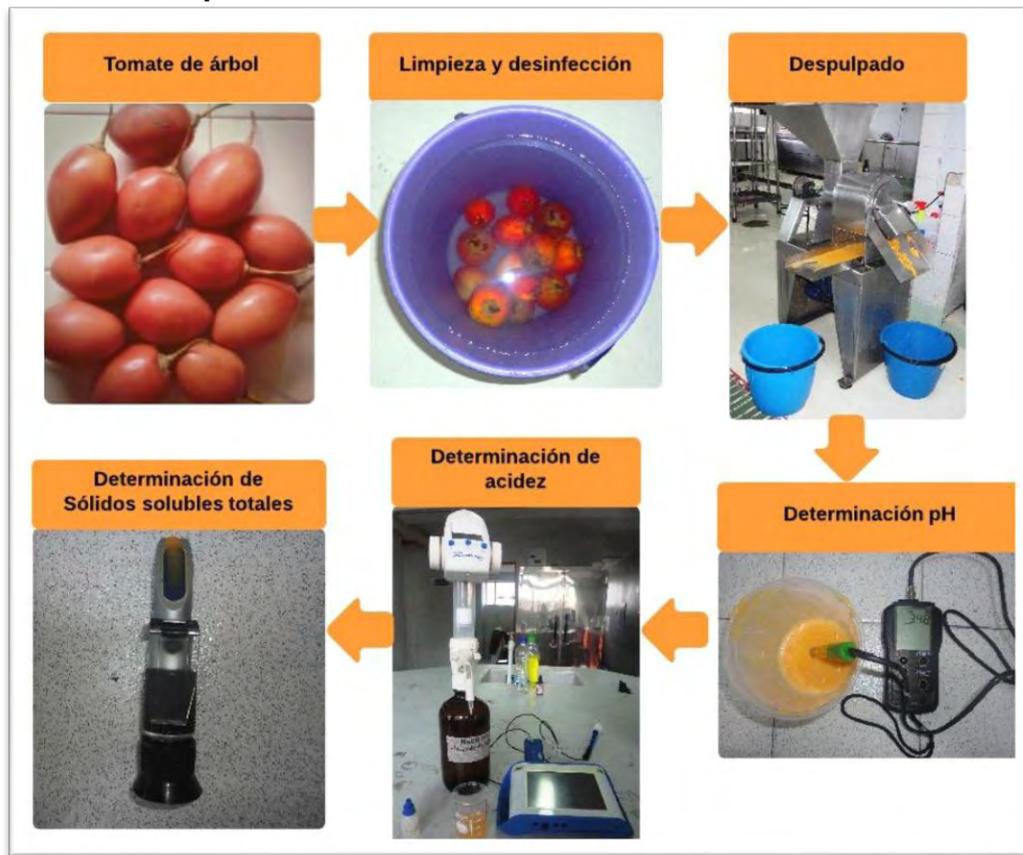
**4.1.4 Tomate de árbol.** De acuerdo a la AOAC (1997), la pulpa de tomate de árbol fue utilizada en fresco y sometida a las siguientes pruebas preliminares (ver figura 1):

- ✓ **Medición de pH:** se empleó un pH metro marca Tecpel
- ✓ **Sólidos solubles totales (SST):** se realizó con un refractómetro marca Atago, los resultados se expresaron como °Brix

- ✓ **Acidez:** se realizó mediante titulación con NaOH 0,1 N, los resultados se expresaron como g de ácido cítrico/100 g de muestra.
- ✓ **Índice de madurez (IM):** Se calculó mediante la ecuación 1

$$IM = \frac{SST}{acidez} \text{ Ecuación 1}$$

**Figura 1. Extracción de la pulpa de tomate y determinación de algunas propiedades fisicoquímicas**



Fuente: esta investigación

La caracterización del material se realizó mediante métodos descritos para el análisis químico de alimentos del laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño, basado en las técnicas de la AOAC (1997), tal como se observa en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Métodos y técnicas para la caracterización de la materia prima**

Análisis	Método	Técnica
Humedad	Secado en estufa	Gravimétrica.
Cenizas	Incineración en Mufla	Gravimétrica
Fibra cruda	Digestión ácida-básica: Crisol Gooch	Gravimétrica
Proteína cruda	Kjeldalh	Volumétrica
Vitamina C	HPLC	Cromatográfica
Carbohidratos totales	Hidrólisis directa: Somogyi-Nelson	Espectrofotométrica
Determinación de Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica
Determinación de Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica
Determinación de Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica
Determinación de Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica

Fuente: esta investigación

**4.1.5 Leche.** El análisis fisicoquímico se realizó en un equipo EKOMILK-M (ver figura 2), en el cual se determinó la densidad, el porcentaje de grasa, proteína y de sólidos no grasos. Además, se determinó cenizas, carbohidratos totales, fibra, calcio, pH y acidez empleando los métodos y procedimientos mencionados anteriormente.

**Figura 2. Determinación de algunas propiedades fisicoquímicas de la leche mediante EKOMILK**



Fuente: esta investigación

## 4.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RESIDUAL DE POD EN LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS.

**4.2.1 Determinación de la actividad enzimática de pod en la pulpa de tomate de árbol.** Se ajustó las metodologías de extracción y medición de la enzima POD basándose en investigaciones aplicadas a diferentes materiales (ver anexos 1 y 2) debido a que fue necesario determinar la actividad de la enzima POD en óptimas condiciones y además porque ocurrieron inconsistencias con el protocolo que se propuso al inicio de la formulación del proyecto, las cuales se manifestaron en las curvas de cinética enzimática.

**4.2.1.1 Metodología de extracción de POD.** Basándose en la revisión bibliográfica realizada (ver anexo 1) se establecieron algunos parámetros constantes debido a que sus valores fueron comunes para la mayoría de investigaciones. Es así como se estableció una velocidad de centrifugación de 10.000 r/min, la concentración del buffer fosfato, 0,05 M y se acordó no agregar ningún compuesto químico adicional. Se hizo variar la relación entre la cantidad de pulpa y buffer fosfato de 1:1 a 1:4 (porcentaje de pulpa,  $PP=20$  a 50% de pulpa) y el tiempo de centrifugación ( $TC$ ) de 10 a 30 minutos (ver cuadro 2).

**Cuadro 2. Factores experimentales del DCC para la estandarización del protocolo de extracción y medición enzimática de POD**

Factores	Bajo	Alto	Unidades	Continuo
Tiempo de centrifugación	10	30	Minutos	Sí
Cantidad de Pulpa	20	50	%	Sí
Volumen de Extracto	30	90	$\mu$ L	Sí

Fuente: esta investigación

**4.2.1.2 Obtención del extracto enzimático.** Las muestras se prepararon para el análisis (ver figura 3) mediante la mezcla en tubos de centrifuga de 15 mL de los volúmenes dados en la matriz experimental del anexo 3 que representaron la cantidad de pulpa y de buffer fosfato de sodio de concentración 0,05 M y pH 6,5, empleados en cada ensayo. Las muestras fueron centrifugadas en un equipo Universal 320 marca Hettich según el tiempo estipulado en dicha matriz a 7.800 r/min. El precipitado se descartó y el sobrenadante constituyó el extracto enzimático que fue utilizado inmediatamente para la determinación de la actividad POD.

**Figura 3. Extracción enzimática y determinación de la actividad de POD**



Fuente: esta investigación

**4.2.1.3 Metodología de medición de la actividad POD.** Se establecieron como parámetros constantes el pH, 6,5, el protocolo de Morales, *et al.* (2002) con respecto a las cantidades de sustratos y se hizo variar la proporción de solución sustrato con respecto al volumen de extracto enzimático (*VE*), manteniendo constante el volumen total empleado, 2,5 mL.

**4.2.1.4 Medición de actividad POD.** Para el análisis de la actividad de POD se usó un buffer de concentración 0.2 M y pH de 6,5. La solución sustrato se preparó diariamente y se realizó con la mezcla de 0,1 mL de guayacol (99,5%), 0,1 mL de peróxido de hidrógeno (30%), y 99,8 mL de buffer fosfato de sodio, 0,2 M y pH 6.5 (Morales, *et al.* 2002).

Los ensayos de actividad de POD se llevaron a cabo mediante la mezcla de los volúmenes de extracto enzimático y de la solución sustrato que se establecieron en la matriz experimental presentada en el anexo 3, en cubetas del espectrofotómetro. El blanco se preparó de la misma forma pero empleando agua destilada en lugar del extracto enzimático. La muestra y el blanco se agitaron y se colocaron en un espectrofotómetro marca Thermo Scientific. Se tomaron lecturas de la absorbancia a 470 nm cada 30 segundos durante un total de 30 minutos y los datos obtenidos fueron analizados empleando el programa Thermo Vision Lite.

La actividad enzimática se determinó a partir de la pendiente de la línea recta que se originó hasta los 10 minutos transcurridos de la curva de ajuste, por tanto, la unidad de actividad POD se define como el cambio de absorbancia por minuto ( $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ ).

**4.2.1.5 Diseño experimental.** Se utilizó un diseño compuesto central (DCC) 2<sup>3</sup> más puntos estrella y puntos centrales con metodología de superficie de respuesta, para determinar el efecto de los factores, sobre la actividad enzimática de POD. Este diseño fue seleccionado por tres razones: 1. Se disponía de un buen control local de las variables experimentales que a su vez eran continuas, 2. porque el objetivo era maximizar la actividad POD y finalmente porque con la revisión bibliográfica realizada, se tuvieron valores máximos y mínimos de los tres factores estudiados, con los cuales se llevó a cabo la optimización de la variable respuesta.

Los atributos del diseño son:

Número de factores experimentales: 3

Número de bloques: 2

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 32, incluyendo 2 puntos centrales por bloque

Grados de libertad para el error: 21

Aleatorizado: Sí

**Cuadro 3. Variable respuesta del DCC para la estandarización del protocolo de extracción y medición enzimática de POD**

Respuesta	Unidades
Actividad Enzimática POD	$\Delta$ Abs/min

Fuente: esta investigación

**4.2.1.6 Tratamiento térmico.** El tratamiento térmico se aplicó a la pulpa de tomate de árbol y se desarrolló procurando mantener las características organolépticas y funcionales de la fruta, teniendo en cuenta los rangos empleados en la inactivación de POD de varios productos (ver cuadro 4) y resaltando la importancia de elegir un rango de temperaturas y tiempos que conserven no sólo la calidad nutricional y sensorial sino también la bioactividad de los constituyentes presentes en la fruta.

Sin embargo, en el cuadro 5 se observan rangos de temperatura y tiempos que especifican condiciones severas las cuales pueden provocar alteraciones de las propiedades nutricionales, organolépticas y además reducirían el contenido o la biodisponibilidad de algunos compuestos bioactivos. De esta manera, se decidió elegir un rango de temperaturas y tiempos que a pesar de ser enérgicos, podrían preservar de mejor forma las propiedades funcionales de la bebida.

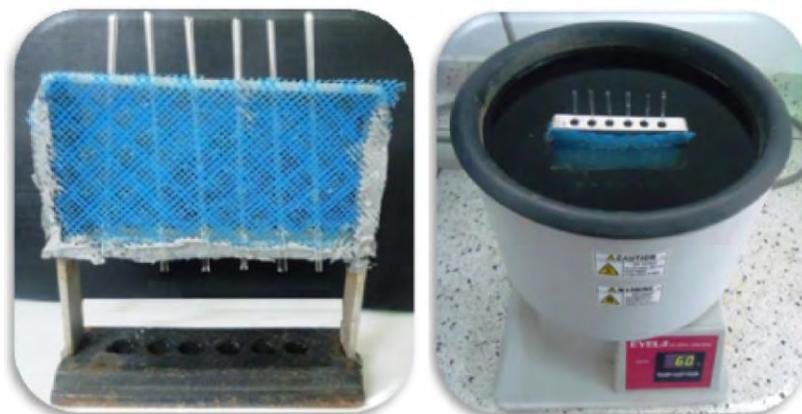
**Cuadro 4. Tratamientos térmicos empleados en la inactivación de POD en frutas y vegetales**

Producto	Temperatura (°C)	Tiempo	Valores de temperatura y tiempos óptimos (AR POD = 10%)	Referencia
Puré de Kiwi	97	30 s	--	(Benlloch-Tinoco <i>et al.</i> 2013)
Tomate ( <i>Solanum lycopersium</i> ) (Modelación de la cinética de la inactivación de POD)	63–67	2 a 25 min	67°C-3min	(Şahin Ercan, Ç. Soysal, 2011)
Calabaza (Modelación de la cinética de la inactivación de POD)	75-95	2 a 50 min	90°C-5,8 min y 95°C-3,9 min	(Gonçalves, <i>et al.</i> , 2007)
Puré de mango (Inactivación de POD)	85-93	1-16 min	93°C-1 min; 85°C-16 min; 88°C-16 min	(Vásquez, <i>et al.</i> , 2007)
Jugo de Zanahorias	65-90	1-10 min	80°C-1 min	(Vora <i>et al.</i> 1999)
Puré de fresa	25-90	5, 15 y 30 min	60°C-5 min	(Terefe <i>et al.</i> 2010)
Uvas	60-80	1-40 min	75°C-5 min	(Fortea <i>et al.</i> 2009)

Fuente: esta investigación

Además, la pasteurización se realizó en tubos capilares de 2 mm de diámetro interno, 3 de mm de diámetro externo, de 85 mm de longitud y de una capacidad de 115 µL, los cuales alcanzaron la temperatura de pasteurización en 15 segundos (ver figura 4). Estos fueron introducidos en un baño termostataado con agua a la respectiva temperatura de pasteurización y el choque térmico se realizó empleando un baño de hielo.

**Figura 4. Tubos capilares empleados en la pasteurización**



Fuente: esta investigación

**4.2.1.7Diseño experimental.** Se empleó un diseño experimental en el cual los factores de estudio a evaluar fueron: la temperatura ( $T$ ) en los niveles 65 a 90 °C y el tiempo ( $t$ ) en los niveles 20 a 60 segundos (ver cuadro 5). Se utilizó un diseño central compuesto  $2^2$  más puntos estrellas y centrales con metodología de superficie de respuesta, con el fin de determinar el efecto de los factores, sobre la variable respuesta: actividad enzimática residual de POD (ver cuadro 6).

El porcentaje de actividad residual (AR) de POD se define como se indica en la ecuación 2:

$$AR = 100 \cdot \frac{A_t}{A_0} \text{ Ecuación 2}$$

Donde,  $A_t$  y  $A_0$  correspondieron a las actividades enzimáticas de las muestras de pulpa tratadas y no tratadas, respectivamente.  $A_t$  y  $A_0$  se determinaron inmediatamente después del procesamiento para evitar los efectos del tiempo de almacenamiento (Aguiló, *et al.*, 2008).

Los atributos del diseño son:

Número de factores experimentales: 2

Número de bloques: 3

Número de respuestas: 1

Número de corridas: 30, incluyendo 2 puntos centrales por bloque

Grados de libertad para el error: 22

Aleatorizado: Sí

La matriz de diseño experimental para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad residual de POD se presenta en el anexo 4.

**Cuadro 5. Factores experimentales del DCC para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad residual de POD**

Factores	Bajo	Alto	Unidades	Continuo
Temperatura	65	90	°C	Sí
Tiempo	20	60	Segundos	Sí

Fuente: esta investigación

**Cuadro 6. Variable respuesta del DCC para evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la actividad residual de POD**

Respuestas	Unidades
Actividad Residual POD	%

Fuente: esta investigación

**4.2.1.8 Diseño de los análisis.** El análisis de resultados para los diseños experimentales propuestos tanto en la metodología de extracción y medición de la actividad de POD como en la evaluación de la efectividad del tratamiento térmico sobre la actividad residual de POD, se desarrolló empleando el programa Statgraphics centurión © Plus versión XV.II, mediante el cual se realizó:

- ✓ Análisis de varianza
- ✓ Optima respuesta
- ✓ Diagramas de Pareto
- ✓ Gráficos de efectos principales
- ✓ Gráficos de interacción
- ✓ Superficies de respuesta.

Después de realizado el análisis de resultados, el tratamiento térmico con el cual la actividad residual de POD se mantuvo en un valor óptimo del 10% fue empleado para llevar a cabo un análisis microbiológico en la pulpa, el cual consistió en evaluar los siguientes parámetros: coliformes totales, coliformes fecales, recuento de esporas *Clostridium* sulfito reductor, mesófilos aerobios y recuento de mohos y levaduras, exigidos en la Resolución No. 7992 de 1991 del Ministerio de Salud de Colombia, la cual reglamenta lo relacionado a la elaboración, conservación y comercialización de Jugos, concentrados, néctares, pulpas, pulpas azucaradas y refrescos de frutas. Lo anterior con el fin de garantizar que el tratamiento térmico óptimo obtenido de evaluar la actividad residual de POD también aseguraba la inocuidad del producto.

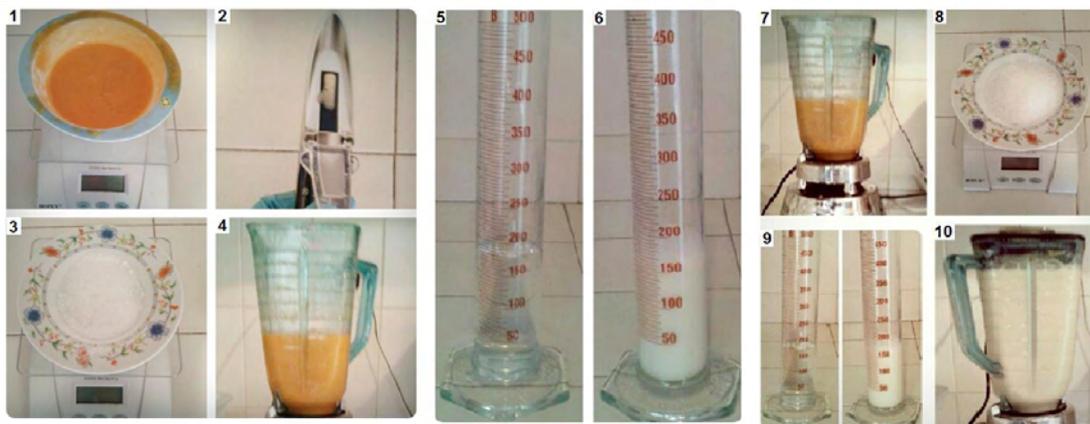
### 4.3 DETERMINACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA BEBIDA CON BASE EN LA ACEPTABILIDAD DE SUS PROPIEDADES SENSORIALES

La preparación de las bebidas se realizó utilizando leche UHT descremada, de acuerdo a las consideraciones realizadas por Zulueta *et al.* (2010) y Sampedro *et al.* (2010) y pulpa de tomate de árbol. Para evaluar las características sensoriales derivadas de la formulación de la bebida, se tuvieron en cuenta algunas consideraciones basadas en la Resolución No. 7992 de 1991 del Ministerio de Salud y la norma General del CODEX para zumos (Jugos) y néctares de frutas, CODEX STAN 247 de 2005, entre las cuales cabe mencionar:

- ✓ Se mantuvo constante el porcentaje de pulpa (30%) y se hizo variar la relación leche: agua así: R1 (100:0), R2 (70:30), R3 (40:60).
- ✓ Tomando como referencia también el estudio de Zulueta *et al.*, (2010) se añadió azúcar y pectina cítrica de alto metoxilo (0,3% w/v) como edulcorante y homogeneizador, respectivamente. Las cantidades de azúcar, leche y agua fueron obtenidas a partir de los balances de masa correspondientes.

En primera instancia, se realizó la estandarización del índice de madurez del tomate de árbol aumentando los °Brix de la pulpa. Luego, los ingredientes sólidos como el azúcar y la pectina se disolvieron en agua. Posteriormente se agregó la pulpa de tomate de árbol y la leche se añadió al final (Sampedro *et al.* 2008). La mezcla se realizó empleando una licuadora marca Oster. Más adelante se procedió a aplicar el tratamiento térmico definido por el análisis estadístico derivado del primer objetivo, en el cual POD presentó una actividad residual del 10% en la pulpa de tomate. La bebida se envasó en frascos de vidrio estériles twist-off, los cuales se introdujeron en un baño termostatado a temperatura de pasteurización, 92°C. Las muestras de bebida tardaron 35 min en alcanzar esta temperatura. Luego, se mantuvieron en el medio 56 s y el choque térmico se realizó empleando un baño de hielo (ver figura 5 y 6). Finalmente, una vez obtenidas las muestras, se almacenaron a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$  y en oscuridad hasta los análisis.

**Figura 5. Proceso de elaboración de la bebida de leche y tomate de árbol**



Fuente: esta investigación

**Figura 6. Muestras de Bebida para análisis**



Fuente: esta investigación

**4.3.1 Evaluación Sensorial.** Para determinar la formulación de la bebida se realizó una prueba sensorial afectiva. La prueba para medir el grado de satisfacción la evaluaron 50 jueces no entrenados escogidos del campus universitario mediante el método de escala Hedónica descrito por Anzaldúa (1994), donde se calificaron las siguientes características: color, olor, sabor y viscosidad, en la cual cada juez eligió entre las siguientes opciones y puntajes: me gusta mucho (5), me gusta (4), me es indiferente (3), me disgusta (2) y me disgusta mucho (1). Las tres muestras elaboradas fueron rotuladas con números al azar para evitar sesgar las encuestas y en el desarrollo de la prueba se les solicitó a los jueces señalar cuanto les gustaba o les disgustaba cada uno de los atributos evaluados.

Además, se tuvieron dos sitios de cata, los cuales correspondieron a la planta piloto de la facultad de Ingeniería Agroindustrial y la cafetería de la Universidad de Nariño. Las muestras de la bebida fueron presentadas a una temperatura aproximada de 10°C y se utilizó agua para eliminar sabores antes de iniciar la prueba y entre cada muestra (ver figura 7). Por cada atributo se presentó una hoja de respuesta (ver anexo 5).

**Figura 7. Aplicación de la prueba sensorial afectiva en el campus Universitario**



Fuente: esta investigación

El análisis de resultados se realizó con el programa Statgraphics Centurion ©Plus versión XV.II, mediante el cual se efectuó el análisis de varianza y la prueba de comparación de mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher con un nivel de significancia del 5%.

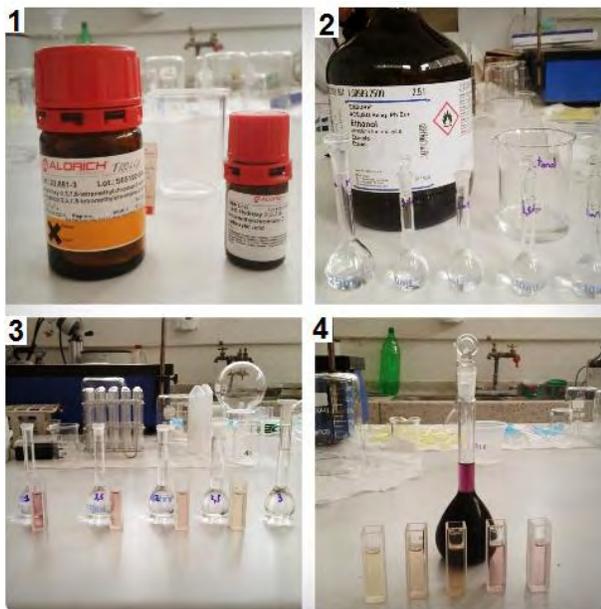
#### **4.4. DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA BEBIDA A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, ÁCIDO ASCÓRBICO Y CAROTENOIDES.**

**4.4.1 Evaluación de la actividad antioxidante.** La actividad antirradical de la bebida se determinó mediante el ensayo de 2,2 difenil-1-picrilhidracil (DPPH), es decir, se midió la capacidad para reducir el radical libre estable DPPH' (que absorbe intensamente a 515 nm). La variable a medir fue la reducción de la absorbancia del DPPH con el tiempo.

El método DPPH fue realizado según la metodología establecida por Espinal (2010) a la cual se le realizaron algunas modificaciones. Para ello, se preparó una

solución de DPPH 0,1 mM en etanol. 975  $\mu$ L de esta solución se incubaron a temperatura ambiente durante 7 min y se midió la absorbancia inicial a 515 nm, la cual fue de 0,691. Para construir la curva de calibración se adicionaron 25  $\mu$ L de soluciones de Trolox en etanol entre 0,5 y 2 mM a la solución de DPPH (ver figura 8), se incubó a temperatura ambiente durante 7 min y se midió la absorbancia a 515 nm.

**Figura 8. Determinación de la curva de calibración con trolox para evaluar la capacidad antioxidante de la bebida**



Fuente: esta investigación

La medida de la actividad antioxidante de las muestras se realizó preparando la solución stock del radical DPPH 0,1 mM diariamente, incubando 975  $\mu$ L a temperatura ambiente durante 7 min y se midió la absorbancia inicial a 515 nm.

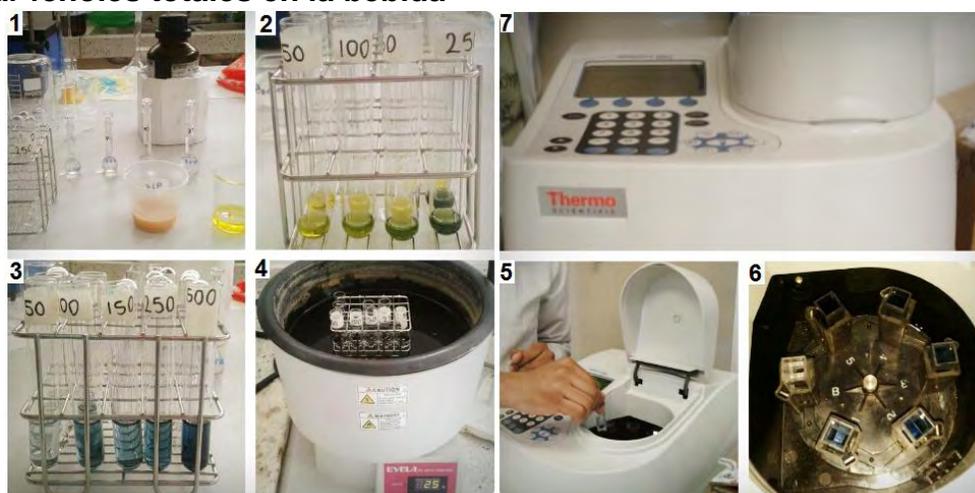
Además, 3 mL de bebida diluidos en 6 mL de agua destilada se centrifugaron a 5000 r/min durante 15 min. Posteriormente, 25  $\mu$ L del sobrenadante se adicionaron a la solución de DPPH y después de 60 min de reacción a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro UV/Vis Thermo Scientific.

Los resultados se expresaron como la capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) expresada como mmol Trolox/L. Las medidas fueron realizadas por triplicado ( $n = 3$ ).

**4.4.2 Determinación del contenido de fenoles totales.** La determinación de fenoles totales en la bebida se realizó usando el método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965).

Para construir la curva de calibración se empleó ácido gálico a concentraciones entre 50 y 500 ppm. 0,1 mL de cada una de estas soluciones fueron mezcladas con 0,5 mL del reactivo de Folin-ciocalteu y 1,5 mL de solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) en agua destilada al 20% (p/v). Transcurridas dos horas de reacción se tomó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV/Vis Thermo Scientific (ver figura 9).

**Figura 9. Determinación de la curva de calibración con ácido gálico para evaluar fenoles totales en la bebida**

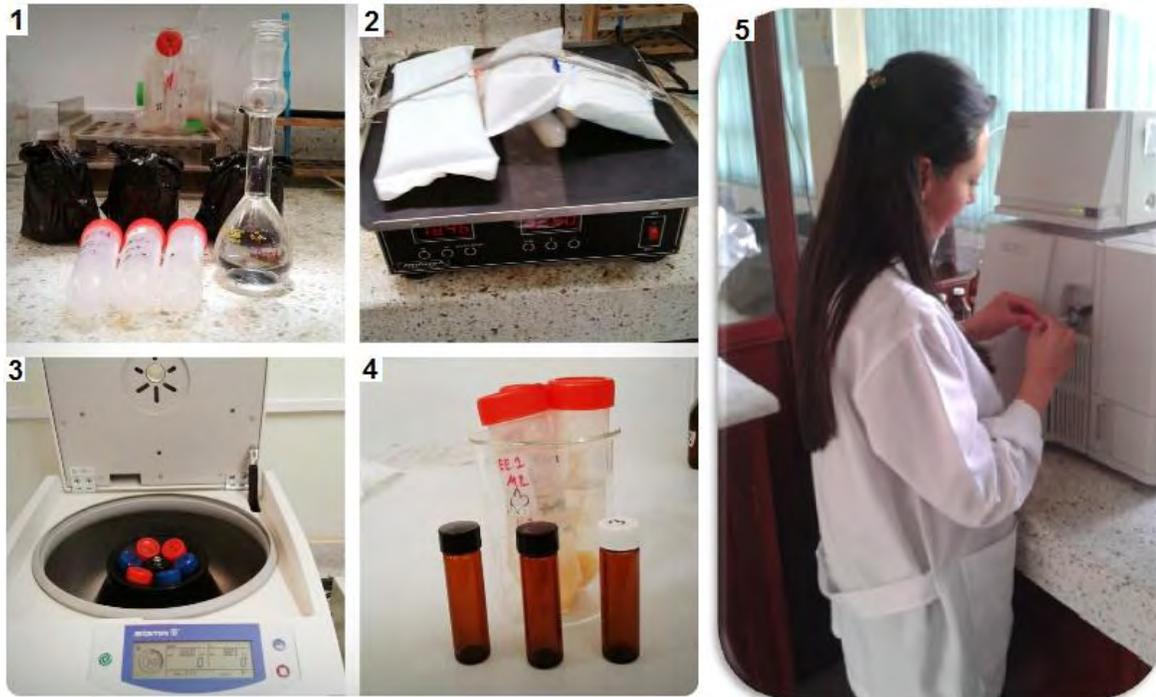


Fuente: esta investigación

Para medir el contenido de fenoles totales en la bebida, 0,1 mL de muestra fueron mezclados con el reactivo de Folin-ciocalteu y la solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en las cantidades indicadas anteriormente y se siguió el mismo procedimiento. Las medidas fueron realizadas por triplicado ( $n = 3$ ) y los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (GAE)/100 mL.

**4.4.3 Determinación de ácido ascórbico.** La extracción de ácido ascórbico en las muestras de bebida de tomate se realizó empleando extracción líquido-líquido, utilizando un método adaptado de Nour *et al.* (2010) & Del caro *et al.* (2004). Esta consistió en la mezcla de 10 mL de bebida con 25 mL de ácido fosfórico 0,05 N mediante un Shaker marca Indulab durante 30 min, a 250 r/min a 4°C. Posteriormente se centrifugó durante 20 min a 6000 r/min en una centrífuga marca Sigma y del sobrenadante se emplearon 20  $\mu\text{L}$  (ver figura 10).

**Figura 10. Extracción y determinación de ácido ascórbico en la bebida**



Fuente: esta investigación

Dicho volumen se filtró a través de discos GHP (Acrodisc, Pall) de 13mm x 0,45 $\mu$ m y luego se inyectó en el equipo HPLC marca Waters® Breeze™ 2 HPLC System con detección UV. Las condiciones del sistema fueron: volumen de inyección 20  $\mu$ L, detector PDA (Photodiode Array, Waters 2998), el rango de longitud de onda trabajado fue 200 a 450 nm pero la lectura se realizó a 210 y 254 nm, flujo de 0,7 mL/min, columna C18 (2) Luna Phenomenex marca Waters de 250 mm x 4,6 mm. La fase móvil empleada fue buffer fosfato de concentración 25 mM y pH=2,5. La identificación de ácido ascórbico en las muestras se realizó mediante comparación con el tiempo de retención ( $t_r$ ) de una solución patrón de ácido ascórbico analizada bajo las mismas condiciones. La cuantificación se realizó empleando estándar externo y relaciones de área cromatográfica con soluciones patrón de ácido ascórbico. Las medidas fueron realizadas por triplicado ( $n = 3$ ) y los resultados se expresaron como mg de ácido ascórbico/100 mL.

**4.4.4 Determinación de carotenoides.** El método empleado se basó en la investigación reportada por Siong & Chin (1992). Para la extracción, 2 g de bebida se mezclaron en un shaker marca Ika®-Werke durante 30 min a 150 r/min con 0,2 g de carbonato de magnesio y 35 mL de un solución de Etanol-Hexano en una relación (4:3). Luego, se filtró y al residuo se le realizó tres lavados: primero con 30 mL de la solución etanólica, luego con 12 mL de etanol y un último lavado con 12 mL de hexano. Posteriormente se agregó 100 mL de solución de NaCl al 10%

con agua tipo I y se realizó una separación líquido-líquido. Finalmente, la fase orgánica obtenida se rotaevaporó a 40°C (ver figura 11), el extracto se transfirió a viales ámbar y se mantuvo a -18°C hasta la inyección de las muestras en el equipo HPLC.

**Figura 11. Extracción de carotenoides en la bebida**



Fuente: esta investigación

La cuantificación de  $\beta$ -caroteno se realizó empleando estándar de  $\beta$ -caroteno al 93% (Sigma-aldrich) mediante relación de áreas cromatográficas. Esta se analizó mediante HPLC en un equipo marca Waters® Breeze™ 2 HPLC System con detección UV (ver figura 12). Se empleó una columna Spherisob ODS- C18 marca Waters de 5  $\mu$ m, 100 mm x 4,6 mm, el volumen de inyección fue 20  $\mu$ L, flujo de 0,7 mL/min, la absorbancia se escaneó entre 210 y 500 nm, pero se hizo lectura a 450 nm empleando un detector PDA (Photodiode Array, Waters 2998) y las áreas de los picos fueron comparadas con el estándar de  $\beta$ -caroteno, la fase móvil utilizada fue metanol y las muestras previamente a la inyección fueron diluidas en la mezcla de acetonitrilo-metanol-acetato de etilo. Las medidas fueron realizadas por triplicado ( $n = 3$ ) y los resultados se expresaron como  $\mu$ g  $\beta$ -caroteno/100 mL.

**Figura 12. Inyección de una muestra de carotenoides de la bebida en el equipo HPLC**



Fuente: esta investigación

## **4.5 EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO**

**4.5.1 Condiciones de almacenamiento.** La bebida fue envasada en frascos estériles twist-off, los cuales se almacenaron bajo condiciones de refrigeración ( $4^{\circ}\text{C}\pm 1$ ) en una nevera marca HACEB y en oscuridad. Además, las muestras se analizaron por triplicado inmediatamente después de su obtención y cada siete días hasta completar un mes de almacenamiento.

**4.5.2 Características fisicoquímicas.** El contenido total de sólidos solubles totales, pH y acidez total (AT) de las bebidas fueron determinadas cada 7 días de almacenamiento. SST se determinó mediante un refractómetro marca Atago, el pH fue directamente medido con un pH-metro Tecpel previamente calibrado con tampones a pH 4, 7 y 10. (Trujillo, *et al.*, 2011). La acidez de las muestras se determinó por titulación con NaOH 0,1 N y los resultados se expresaron en gramos de ácido láctico/100 g de muestra (ver figura 13). Las medidas fueron realizadas por triplicado ( $n = 3$ ).

**Figura 13. Determinación de propiedades fisicoquímicas en la bebida**



Fuente: esta investigación

Además, después de la obtención de la bebida se determinó la densidad a 20°C con un picnómetro y también la viscosidad empleando un viscosímetro rotacional marca Fungilab, utilizando una aguja N. R2 a 60 r/min (ver figura 14).

**Figura 14. Determinación de densidad y viscosidad en la bebida**



Fuente: esta investigación

**4.5.3 Actividad Microbiológica.** Basándose en la reglamentación para néctares de la Resolución No. 7992 de 1991 del Ministerio de Salud, se realizó la determinación de la flora natural procedente de las bebidas por siembra del producto en medios de cultivo cada 7 días de almacenamiento. Para el día 0, se efectuó un análisis completo, en el cual se incluyó los siguientes parámetros: coliformes totales, coliformes fecales, mesófilos aerobios, recuento de esporas *Clostridium* sulfito reductor, recuento de mohos y levaduras. A partir del día 7 y hasta completar el mes de almacenamiento se realizó solamente el análisis de bacterias mesófilas y el recuento de hongos y levaduras. Estos fueron realizados por triplicado ( $n = 3$ ).

**4.5.4 Reactivación de POD.** El seguimiento de la actividad enzimática residual de POD en la bebida se realizó cada 7 días y por triplicado hasta completar un mes de almacenamiento siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **5.1 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL Y LA LECHE**

Se obtuvo 7,04 Kg de pulpa a partir de 10,30 Kg de tomate de árbol y por tanto un rendimiento del 70%, el cual es inferior a los valores establecidos por Ramírez (2008), que varían entre 83 y 86%, debido a las pérdidas en las etapas de selección y despulpado.

#### **5.1.1 Análisis fisicoquímico de las materias primas.**

**5.1.1.1 Tomate de árbol.** El análisis fisicoquímico se presenta en el cuadro 7. Los resultados obtenidos para cada parámetro corresponden a un promedio derivado de un análisis por triplicado (n=3) realizado por el Laboratorio de Bromatología de la Universidad de Nariño (ver anexos 6, 7 y 8)

**Cuadro 7. Análisis Fisicoquímico del tomate de árbol**

PARÁMETRO	VALOR (Fuente: esta investigación)	VALOR (Fuente: Reina, C., 1998)	VALOR (Fuente: Brito, <i>et al.</i> 2008)	VALOR (Fuente: FAO, 2006)
Humedad (g/100g)	88,60±0,26	89,70	87,16	87,90
pH a 17°C	3,49±0,35	3,7	3,76	N.R
Sólidos solubles totales a 20°C (°Brix)	8,92±1,06	12	12,70	N.R
Acidez (g Acido cítrico/100g)	1,44±0,07	1,15	1,87	N.R
Índice de madurez	5,27±1,28	N.R	N.R	N.R
Cenizas (g/100g)	0,52±0,03	0,70	0,81	0,70
Proteína (g/100g)	1,53±0,01	1,40	N.R	1,90
Carbohidratos totales (g/100g)	6,22±0,35	7,00	4,49	7,00
Calcio (mg/100g)	10,09±1,27	6,00	9,00	2,00
Fósforo (mg/100g)	24,47±2,54	22,00	34,7	36,00
Potasio (mg/100g)	331,00±24,25	N.R	385,20	N.R.
Hierro (mg/100g)	0,25±0,06	0,40	0,30	0,20
Fibra cruda (g/100g)	1,39±0,24	1,10	N.R	1,10
Vitamina C (mg/100g)	19,72 ± 0,20	25,00	33,00	20,00

Nota: N.R. No reporta; Los valores son la media de tres réplicas ±DE.  
Fuente: esta investigación

En el análisis fisicoquímico de la pulpa de tomate de árbol, se observan valores similares de los parámetros evaluados entre algunos de los estudios expuestos, así como también variaciones, las cuales según Franco (1998) son debidas a las modificaciones en el cultivo, clima, suelo y variedad del fruto.

Además cabe resaltar que el tomate de árbol empleado para el desarrollo de la bebida, según los porcentajes de contribución a la dieta para niños mayores de 4 años y adultos, tomando como base el valor de referencia de ingesta diario (60 mg) según la NTC 512-2 para rotulado nutricional de alimentos envasados, puede considerarse como “Alto en Vitamina C” (para catalogarse en este valor debe aportar con el 20% o más del valor de referencia), ya que contribuiría en un 33% al valor recomendado diario de la ingesta de esta vitamina.

**5.1.1.2 Leche.** El análisis fisicoquímico se presenta en el cuadro 8. Los resultados obtenidos para cada parámetro corresponden a un promedio derivado de un análisis por triplicado (n=3) realizado por el laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño (ver anexos 9 y 10)

**Cuadro 8. Análisis Fisicoquímico de leche UHT descremada**

PARÁMETRO	VALOR Fuente: esta investigación	VALOR Fuente: Decreto 616/2006		VALOR Fuente: NTC 3856	
		Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Humedad (g/100g)	90,08±0,01				
Sólidos totales (g/100g)	9,93±0,01	8,65	---	8,4	---
Ph	6,70±0,20			6,5	6,85
Ceniza (g/100g)	0,56±0,01				
Carbohidratos totales (g/100g)	5,12±0,06				
Grasa (g/100g)	0,14±0,02	0,1	0,5		≤0,5
Sólidos No grasos (g/100g)	9,73±0,14			8,4	---
Densidad (g/mL)	1,036±0,001	1,033	1,036	1,033	1,036
Proteína (g/100g)	3,35±0,06			2,8	---
Calcio (mg/100g)	120,50±3,54				
Acidez (g de ácido láctico/100g)	0,16±0,01	0,13	0,17	0,13	0,17
Fibra cruda (g/100g)	1,10±0,15				

Nota: Los valores son la media de dos réplicas ±DE.

Fuente: esta investigación

El cuadro 8 muestra que la leche empleada en el análisis cumple con los requisitos que debe presentar la leche UHT descremada establecidos en el decreto 616 de 2006 y en la NTC 3856, la cual reglamenta los parámetros que debe cumplir a leche UHT y ultrapasteurizada.

## **5.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RESIDUAL DE POD EN LA PULPA DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendtn) PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO.**

**5.2.1 Estandarización del protocolo de extracción y medición de POD.** El Cuadro 9 muestra los valores de actividad enzimática promedio de POD obtenidos en los diferentes tratamientos empleados para estandarizar el protocolo de extracción y medición de POD. Estos resultados se analizaron mediante el software Statgraphics Centurión © Plus versión XV.II.

**Cuadro 9. Actividad enzimática promedio de cada tratamiento de POD en pulpa de tomate de árbol**

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Cantidad Pulpa (%)</b>	<b>Cantidad extracto (μL)</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>Actividad Enzimática (ΔAbs/min)</b>
3	35	60	0,9988 ± 0,0015	0,1635 ± 0,0177
10	20	30	0,9994 ± 0,0004	0,0604 ± 0,0015
10	20	90	0,9988 ± 0,0011	0,0918 ± 0,0650
10	50	30	0,9996 ± 0,0000	0,0769 ± 0,0028
10	50	90	0,9994 ± 0,0000	0,2915 ± 0,0800
20	10	60	0,9996 ± 0,0004	0,0742 ± 0,0483
20	35	10	0,9901 ± 0,0131	0,0366 ± 0,0504
20	35	60	0,9992 ± 0,0004	0,0959 ± 0,0338
20	35	110	0,9996 ± 0,0003	0,2483 ± 0,1080
20	60	60	0,9989 ± 0,0007	0,1369 ± 0,0312
30	20	30	0,9993 ± 0,0002	0,1050 ± 0,0958
30	20	90	0,9992 ± 0,0003	0,1987 ± 0,0930
30	50	30	0,9992 ± 0,0001	0,1140 ± 0,0481
30	50	90	0,9965 ± 0,0003	0,2930 ± 0,0065
37	35	60	0,9982 ± 0,0002	0,2149 ± 0,0226

Nota: Los valores son la media de tres réplicas ±Desviación estándar.

Fuente: esta investigación

**Cuadro 10. Análisis de Varianza para Actividad POD en Pulpa de tomate de árbol**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Tiempo de Centrifugación	0,0111936	1	0,0111936	59,73	<b>0,0163</b>
B:Cantidad de Pulpa	0,026421	1	0,026421	140,98	<b>0,0070</b>
C:Cantidad de Extracto	0,112017	1	0,112017	597,70	<b>0,0017</b>
AA	0,0216384	1	0,0216384	115,46	<b>0,0086</b>
AB	0,00318519	1	0,00318519	17,00	0,0541
AC	0,000176425	1	0,000176425	0,94	0,4343
BB	0,000394033	1	0,000394033	2,10	0,2841
BC	0,0180304	1	0,0180304	96,21	<b>0,0102</b>
CC	0,00577636	1	0,00577636	30,82	<b>0,0309</b>
Bloques	0,00054971	1	0,00054971	2,93	0,2289
Falta de ajuste	0,0577241	19	0,00303811	16,21	0,0596
Error puro	0,000374827	2	0,000187413		
Total (corr.)	0,254401	31			

( $P < 0,05$ )=significativo;  $R^2 = (87,1625\%)$ ; Estadístico Durbin-Watson=(2,09278;  $P=0,4423$ )

Fuente: esta investigación

El análisis de varianza presentado en el cuadro 10 muestra que 6 efectos son significativos sobre la actividad enzimática POD debido a que su valor-P es menor que 0,05. Entre ellos se encuentran el tiempo de centrifugación, la cantidad de pulpa, la cantidad de extracto, el cuadrado del tiempo de centrifugación, la interacción entre la cantidad de pulpa y de extracto y el cuadrado de la cantidad de extracto.

El estadístico  $R^2$  indica que el modelo así ajustado, explica 87,1625% de la variabilidad en Actividad POD, con lo que se puede deducir que el diseño cuenta con un ajuste aceptable y permite hacer análisis confiables sobre los factores implicados en la variable respuesta.

Puesto que el valor-P del estadístico de Durbin-Watson (DW) es mayor que 5,0%, se garantiza que no se presentan problemas de autocorrelación serial en los residuos, es decir, no se hizo omisión de ninguna variable importante y los errores estándar obtenidos no presentan sesgo alguno garantizando una buena aleatorización de los experimentos.

El modelo ajustado según los resultados obtenidos tras cada ensayo se expresa mediante la ecuación 3.

$$\text{Actividad POD} = 1,91 \times 10^{-1} - (9,02 \times 10^{-3} \times TC) - (1,96 \times 10^{-3} \times PP) - (3,05 \times 10^{-3} \times VE) + (3,42 \times 10^{-4} \times TC^2) - (9,41 \times 10^{-5} \times TC \times PP) + (1,11 \times 10^{-5} \times TC \times VE) + (2,05 \times 10^{-5} \times PP^2) + (7,46 \times 10^{-5} \times PP \times VE) + (1,96 \times 10^{-5} \times VE^2) \quad \text{Ecuación 3}$$

Con esta ecuación se pueden modelar posteriores experimentos con las mismas condiciones, es decir, es válida para los rangos estudiados de los factores.

**Cuadro 11. Optimización de la actividad POD**

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Tiempo de Centrifugación (min)	3,182	36,818	33,860
Cantidad de Pulpa (%)	9,773	60,227	60,227
Volumen de Extracto (µL)	9,546	110,454	110,454

**Meta:** maximizar Actividad POD

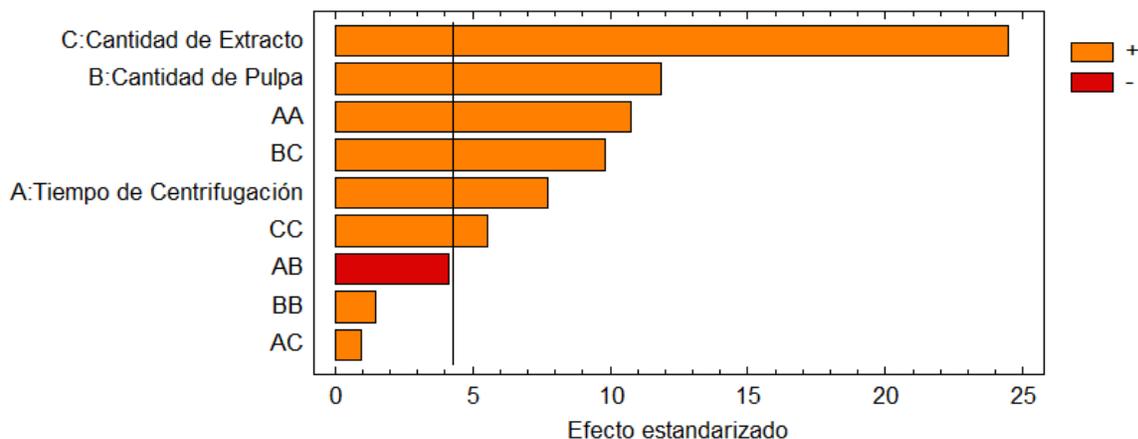
Fuente: esta investigación

El cuadro 11 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza la actividad POD sobre la región indicada, obteniendo un valor óptimo de 0,48192  $\Delta$ Abs/min.

Varios estudios reportan haber empleado un tiempo de centrifugación similar (30 min) para la extracción de POD en Zanahoria, brócoli (Morales, *et al.*, 2006), manzanas (Jang & Moon, 2011), puré de fresa (Terefe, *et al.*, 2010), berros (Cruz, *et al.*, 2006), té de mate (Ceni, *et al.*, 2008) y tomillo (Doğan & Doğan, 2004).

Así mismo, el porcentaje óptimo de pulpa que maximiza la actividad POD es similar a los trabajos de investigación llevados a cabo en uchuva, lulo (Durango, *et al.*, 2007), zanahorias (Akyol, *et al.*, 2006) y puré de fresa (Terefe, *et al.*, 2010). Además, la cantidad óptima de extracto para medición de POD obtenida en esta investigación es similar a la reportada en calabaza (Agüero, *et al.*, 2008), brócoli, espárragos verdes (Morales, *et al.*, 2006), zanahorias (Lemmens, *et al.*, 2009), sagú (Onsa, *et al.*, 2004); guayaba (Ganjloo, *et al.*, 2009), judías verdes (Akyol, *et al.*, 2006; Soysal, *et al.*, 2004), guisantes (Akyol, *et al.*, 2006), piña (Zhou, *et al.*, 2003), berros (Cruz, *et al.*, 2006), kiwi (Fang, *et al.*, 2008), rábanos (Zhong, *et al.*, 2007), hojas de menta (Rudra, *et al.*, 2008) y fresas (Chisari, *et al.*, 2007).

**Diagrama 2. Diagrama de Pareto estandarizado para Actividad Enzimática de POD en pulpa de tomate de árbol**

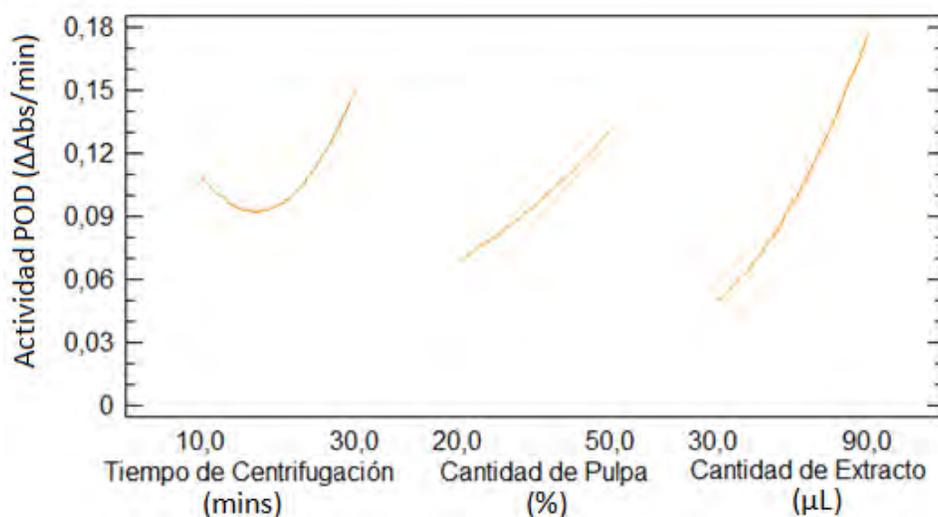


Fuente: esta investigación

En el diagrama de Pareto (Diagrama 2) se muestran claramente los efectos tanto significativos como no significativos de los factores, como de sus interacciones sobre la actividad enzimática. Así mismo indica que con un nivel de confianza del 95%, la cantidad de extracto, de pulpa, el cuadrado del tiempo de centrifugación, la interacción entre la cantidad de pulpa y extracto, el tiempo de centrifugación y el cuadrado de la cantidad de extracto, son los que ejercen un efecto significativamente positivo sobre la actividad enzimática, es decir que la aumentan. Pero, un leve cambio en cantidad de extracto causaría mayor efecto que un cambio en el tiempo de centrifugación o en la cantidad de pulpa.

Lo anterior debido a que al emplear casi la misma cantidad de pulpa y de buffer en la extracción, se provee de mayor cantidad de enzima a la matriz, lo cual se complementa con el uso de un volumen de extracto enzimático considerable al realizar la medición de la actividad POD. Similares resultados se obtuvieron en el estudio de Ceni *et al.* (2008), en el cual con el incremento de la masa del material vegetal se aumentó la actividad enzimática. Por otra parte, en el rango de tiempo de centrifugación óptimo, hay una mayor separación entre los sólidos totales y la fase líquida de la pulpa, por tanto los primeros se precipitan y la enzima se ubica en el sobrenadante porque el pH al que se encuentra es el óptimo para permanecer en solución, facilitando la determinación de su actividad (Roe, 2001).

**Gráfica 1. Efectos principales para Actividad POD del Tiempo de Centrifugación, la Cantidad de Pulpa y el Volumen de Extracto sobre la Actividad Peroxidasa en pulpa de tomate de árbol.**

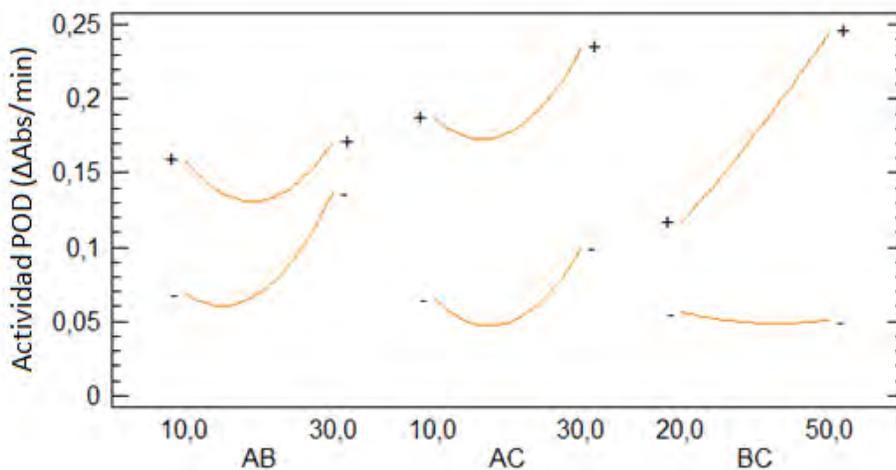


Fuente: esta investigación

La gráfica de efectos principales (Gráfica 1), muestra un marcado efecto de las variables: TC, PP y VE sobre la actividad POD. Se observa claramente el efecto positivo sobre la variable respuesta del incremento en la cantidad de pulpa, de extracto y el tiempo de centrifugación (para este último factor a partir de los 20 min), notándose que leves aumentos en estos, causan un incremento importante en la actividad POD.

Sin embargo a tiempos de centrifugación entre los 10 y 20 min se evidencia una disminución de la actividad POD. Según Roe (2001), esto pudo ser causado porque no se logró una liberación completa de la enzima y por tanto POD no pudo expresar toda su actividad; también debido a que se pudieron haber generado reacciones como acidificación y la oxidación durante la extracción enzimática por presencia de sustratos fenólicos, los cuales al oxidarse causan su inactivación parcial y se forman pigmentos oscuros que pueden interferir con el proceso de extracción, ligándose a la enzima e inactivándola, por tanto, estos deben sustraerse de la matriz antes del ensayo con aditivos como Polivinilpirrolidona (PVP) insoluble (o un detergente Triton X-100 junto con PVP insoluble, lo cual mejora la extracción Ceni, *et al.*, 2008).

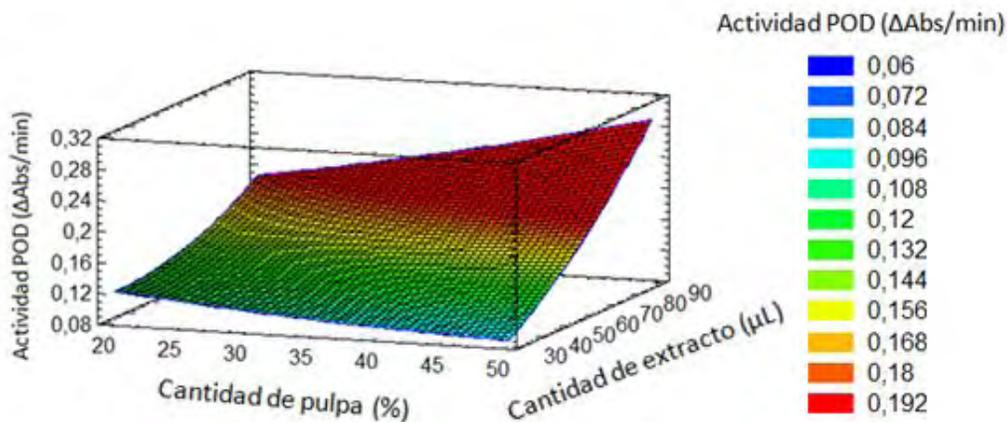
**Gráfica 2. Gráfico de interacción del Tiempo de Centrifugación, la Cantidad de Pulpa y el Volumen de Extracto sobre la Actividad POD en pulpa de tomate de árbol**



Fuente: esta investigación

Las interacciones que se muestran en la Gráfica 2 y los resultados que se observan en la tabla ANOVA, muestran que la única interacción relevante sobre el rendimiento es la interacción BC (Cantidad de pulpa-Cantidad de extracto) con un P-valor de 0,0102. Además muestra que el mejor efecto de la interacción frente a la actividad enzimática se da cuando la cantidad de pulpa y la cantidad de extracto se encuentran cercanas a su nivel superior. Esto se presenta debido a que el material de inicio tuvo la cantidad suficiente de POD y así después de la remoción de sólidos se presentó una recuperación eficiente de la enzima, dado que las condiciones de pH y temperatura fueron las óptimas, obteniéndose un sobrenadante clarificado que contuvo la enzima activa (Roe, 2001).

**Gráfica 3. Superficie de respuesta estimada para un tiempo de centrifugación de 30 minutos**



Fuente: esta investigación

La superficie de respuesta de la Gráfica 3, representa un modelo de segundo orden y muestra la tendencia que exhibe la actividad enzimática al hacer variar los factores en estudio, por tanto a medida que se incrementan los valores de la cantidad de pulpa y de volumen de extracto, la actividad enzimática se aumenta.

### 5.2.2 Evaluación de la efectividad de los tratamientos térmicos sobre la inactivación de POD en la pulpa

El Cuadro 12 muestra los valores de actividad enzimática y actividad residual promedio de POD, obtenidos después de aplicar los diferentes tratamientos térmicos.

**Cuadro 12. Actividad Residual promedio de POD de cada tratamiento en Pulpa de tomate de árbol pasteurizada**

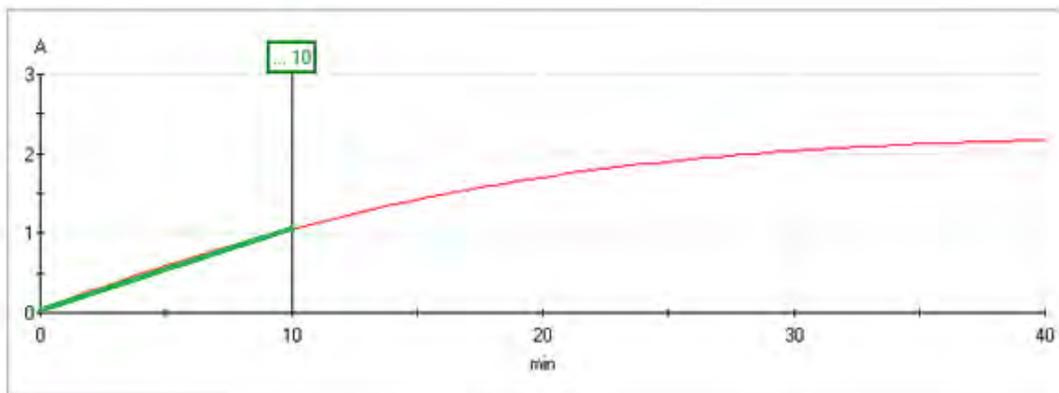
Temperatura (°C)	Tiempo (s)	Coefficiente de correlación	Actividad POD ( $\Delta$ Abs/min)	Actividad residual (%)
Sin tratamiento		0,9973	0,1287	100,00
60	40	0,9973 $\pm$ 0,0029	0,1041 $\pm$ 0,0029	80,86 $\pm$ 4,15
65	20	0,9981 $\pm$ 0,0017	0,0655 $\pm$ 0,0017	50,87 $\pm$ 3,51
65	60	0,9997 $\pm$ 0,0001	0,0315 $\pm$ 0,0001	24,48 $\pm$ 2,02
78	12	0,9979 $\pm$ 0,0025	0,0216 $\pm$ 0,0025	16,78 $\pm$ 0,49
78	40	0,9985 $\pm$ 0,0014	0,0181 $\pm$ 0,0014	14,05 $\pm$ 0,34
78	68	0,9995 $\pm$ 0,0003	0,0135 $\pm$ 0,0003	10,53 $\pm$ 0,41
90	20	0,9984 $\pm$ 0,0015	0,0140 $\pm$ 0,0015	10,86 $\pm$ 0,66
90	60	0,9984 $\pm$ 0,0016	0,0082 $\pm$ 0,0016	6,37 $\pm$ 0,16
95	40	0,9994 $\pm$ 0,0001	0,0112 $\pm$ 0,0001	8,72 $\pm$ 0,18

Nota: Los valores son la media de tres réplicas  $\pm$ Desviación estándar.

Fuente: esta investigación

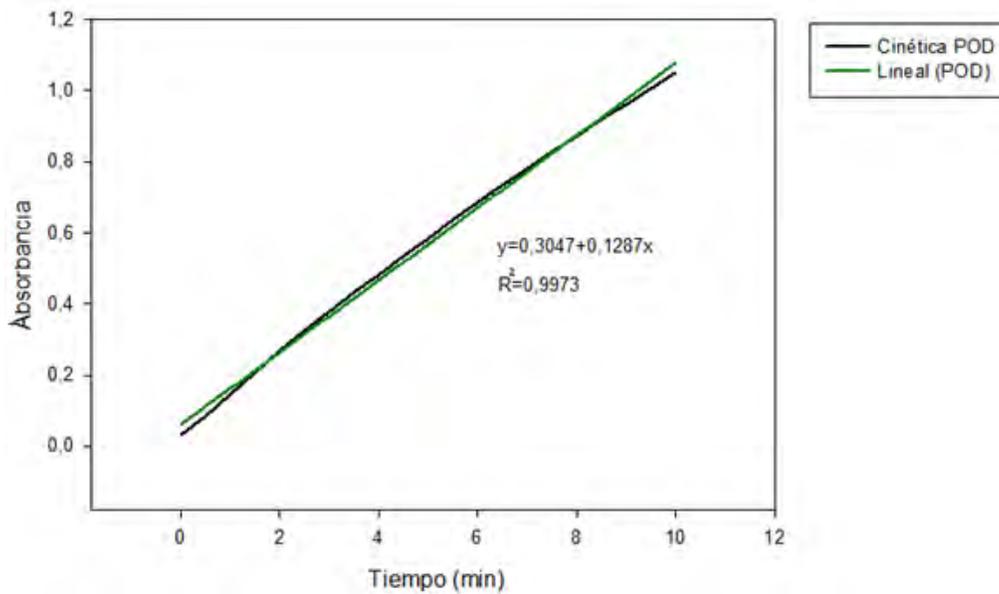
En la Gráfica 4 se presenta la cinética de POD en pulpa de tomate sin tratamiento térmico. Los primeros 10 minutos fueron empleados para calcular la pendiente de la curva a través de regresión lineal (gráfica 5), la cual correspondió a 0,1287  $\Delta$ abs/min. Este valor se constituye en  $A_0$ , con el cual se determinó la actividad residual mediante la ecuación 2 al aplicar los diferentes tratamientos térmicos.

**Gráfica 4. Curva patrón de cinética de POD**



Fuente: esta investigación

**Gráfica 5. Parte Lineal de la curva de Cinética de POD**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 13. Análisis de Varianza para Actividad Residual de POD en Pulpa de tomate de árbol pasteurizada**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	9616,18	1	9616,18	178,40	<b>0,0000</b>
B:Tiempo	591,594	1	591,594	10,98	<b>0,0032</b>
AA	2630,63	1	2630,63	48,80	<b>0,0000</b>
AB	359,708	1	359,708	6,67	<b>0,0170</b>
BB	40,5418	1	40,5418	0,75	0,3952
Bloques	10,695	2	5,34751	0,10	0,9060
Error total	1185,83	22	53,9013		
Total (corr.)	15379,1	29			

( $P < 0,05$ )=significativo;  $R^2 = 92,2893\%$ ; Estadístico Durbin-Watson= 1,71232 ( $P = 0,1150$ )

Fuente: esta investigación

En el cuadro 13 se muestra el análisis de varianza que prueba la significancia estadística de cada efecto, comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, la temperatura, el tiempo, el cuadrado de la temperatura y la interacción entre temperatura y tiempo, tienen un valor-P menor que 0,05, indicando que ejercen un efecto significativo sobre la actividad residual de POD con un nivel de confianza del 95,0%.

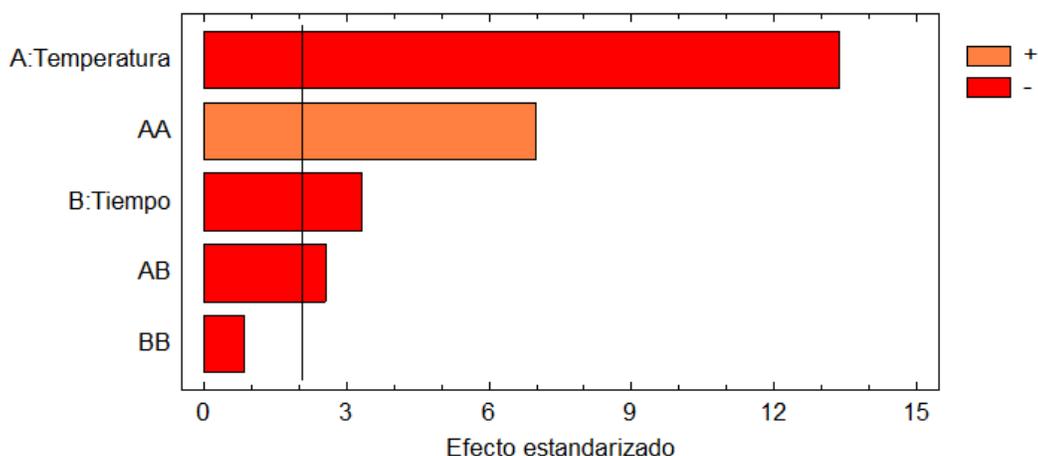
Similares resultados fueron reportados por Ercan & Soysal (2011), quienes al evaluar la inactivación térmica de POD en tomate (*Solanum lycopersium*) encontraron que según el análisis estadístico, después de aplicar un análisis de varianza a los datos experimentales se presentó una interacción significativa ( $P < 0,05$ ) entre el tiempo y la temperatura estudiados. Además, se encontró que no había inactivación POD a temperaturas inferiores a 60°C.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{Actividad Residual POD} = 7,41 \times 10^2 - (1,62 \times 10 \times T) - (1,60162 \times t) + (8,86 \times 10^{-2} \times T^2) + (2,19 \times 10^{-2} \times T \times t) - (4,30 \times 10^{-3} \times t^2) \text{ Ecuación 4}$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales.

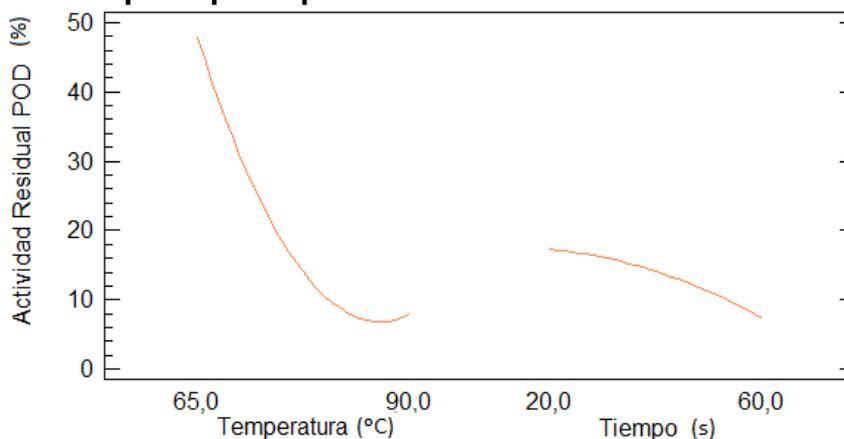
**Diagrama 3. Diagrama de Pareto estandarizado para Actividad Residual de POD**



Fuente: esta investigación

El diagrama 3 muestra claramente los efectos tanto significativos como no significativos de los factores, como de sus interacciones sobre la actividad residual de POD. Así mismo indica que con un nivel de confianza del 95%, la temperatura, el tiempo y la interacción entre estos dos factores causan un efecto significativo y a su vez negativo sobre la actividad residual de la enzima, es decir la disminuyen. Además, cabe destacar que un leve cambio en la temperatura causarían un mayor efecto que un cambio en el tiempo de pasteurización.

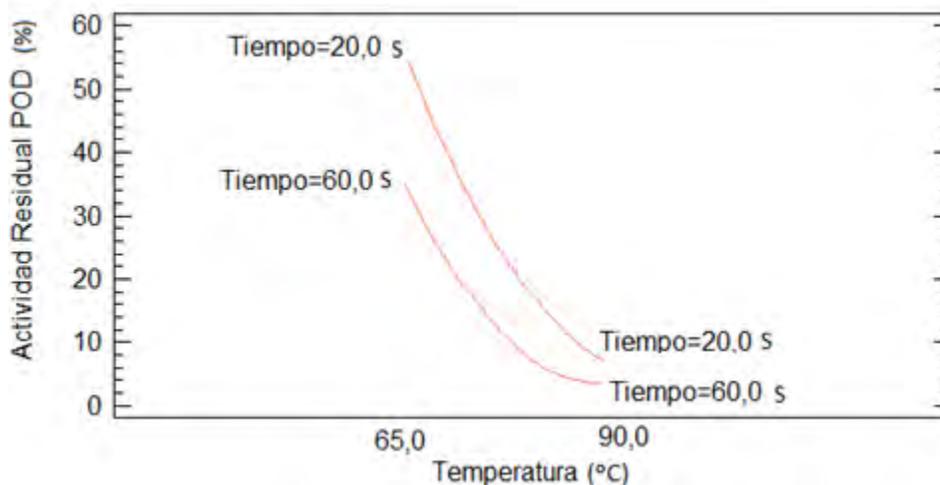
**Gráfica 6. Efectos principales para Actividad Residual de POD**



Fuente: esta investigación

Así mismo, la Gráfica 6 presenta que a medida que la temperatura y el tiempo aumentan, la actividad enzimática residual se disminuye. Por tanto se observa el efecto negativo que causan sobre la variable respuesta.

**Gráfica 7. Gráfica de interacción de factores para Actividad Residual POD**



Fuente: esta investigación

La gráfica 7 muestra que el mejor efecto de la interacción frente a la actividad enzimática residual se da cuando la temperatura y el tiempo se encuentran cercanos a su nivel superior. Se presenta la diferencia entre los tiempos aplicados y se observa que la mayor actividad residual resulta al aplicar el tratamiento térmico a 65°C por 20 s y la menor después de la pasteurización a 90°C y 60 s.

**Cuadro 14. Optimización de la Actividad residual de POD**

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura (°C)	60	95	92,3704
Tiempo (s)	12	70	55,6218

**Meta:** mantener Actividad Residual POD en 10,0%;  
Fuente: esta investigación

Se tomó como valor óptimo 10% de actividad residual, debido a que desde un punto de vista comercial el nivel aceptable de inactivación enzimática corresponde a un 90% de pérdida de la actividad inicial (Gunes & Bayindirli, 1993).

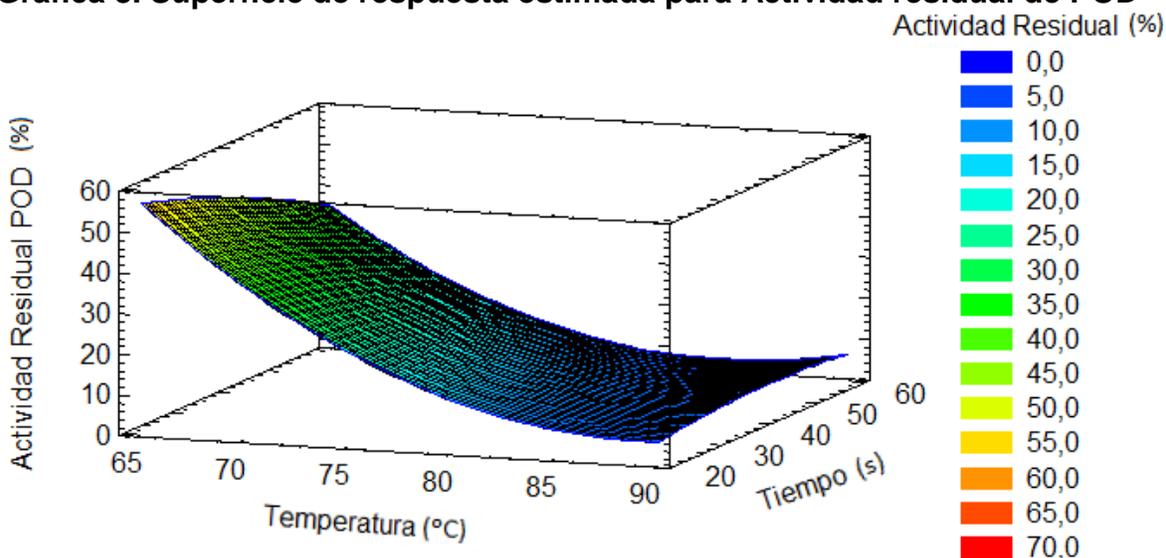
De esta manera, el cuadro 14 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual mantiene la Actividad Residual POD en 10,0% sobre la región indicada, resultando como óptimo el tratamiento a 92°C y 56 s. Se reporta que los tratamientos térmicos típicos de los jugos de cítricos varían desde 90 hasta 95°C durante 15 s - 1 min (Morales de la Peña, *et al.* 2010), por tanto, el tratamiento térmico óptimo obtenido se encuentra en dicho rango de temperatura y tiempo. Sin embargo, en la investigación realizada por Osorio (2008), se obtuvo que en puré

de fresa un tratamiento térmico más energético (90°C-2 min) redujo la actividad POD por debajo del 10% de la inicial.

Por otra parte, los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los reportados por otros autores, los cuales evalúan los tratamientos térmicos sobre bebidas lácteas. Es así como en el estudio realizado a base de leche de soja con jugo de naranja, kiwi y piña, al pasteurizar el producto a 90°C por 60 s, se inactivó completamente a POD después de aplicar el tratamiento térmico (Morales de la Peña, *et al.* 2010) y según reporta Salvia *et al.* (2007) se empleó un tratamiento térmico similar, con condiciones de temperatura y tiempo de 90°C y 1 min para asegurar la inactivación de microorganismos de degradación y la estabilidad enzimática de pectinmetiltransferasa y poligalacturonasa en una bebida a base de leche descremada y jugos de naranja, kiwi, mango y piña. Cilla *et al.* (2011) utilizó una pasteurización de 95°C- 45 s en una mezcla de jugos de uva, naranja y albaricoque con leche descremada para obtener un producto alimenticio microbiológicamente estable.

Cabe resaltar que en el procesamiento de alimentos, la pasteurización además de inactivar a las enzimas causantes de deterioro de las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del producto, tiene como uno de los objetivos principales destruir los organismos patógenos asegurando de esta manera su inocuidad (Farnworth, *et al.*, 2001). Por esta razón al evaluar en la pulpa de tomate de árbol pasteurizada a 92°C-56 s, los parámetros microbiológicos exigidos para pulpas por la resolución 7992/91 del Ministerio de Salud, entre los cuales estuvieron el análisis de coliformes totales, coliformes fecales, recuento de mesófilos, de hongos y mohos y de esporas *Clostridium* sulfito reductor, se obtuvieron resultados (ver anexos 11 y 12) dentro de los rangos permitidos por dicha normatividad, lo cual indica que el tratamiento térmico aplicado a la pulpa es efectivo y puede aplicarse para su conservación.

**Gráfica 8. Superficie de respuesta estimada para Actividad residual de POD**



Fuente: esta investigación

La Gráfica 8 de superficie de respuesta, representa un modelo de segundo orden y se observa el comportamiento inversamente proporcional de la actividad residual respecto a los factores evaluados: tiempo y temperatura.

### **5.3 DETERMINACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA BEBIDA CON BASE EN LA ACEPTABILIDAD DE SUS PROPIEDADES SENSORIALES**

**5.3.1 Balances de materia para determinar las formulaciones de la bebida a ser empleadas en la evaluación sensorial.** El tomate de árbol fue clasificado según la tabla de color de la NTC 4105 y como se explicó anteriormente, se determinó la acidez y los sólidos solubles totales para establecer el índice de madurez. De esta manera, se encontró, que la mayoría de los frutos se ubican dentro del color 3 y 4. Con índices de madurez (IM) entre 4 y 6, respectivamente (ver cuadro 15). Según, García (2008) de acuerdo a la gráfica 9, teniendo en cuenta que el tomate es una fruta no climatérica, debería ser recolectada después de la semana 23, cuando ya está muy cerca al punto de mayor desarrollo de sus características organolépticas, esto es SST entre 8 y 10°Brix, firmeza entre 4 y 5 kgf/cm<sup>2</sup>, acidez entre 1.4 y 1.5 g ácido cítrico/100 g e índice de madurez entre 6 y 8.

**Cuadro 15. Propiedades fisicoquímicas de las muestras de tomate de árbol analizadas**

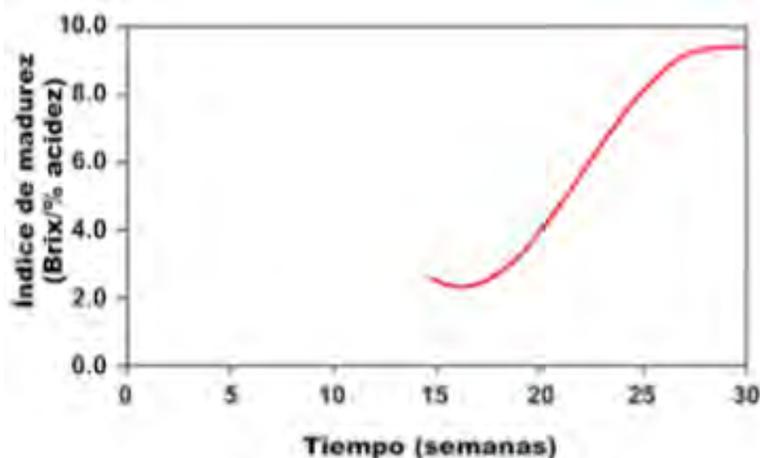
Color	Sólidos solubles totales °Brix	Acidez (% Acido cítrico)	Índice de madurez
3	8,17±0,23	1,87±0,05	4,37±0,26
4	9,67±0,58	1,57±0,02	6,18±0,38

± Desviación estándar

Fuente: esta investigación

De esta manera, al encontrar que las muestras de tomate de árbol tienen un IM entre 4 y 6, fue necesario estandarizarlo hasta alcanzar un valor de 8. Para ello se empleó el balance de materia presentado en el cuadro 16, con el cual se pretendió incrementar los sólidos solubles totales de la pulpa añadiéndole azúcar.

**Gráfica 9. Evolución del índice de madurez del tomate de árbol durante el proceso de crecimiento y maduración**



Fuente: García (2008)

Se partió de tomate de árbol con 9 °Brix, y 1,7% de acidez. Por tanto, se tiene un IM de 5, para llevarlo a 8, los °Brix que debe tener la pulpa son 13,6°Brix, tal como se muestra en los siguientes cálculos.

$$IM = \frac{^{\circ}Brix}{\%Acidez}$$

$$8 = \frac{^{\circ}Brix}{1,7}$$

$$^{\circ}Brix = 8 * 1,7 = 13,6^{\circ}Brix$$

**Cuadro 16. Balance de materia para estandarizar el IM del tomate de árbol**

<b>Ingredientes</b>	<b>100</b>	<b>°Brix</b>	<b>S.S.A</b>
Pulpa de tomate de árbol	$x$	9	$\frac{9}{100}x$
Azúcar	$y$	100	$y$
<b>TOTAL</b>	100		13,6

Fuente: esta investigación

Las ecuaciones que resultan del balance son:

$$x + y = 100 \text{ Ecuación 5}$$

$$\frac{9}{100}x + y = 13,6 \text{ Ecuación 6}$$

Los valores de  $x$  y  $y$  al resolver las ecuaciones 5 y 6, son: 94,95 y 5,05, esto significa que al mezclar 94,95 partes de pulpa con 5,05 partes de azúcar, se obtendrá pulpa estandarizada de tomate de árbol con un IM de 8.

Una vez estandarizada la pulpa de tomate se procedió a realizar los tres balances de materia correspondientes (cuadros 17, 18 y 19), en los cuales se hizo variar la relación entre leche UHT descremada y agua para obtener tres formulaciones diferentes de bebida (cuadro 20), las cuales determinaron las 3 muestras (con codificación de 122, 340 y 430) que se evaluaron sensorialmente.

**Cuadro 17. Balance de materia para la formulación de la bebida con leche UHT descremada**

<b>Ingredientes</b>	<b>100</b>	<b>°Brix</b>	<b>S.S.A</b>
Pulpa de tomate de árbol	30	13,5	4,05
Azúcar	$x$	100	$x$
Leche UHT descremada	$y$	9	$\frac{9}{100}y$
<b>TOTAL</b>	100		14

Fuente: esta investigación

Las ecuaciones que resultan del balance son:

$$30 + x + y = 100 \text{ Ecuación 7}$$

$$4,05 + x + \frac{9}{100}y = 14 \text{ Ecuación 8}$$

Los valores de  $x$  y  $y$  que corresponden a las partes de azúcar y leche UHT descremada al resolver las ecuaciones 7 y 8, son: 4,01 y 65,99, respectivamente.

**Cuadro 18. Balance de materia para la formulación de la bebida con la mezcla de leche UHT descremada y agua en proporción 70:30**

<b>Ingredientes</b>	<b>100</b>	<b>°Brix</b>	<b>S.S.A</b>
Pulpa de tomate de árbol	30	13,5	4,05
Azúcar	$x$	100	$x$
Leche UHT descremada-Agua	$y$	6	$\frac{6}{100}y$
<b>TOTAL</b>	100		14

Fuente: esta investigación

Las ecuaciones que resultan del balance son:

$$30 + x + y = 100 \text{ Ecuación 9}$$

$$4,05 + x + \frac{6}{100}y = 14 \text{ Ecuación 10}$$

Los valores de  $x$  y  $y$  que corresponden a las partes de azúcar y leche UHT descremada-agua al resolver las ecuaciones 9 y 10, son: 6,12 y 63,88, respectivamente

**Cuadro 19. Balance de materia para la formulación de la bebida con la mezcla de leche UHT descremada y agua en proporción 40:60**

<b>Ingredientes</b>	<b>100</b>	<b>°Brix</b>	<b>S.S.A</b>
Pulpa de tomate de árbol	30	13,5	4,05
Azúcar	$x$	100	$x$
Leche UHT descremada	$y$	4	$\frac{4}{100}y$
<b>TOTAL</b>	100		14

Fuente: esta investigación

Las ecuaciones que resultan del balance son:

$$50 + x + y = 100 \text{ Ecuación 11}$$

$$4,5 + x + \frac{4}{100}y = 14 \text{ Ecuación 12}$$

Los valores de  $x$  y  $y$  a las correspondientes a las partes de azúcar y leche UHT descremada-agua al resolver las ecuaciones 11 y 12, son: 7,45 y 62,55, respectivamente.

De esta manera, la cantidad de materia prima y demás ingredientes requeridos para cada formulación se presentan en el cuadro 20.

**Cuadro 20. Formulaciones de las muestras de bebida para la evaluación sensorial**

Muestra	Pulpa (g)	Azúcar (g)	Mezcla Leche-Agua (mL)	Cantidad de Agua (mL)	Cantidad de Leche (mL)
122 (100% leche)	30	4,01	65,99	0	65,99
340 (70%leche y 30% agua)	30	6,12	63,88	19,16	44,72
430 (40%leche y 60% agua)	30	7,45	62,55	37,53	25,02

Fuente: esta investigación

### 5.3.2 Análisis estadístico de la prueba sensorial afectiva.

**Cuadro 21. Análisis de varianza para color**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	3,77333	2	1,88667	2,40	<b>0,0943</b>
Intra grupos	115,56	147	0,786122		
Total (Corr.)	119,333	149			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 21 y la gráfica 10 muestran que el valor-P de la razón-F es mayor que 0,05, por tanto no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos. Además, el cuadro 22 muestra que existen 2 grupos homogéneos y que solo hay diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos 430 y 122, destacando que el tratamiento 122 tiene una mayor calificación en cuanto a color.

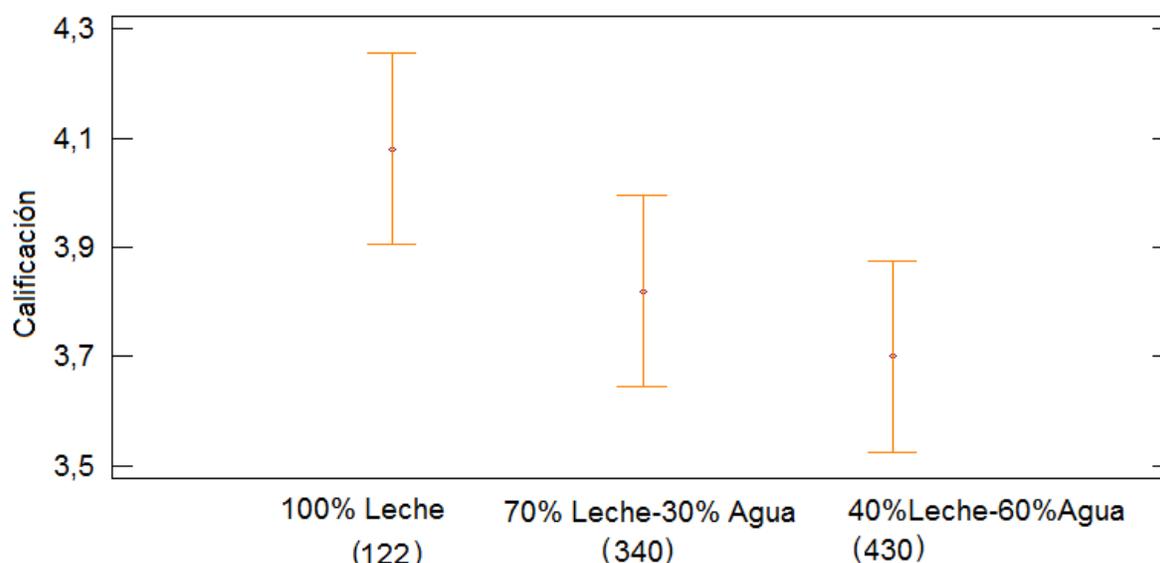
**Cuadro 22. Prueba LSD Fisher para color**

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
430	50	3,70	X
340	50	3,82	XX
122	50	4,08	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 10. Gráfica de medias para color**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 23. Análisis de varianza para olor**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,373333	2	0,186667	0,21	<b>0,8077</b>
Intra grupos	128,3	147	0,872789		
Total (Corr.)	128,673	149			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 23 y la gráfica 11 muestran que el valor-P de la razón-F es mayor que 0,05, por tanto no existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos. Además, el cuadro 24 muestra que existe un grupo homogéneo con una media aproximada de 3,71 (me gusta).

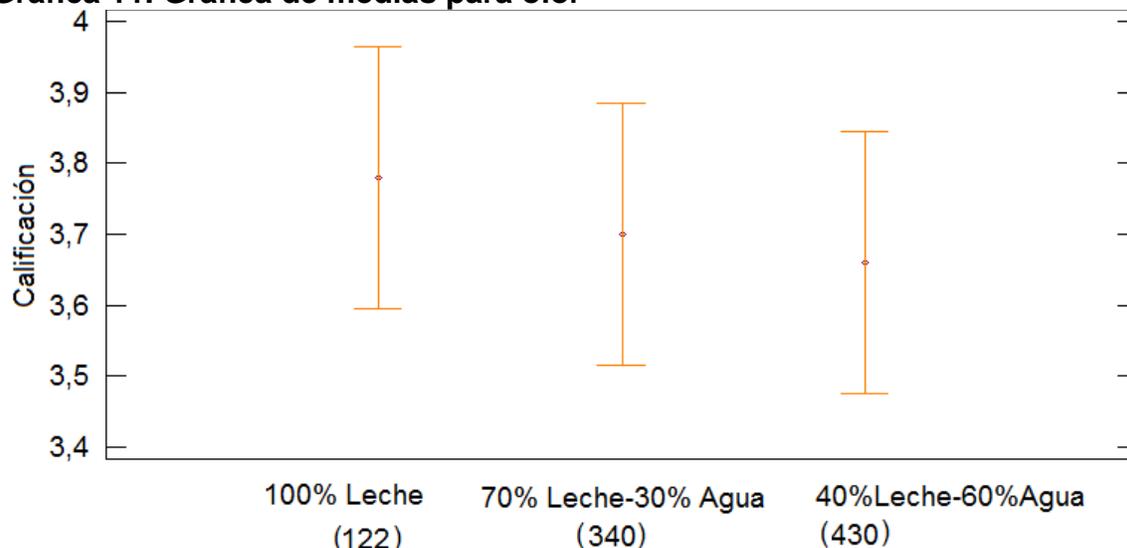
**Cuadro 24. Prueba LSD Fisher para olor**

Bebida	Casos	Media	Grupos Homogéneos
430	50	3,66	X
340	50	3,70	X
122	50	3,78	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 11. Gráfica de medias para olor**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 25. Análisis de varianza para sabor**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	28,2533	2	14,1267	13,57	<b>0,0000</b>
Intra grupos	153,08	147	1,04136		
Total (Corr.)	181,333	149			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 25 y la gráfica 12 indican que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor-P menor a 0,05. Se observa que los tratamientos 430 y 340 presentaron la mayor calificación (me gusta) y el tratamiento 122 la menor calificación (me es indiferente).

**Cuadro 26. Prueba LSD Fisher para sabor**

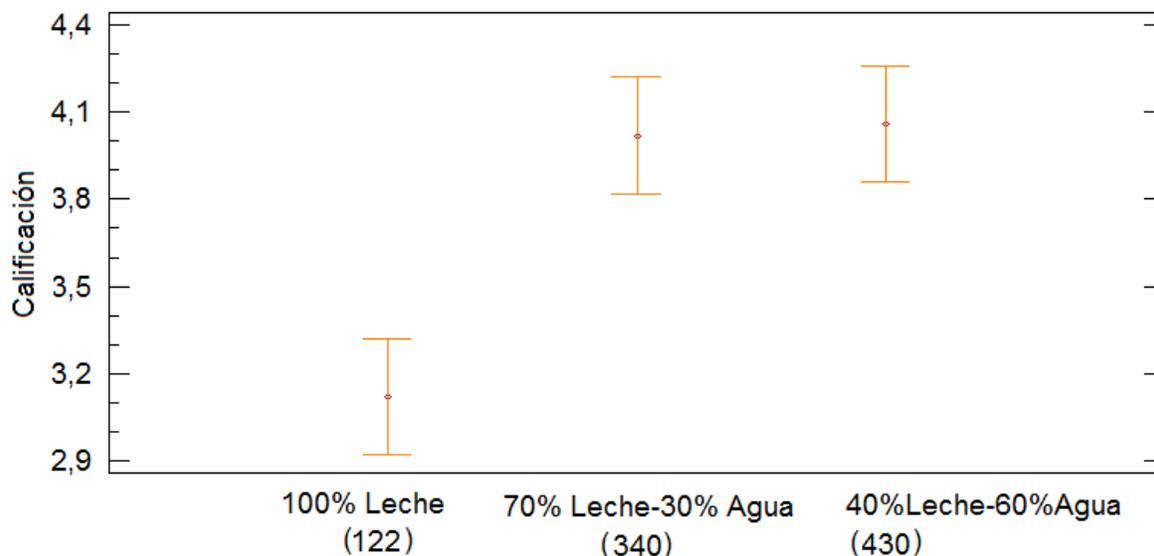
Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
122	50	3,12	X
340	50	4,02	X
430	50	4,06	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

Además, según el cuadro 26 se identifica 2 grupos homogéneos, resaltando que entre los tratamientos 340 y 430, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto al atributo evaluado, lo cual se refleja en el valor de las medias, mientras que entre estos dos tratamientos y el 122 existe diferencia significativa.

**Gráfica 12. Gráfica de medias para sabor**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 27. Análisis de varianza para viscosidad**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20,28	2	10,14	11,13	<b>0,0000</b>
Intra grupos	133,88	147	0,910748		
Total (Corr.)	154,16	149			

(P<0,05)=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 27 y la gráfica 13, muestran que existe diferencia significativa entre las medias de los tratamientos con un valor-P menor a 0,05. Se observa que el tratamiento 340 tuvo la mayor calificación, el tratamiento 122 la menor calificación y el tratamiento 430 obtuvo una calificación intermedia. Además, el cuadro 28 muestra que existen 3 grupos homogéneos, debido a la variación entre sus medias.

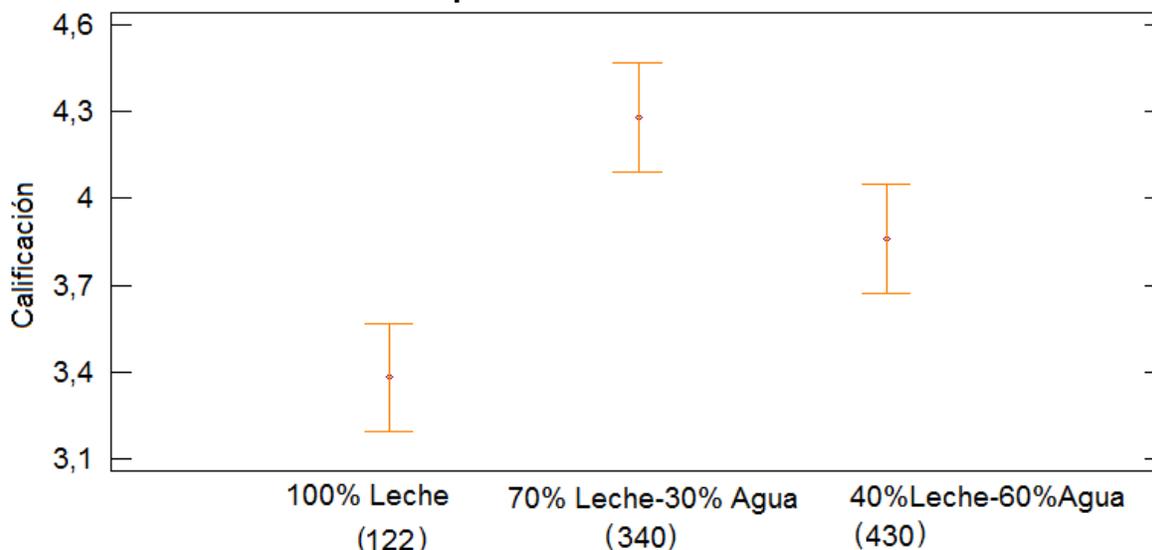
**Cuadro 28. Prueba LSD Fisher para viscosidad**

Bebida	Casos	Media	Grupos Homogéneos
122	50	3,38	X
430	50	3,86	X
340	50	4,28	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

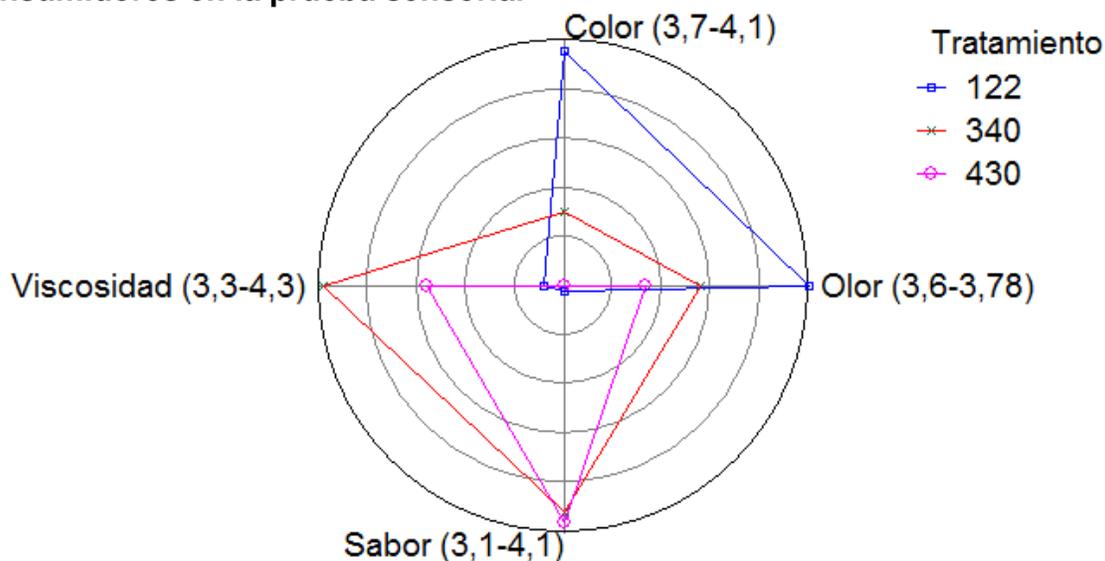
**Gráfica 13. Gráfica de medias para viscosidad**



Fuente: esta investigación

La gráfica 14 muestra una valoración global de las calificaciones sensoriales (color, olor, sabor y viscosidad) evaluadas por los jueces consumidores, en la cual las mejores calificaciones ocupan la mayor área. De esta manera, se observa que los tratamientos 430 y 340 obtuvieron las mejores calificaciones en cuanto a sabor. Pero con respecto a la viscosidad, el tratamiento 340 tuvo el mayor puntaje. En cuanto al olor y color, las diferencias son mínimas, pero la mayor calificación en ambos atributos fue para el tratamiento 122, seguida por el tratamiento 340 y 430.

**Gráfica 14. Valoración global de los atributos de la bebida evaluados por los consumidores en la prueba sensorial**



Fuente: esta investigación

De acuerdo a lo anterior, con esta evaluación sensorial se determinó que la variación de la leche con respecto al agua a la cual se expuso a la bebida, ocasionó cambios en las propiedades sensoriales del producto y estas a su vez fueron detectadas por el consumidor y medidas a través de la escala de 5 puntos, la cual permitió conocer qué tanto gustaba o disgustaba la bebida según el tratamiento. De esta manera, se observa, que en general, la muestra 340 obtuvo la mejor aceptación entre los jueces, teniendo en cuenta las calificaciones con respecto a sabor y viscosidad, que fueron los atributos con diferencias significativas entre los tratamientos. Por tanto, los análisis para determinar el potencial antioxidante de la bebida así como para evaluar su estabilidad durante el almacenamiento se realizaron empleando esta muestra.

Por otra parte, cabe resaltar que el olor y el color son atributos que no influirían significativamente en la aceptación del producto si para su comercialización se emplearía un empaque tipo tetra pack que impediría al consumidor captar una percepción de ellos.

#### 5.4 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA BEBIDA A TRAVÉS DE LA EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, ÁCIDO ASCÓRBICO Y CAROTENOIDES.

**5.4.1 NAnálisis fisicoquímico de la bebida.** El cuadro 29 presenta el **análisis fisicoquímico de la muestra 340**. Los resultados obtenidos para cada parámetro corresponden a un promedio derivado del análisis por triplicado (n=3) realizado por el laboratorio de bromatología de la Universidad de Nariño (ver anexos 13, 14 y 15)

**Cuadro 29. Análisis fisicoquímico de la bebida**

Parámetro	Valor	Contribución a la dieta según el valor de referencia diario (%)
Sólidos solubles totales a 20°C (°Brix)	12,0±0,0	
pH a 10,2 °C	4,19±0,02	
Acidez (g ácido láctico/100 g)	0,645±0,094	
Densidad a 20°C (g/mL)	1,050±0,005	
Viscosidad a 20°C (mPa.s)	39,92±0,73	
Humedad (g/100 g)	85,10±0,00	
Ceniza (g/100 g)	0,31±0,13	
Proteína (g/100 g)	1,80±0,01	7,6
Carbohidratos totales (g/100 g)	9,30±0,54	6,5
Calcio (mg/100 g)	52,13±0,80	10,9
Fósforo (mg/100 g)	49,07±1,82	10,3
Potasio (mg/100 g)	151,33±12,50	9,0
Hierro (mg/100 g)	0,07±0,02	0,82
Ácido Ascórbico (mg/100 mL)	12,97±0,603	45,4
Fibra cruda (g/100 g)	1,22±0,12	10,3

Nota: Los valores son la media de tres réplicas ±Desviación estándar.

Fuente: esta investigación

Los valores de SST, pH y acidez de la bebida sobrepasan los valores mínimos requeridos por la Resolución 7992/91 del Ministerio de Salud para néctares de fruta pasteurizados que corresponden a 10 °Brix, 2,5 y 0,2 g de ácido anhido/100 g de muestra, respectivamente, por tanto estos parámetros cumplen con la normatividad. Además, los SST y la densidad se encuentran dentro de los rangos reportados en la investigación de Zulueta *et al.* (2007), en la cual se evaluaron 17 bebidas comerciales en España basadas en la mezcla de leche y jugos de

diferentes frutas, encontrando valores desde  $4,00\pm 0,01$  a  $14,43\pm 0,06$  °Brix y  $1,017\pm 0,005$  a  $1,062\pm 0,012$  g/mL (pertenecientes a bebidas de leche con jugo de manzana y leche con jugo de naranja y mango, respectivamente). En el caso del pH, el valor inicial de la bebida no difiere de forma significativa del límite máximo del rango de valores de pH obtenido en dicho estudio que corresponde a  $2,96\pm 0,01$ -  $4,11\pm 0,01$  (pertenecientes a las bebidas de leche con jugo de manzana y leche con jugo de naranja y piña, respectivamente), así como tampoco del valor reportado por Sampedro *et al.* (2007) en cuyo estudio se obtuvo un pH de  $4,05\pm 0,04$  para una bebida de leche y jugo de naranja.

Por otra parte, la viscosidad de la bebida es mayor a la reportada por Sampedro *et al.* (2007), que correspondió a  $20,0\pm 0,02$  mPa.s, sin embargo, similares resultados se reportan por Salvia *et al.* (2011), con un valor de  $38,53\pm 1,00$  mPa.s, en una bebida de leche descremada con jugo de naranja, kiwi, mango y piña tratada a  $90^{\circ}\text{C}$ -60 s.

Esta bebida puede ser considerada como “Alta en ácido ascórbico” debido a que por porción de consumo habitual de referencia aporta el 45,4% de esta vitamina a la dieta.

Sin embargo, de acuerdo al contenido de minerales: calcio, fósforo, potasio y hierro en la bebida, cabe resaltar que según los porcentajes de contribución a la dieta para niños mayores de 4 años y adultos, tomando como base los valores de referencia diarios según la NTC 512-2 para rotulado nutricional de alimentos envasados y además una porción de 200 mL de bebida (1 vaso), esta no puede considerarse como “Alta en calcio, fósforo, potasio y hierro”, ya que no contiene el 20% ó más del valor de referencia ni tampoco como “Buena fuente de calcio, fósforo, potasio y hierro”, porque no contiene del 15% al 19% del valor de referencia de estos minerales, los cuales son los requisitos que se establecen en esa norma para catalogarla en dichos términos.

Por otra parte, es preciso mencionar que la bebida es buena fuente de fibra, ya que contiene más del 10% del valor de referencia declarado en la NTC 512-2.

Además, en su rotulado puede emplearse el término “saludable” o cualquier término derivado de este, tales como: “salud”, “salubre”, “saludablemente”, “salubridad”, “buena salud”, “estado sano”, ya que la bebida contiene 10,9 y 10,3% de calcio y fibra, respectivamente y por tanto sobrepasa el mínimo porcentaje (10 %) del valor de referencia para ser considerada como tal.

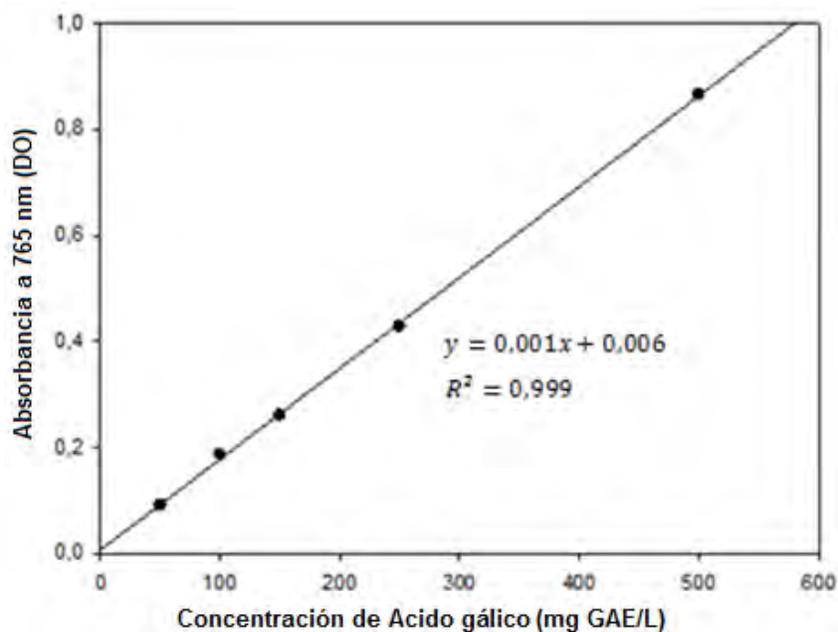
Además, debido a que las cantidades de calcio, fósforo y potasio, no son inferiores al 2% del valor de referencia por porción de bebida, según la NTC 512 la expresión: “No es una fuente significativa de” tampoco se ajusta a los valores obtenidos, ya que como puede observarse, la contribución a la dieta de estos minerales se encuentran cercanos al 10% y por tanto se ubican en un nivel

intermedio en el que la bebida no puede declararse como “Alta en”, “Buena fuente en” o “No es una fuente significativa de” dichos minerales.

En este sentido cabe resaltar que la estabilidad de los minerales depende de varios factores, incluyendo la naturaleza de la comida en la que se encuentran, el tamaño de partícula, y la exposición al calor y el aire (Akhtar, Anjumet y Salim-Ur-Rehman, 2009). Teniendo en cuenta los efectos del calor, se ha encontrado que los tratamientos térmicos también modifican el contenido de minerales en los alimentos dependiendo de su severidad (Morales de la Peña, *et al.*, 2011), por tanto la pasteurización empleada pudo haber causado una disminución de estos en la bebida. Sin embargo, cabe destacar que a pesar de haber sometido a la bebida a un tratamiento energético resultó ser buena fuente de fibra y podría ser designada como un producto saludable por contener un valor superior al 10% de calcio y fibra.

**5.4.2 Determinación del contenido de fenoles totales en la bebida.** La gráfica 15 muestra la curva de calibración empleada para obtener la cantidad de fenoles totales de la bebida (ver cuadro 30) durante cada semana hasta completar un mes de almacenamiento. Cabe mencionar que su coeficiente de correlación es muy cercano a 1, por lo tanto se puede asegurar que a partir de la ecuación de regresión lineal se obtuvieron datos confiables para el análisis.

**Gráfica 15. Curva de calibración para determinar la cantidad de fenoles totales**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 30. Cantidad de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**

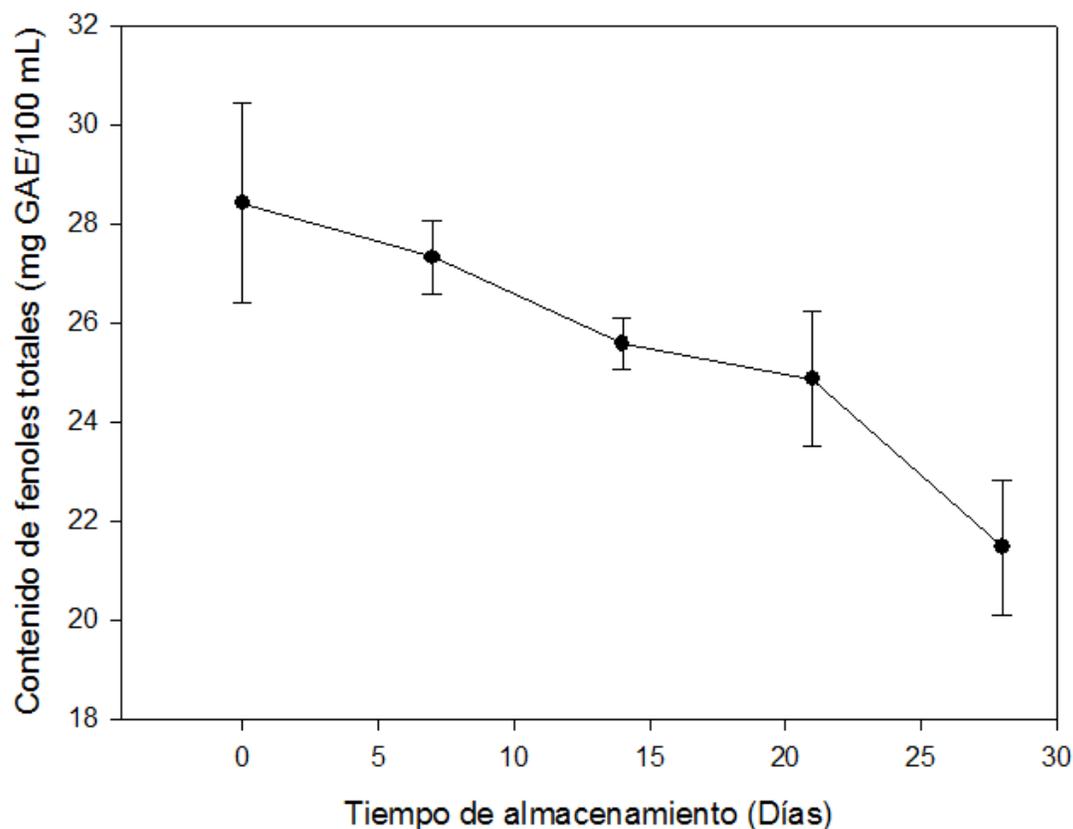
Tiempo (Día)	Absorbancia (DO a 765 nm)	Contenido de fenoles totales (mg GAE/100 mL)
Patrón	0,407±0,010	40,117±0,971
0	0,338±0,020	33,150±2,020
7	0,279±0,007	27,317±0,728
14	0,245±0,005	23,883±0,511
21	0,232±0,014	22,625±1,373
28	0,221±0,014	21,467±1,360

Nota: Los valores son la media de tres réplicas ± DE.

Fuente: esta investigación

El contenido de fenoles totales en la bebida varió desde 21,467±1,360 mg GAE/100 mL (día 28 de almacenamiento) hasta 33,150±2,020 mg GAE/100 mL (día 0 de almacenamiento), por tanto el límite superior obtenido se ubica dentro del rango reportado por Zulueta *et al.* (2007) quienes evaluaron la concentración de compuestos fenólicos totales en 17 muestras de bebidas comerciales en España con leche y jugos de frutas (naranja, piña, mango, fresa, banano, durazno, kiwi, lima, albaricoque, limón, en la mayoría de casos empleando una mezcla de jugos), encontrando que los valores variaron de 26,5±0,02 mg GAE/100mL para la bebida de mango y piña, hasta 99,8±0,04 mg GAE/100mL para la bebida de durazno y albaricoque. A partir de la segunda semana se presentó una disminución de la cantidad de fenoles por debajo del límite mínimo reportado por Zulueta *et al.* (2007).

**Gráfica 16. Variación del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Las diferencias en el contenido fenólico total entre la bebida a base de tomate de árbol y leche descremada y las bebidas comerciales son principalmente debido al tipo de fruta, el grado de maduración, condiciones ambientales de cultivo y cosecha de las frutas empleadas para la formulación, así como por la variedad de planta, los procesos tecnológicos utilizados para su obtención y el tiempo de almacenamiento (Morales de la Peña, *et al.*, 2010; Klimczak, *et al.* 2007).

Según Gardner *et al.* (2000), los antioxidantes fenólicos en alimentos incluyen flavonoides, antocianinas, catequinas, chalconas y ácidos hidroxibenzoico y hidroxicinámico, muchos de los cuales están presentes en los zumos de frutas.

En el tomate de árbol, se encuentran principalmente antocianinas. Es así como en la investigación realizada por Osorio *et al.* (2012) sobre compuestos fenólicos en tomate de árbol procedente de Norte de Santander, Colombia, se reportó la presencia de estos compuestos, entre los que se encuentran: 1) delfinidina 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopiranosido-3'-O- $\beta$ -D-glucopiranosido; 2) delfinidina-3-O-(6''-O- $\alpha$ -ramnopiranosil)- $\beta$ -glucopiranosido, 3) cianidina-3-O-(6''-O- $\alpha$ -ramnopiranosil)- $\beta$ -glucopiranosido y 4) pelargonidina-3-O-(6''-O- $\alpha$ -ramnopiranosil)- $\beta$ -glucopiranosido. Los autores determinaron la capacidad

antioxidante de las cuatro antocianinas aisladas y los resultados mostraron que estas tienen una mayor capacidad para capturar radicales libres en solución acuosa (pH=5,2) que el ácido ascórbico. También se observó que el grado de hidroxilación de los rutinósidos aislados tiene una gran influencia sobre la capacidad antioxidante.

Además, en los primeros estudios sobre compuestos fenólicos constituyentes de tomate de árbol procedentes de Nueva Zelanda, informaron sobre la presencia de 3-rutinósidos y 3-glucósidos de pelargonidina, cianidina y delphinidina (Wrolstad y Heatherbell, 1974); mientras que pelargonidina 3-glucosil-glucosa, peonidina 3-glucosil-glucosa, y malvidina 3-glucosil-glucosa fueron identificados en frutos de tomate de árbol de Brasil (Bobbio, *et al.*, 1983). Recientemente, se reportaron antocianinas como delphinidina 3-rutinósido, cianidina 3-rutinósido, y pelargonidina 3-glucósido-5-ramnósido (tentativamente) en frutos procedentes de Brasil (Vera de Rosso y Mercadante, 2007). En frutos de tomate de árbol de Ecuador se reportó la presencia de las antocianinas: delphinidina glucosil rutinósido, delphinidina rutinósido, cianidina rutinósido y pelargonidina rutinósido, ácidos hidroxicinámicos, ácido dicafeoilquínico, ácido cafeoilquínico, cafeoil glucosa y glucosa feruloil (Mertz *et al.*, 2009).

#### 5.4.2.1 Análisis estadístico

**Cuadro 31. Resumen estadístico del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	18	28,0931	6,8887	21,5212%	0,98

Fuente: esta investigación

**Cuadro 32. Análisis de varianza para el contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	786,819	5	157,364	94,84	<b>0,0000</b>
Intra grupos	19,9117	12	1,65931		
Total (Corr.)	806,731	17			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 32 muestra que el valor-P es menor a 0,05, por tanto existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del contenido de fenoles totales en las diferentes semanas de almacenamiento con un nivel del 95,0% de confianza. Además, según el cuadro 33 y como se puede observar en la gráfica 17, se han identificado 5 grupos homogéneos, a partir de los cuales existe una diferencia significativa entre las medias del contenido de fenoles totales del tratamiento patrón y los demás días de almacenamiento, mientras que no existe una diferencia significativa entre las medias de los días 21 y 28.

Tal como lo muestra la gráfica 16, se presentó una disminución significativa del contenido de fenoles totales durante el almacenamiento. Similares resultados fueron reportados por Morales de la Peña *et al.* (2010), quienes trabajaron con una bebida de naranja y piña con leche de soja tratada térmicamente a 90°C-60 s, la cual mostró una disminución significativa en el contenido de compuestos fenólicos después del tercer día de almacenamiento, por tanto se estableció que los tratamientos térmicos son, por lo general, la causa principal de la disminución de los antioxidantes naturales y además, según Kumar-Roy *et al.* (2007) afectan de una manera considerable el contenido de compuestos fenólicos en los vegetales. Por lo tanto, las altas temperaturas aplicadas durante el proceso podrían haber afectado los compuestos fenólicos susceptibles en la bebida de leche descremada con pulpa de tomate de árbol haciéndolos fácilmente degradables en el tiempo.

Laorko *et al.* (2013) y Cao *et al.* (2012) también reportaron una disminución del contenido total de fenoles totales durante el almacenamiento, en jugo de piña pasteurizado y clarificado por microfiltración y en jugo de fresa procesado mediante altas presiones hidrostáticas, respectivamente.

Adicionalmente cabe mencionar, las principales enzimas responsables de la descomposición de fenoles en productos vegetales como las fresas son la polifenol oxidasa y peroxidasa (Cao *et al.*, 2012). Sin embargo, en este estudio dichas enzimas han sido inactivadas en la bebida mediante la pasteurización, por tanto no se presentó la degradación enzimática de los compuestos fenólicos. Sin embargo, su disminución, según Cao *et al.* (2012) se debe a la degradación por oxidación y su polimerización con proteínas reduciéndose así el número de grupos hidroxilo libres, medidos a través del método de Folin-Ciocalteu.

Por otra parte, al relacionar las propiedades fisicoquímicas con el contenido de los compuestos fenólicos, según Zulueta *et al.* (2007) los valores de pH, SST y la densidad no se correlacionan con el contenido de los compuestos fenólicos totales. Sin embargo, al estudiar la estabilidad de las antocianinas aisladas de tomate de árbol frente al pH, se encontró que eran relativamente más estables en condiciones de baja acidez con valores de pH entre 2,0-3,4 (Hurtado, *et al.*, 2009).

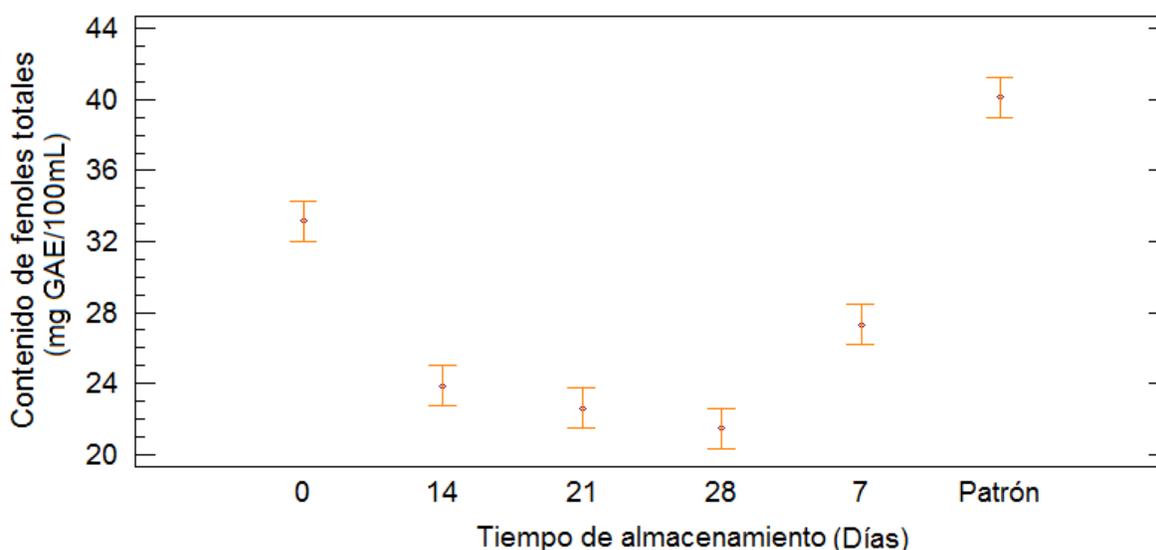
**Cuadro 33. Prueba LSD Fisher para el contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	21,4667	X
21	3	22,625	XX
14	3	23,8833	X
7	3	27,3167	X
0	3	33,15	X
Patrón	3	40,1167	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 17. Gráfica de medias del contenido de fenoles totales de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

**5.4.3 Determinación del contenido de ácido ascórbico.** El cuadro 34 presenta los resultados del contenido de ácido ascórbico evaluado en la bebida a lo largo del tiempo de almacenamiento, los cuales corresponden a un promedio derivado del análisis por triplicado (n=3) realizado en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad de Nariño (ver anexo 16). Los cromatogramas de algunos de los tratamientos se muestran en la gráfica 18.

**Cuadro 34. Contenido de ácido ascórbico en la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento (Días)	Contenido de ácido ascórbico (mg/100 mL)
Control	19,433±0,404
0	12,967±0,603
7	6,167±0,115
14	5,367±0,252
21	5,167±0,153
28	5,167±0,321

Nota: Los valores son la media de tres réplicas  $\pm$ DE.

Fuente: esta investigación

Como se observa, la concentración inicial de ácido ascórbico en la bebida fue de 19,433±0,404mg/100mL. Inmediatamente después del tratamiento térmico, la retención de ácido ascórbico fue 12,967±0,603 mg/100 mL, por tanto disminuyó en un 67%.

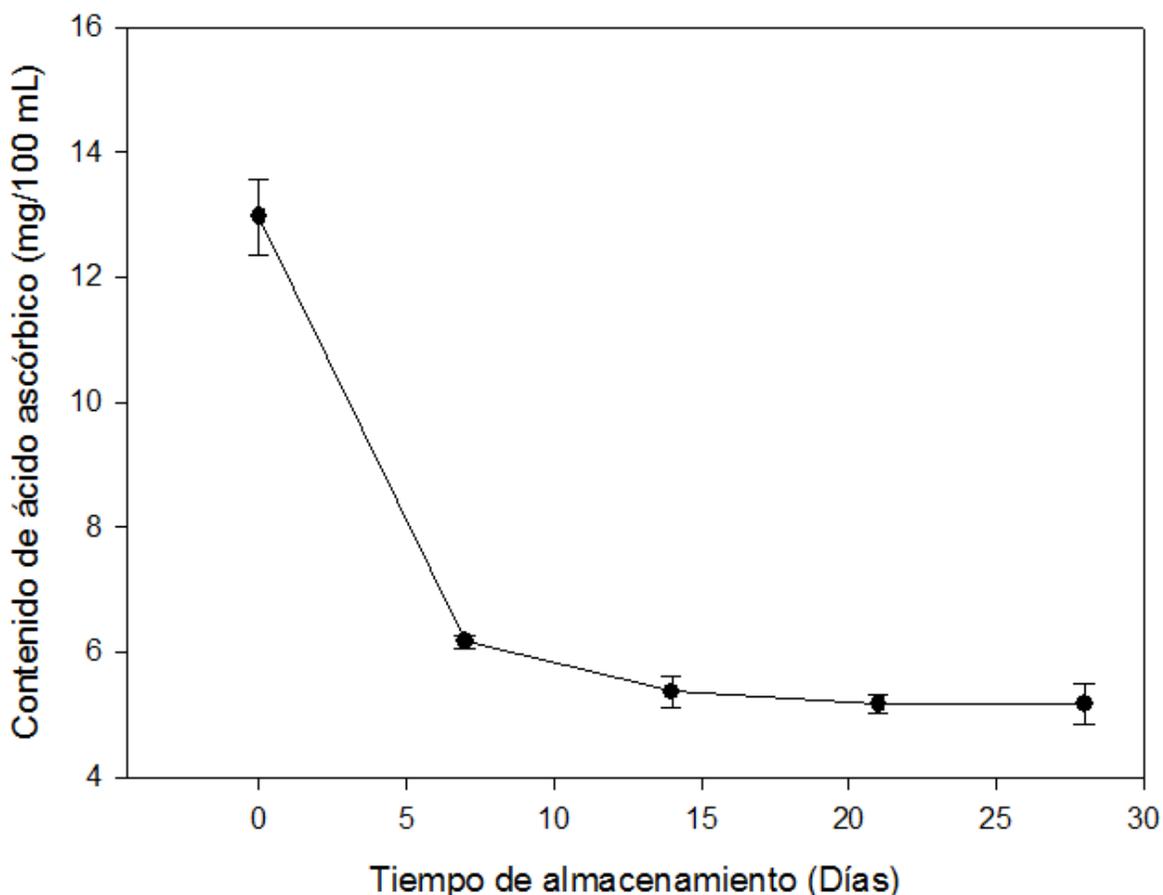
Sánchez *et al.* (2006) establecieron que después del tratamiento térmico el ácido ascórbico de puré de tomate tratado a 90°C durante 1 min en un intercambiador de calor disminuyó sólo en un 34%. Además, en dicha investigación al emplear esta pasteurización, el ácido ascórbico presentó una mayor degradación (en aproximadamente un 18%) que al ser tratado por altas presiones durante los primeros 14 días de almacenamiento probablemente, debido a la presencia de oxígeno residual en el jugo.

Con base en estos resultados, se puede inferir que a pesar de que en esta investigación se empleó un tratamiento térmico similar, las condiciones de proceso de la bebida expusieron al producto al calor durante un mayor tiempo y por tanto se presentó una degradación más alta del ácido ascórbico que en el puré de tomate.

De acuerdo al cuadro 34, el contenido de ácido ascórbico de la bebida después de la pasteurización está dentro del rango de concentración de vitamina C (9,32 a 53,9 mg/100 mL) reportado en bebidas comerciales a base de leche y zumos de frutas en la investigación realizada por Zulueta *et al.* (2007), sin embargo, a partir de la primera semana disminuyó significativamente y los valores de ácido ascórbico se ubican por debajo de dicho intervalo. Además, según los resultados obtenidos en dicho estudio, se estableció que el limón y la naranja son las frutas que proporcionan las mayores concentraciones de vitamina C, lo que resulta en una mayor capacidad antioxidante. Esto se atribuye debido a que la presencia de estas dos frutas causan un descenso en el pH de las bebidas, lo cual contribuye a estabilizar al ácido ascórbico, así, las muestras con valores de pH mayores a 3,59

tuvieron una concentración promedio de vitamina C de  $30,3 \pm 3,45$  mg/100 mL, mientras que las que presentaron un pH menor a ese valor tuvieron un promedio de  $42,1 \pm 4,23$  mg/100 mL.

**Gráfica 18. Variación del contenido de ácido ascórbico en la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Así mismo, en la gráfica 18 se observa una disminución del contenido de ácido ascórbico durante el tiempo de almacenamiento. Similares resultados fueron reportados por Laorko *et al.* (2013) quienes encontraron que el contenido de vitamina C disminuyó considerablemente ( $p < 0,05$ ) durante el primer mes del almacenamiento, presumiblemente, debido a la degradación completa del ácido L-ascórbico, mientras que el ácido dehidroascórbico se mantiene en el jugo. Choi *et al.* (2002) encontraron resultados similares cuando estudiaron la retención de ácido ascórbico en jugo de naranja pasteurizado ( $90^{\circ}\text{C}$ , 90 s) durante almacenamiento refrigerado. Se encontró que más del 50% del ácido L-ascórbico se perdió durante las 3 primeras semanas de almacenamiento, y se degradó completamente después de 5 semanas de almacenamiento.

La disminución en el contenido de vitamina C durante el almacenamiento refrigerado también se observó en estudios realizados por Zulueta *et al.* (2010) en una bebida de leche UHT descremada con jugo de naranja, obteniendo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las concentraciones de ácido ascórbico en función del tiempo de almacenamiento; también en la investigación realizada por Klimczak *et al.*, (2007) en jugo de naranja comercial y en el estudio de Piljac-Zegarac *et al.*, (2009), sobre jugos de frutas oscuras, encontrando que el contenido de vitamina C en zumo de arándano se redujo a cero después de 7 días de almacenamiento, y se redujo a 50% del valor inicial dentro de las primeras 74 h. En los zumos de granada y arándano la vitamina C se redujo a cero después de 9 días de almacenamiento refrigerado, mientras que mostró una disminución gradual pero constante en cereza y fresa, obteniendo al día 28 una reducción de vitamina C de 35% y 58% de los valores iniciales, respectivamente.

Morales de la Peña *et al.* (2010) también reportan que el contenido de vitamina C de las bebidas de leche y jugo disminuyó gradualmente durante el almacenamiento, independientemente del tratamiento aplicado. Sin embargo, las muestras que fueron tratadas térmicamente mostraron el más bajo porcentaje de retención de vitamina C (6,7%) que las tratadas por pulsos eléctricos debido a las temperaturas de tratamiento más bajas logradas en este último.

Cao *et al.* (2012), reportaron que el ácido ascórbico en jugo de fresa tratado con pulsos eléctricos disminuyó gradualmente con el aumento del tiempo de almacenamiento a 4°C.

La disminución del ácido ascórbico en esta investigación y en los demás estudios anteriormente citados se puede atribuir a varios factores.

En general, las vitaminas responden de manera diferente a los tratamientos térmicos, es así como las vitaminas hidrosolubles son más sensibles que las liposolubles (Rivas, *et al.*, 2007; Klimezak, *et al.*, 2007). Entre todos los compuestos analizados, la vitamina C fue la más afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Rawson, *et al.*, 2011). Como se sabe, el ácido ascórbico es un nutriente termolábil pero se conoce que condiciones de pH bajos lo estabilizan (Morales de la Peña, *et al.*, 2010). Es así como en la investigación realizada por Bi *et al.* (2013) las diferencias en la retención de vitamina C entre zumos de manzana y sandía tratados con pulsos eléctricos se atribuyen al pH, puesto que en condiciones más ácidas la vitamina C es más estable.

Además, según estudios anteriores, el mecanismo de degradación del ácido ascórbico es específico para cada sistema en particular. Así, su pérdida en diferentes zumos puede explicarse por el desarrollo de reacciones consecutivas de primer orden, es decir, el ácido ascórbico se degrada aeróbicamente y anaeróbicamente durante el almacenamiento. La velocidad de deterioro depende del método de procesamiento empleado y las condiciones de almacenamiento, teniendo en cuenta factores como la temperatura, el oxígeno y la luz (Zerdin *et al.*,

2003). De esta manera en la fase inicial de almacenamiento, el oxígeno residual en los jugos induce la degradación aeróbica del ácido ascórbico y sucede una reacción rápida dependiente del oxígeno que continúa hasta que este se agota y se produce la degradación anaeróbica. La vía de oxidación aeróbica puede seguir una vía catalizada o no catalizada. Ambas vías tienen productos intermedios comunes que no se pueden distinguir por el análisis químico y producen ácido dehidroascórbico (DHAA), que por una mayor degradación forma el ácido 2,3-dicetogulónico (DKGA). En la vía anaeróbica el ácido ascórbico se somete a cetonización para formar el intermedio ceto-tautómero (ácido ceto-ascórbico) que está en equilibrio con su anión (ceto-monoanión del ácido ascórbico) que siguiendo la delactonización forma DKGA (Rawson *et al.*, 2011).

Por otra parte, cabe resaltar que la retención de vitamina C se ha utilizado como un indicador de la calidad de los zumos de frutas (Klimczak, *et al.*, 2007), y también como un marcador de su vida útil. Según Shaw (1992), los zumos de fruta llegan al final de su vida útil en el momento en que la concentración de vitamina C llega al 50% del contenido inicial. El 50% de la concentración inicial de ácido ascórbico de la bebida se alcanzó a los 7 días de almacenamiento. En la investigación realizada por Morales de la Peña *et al.* (2010) la concentración de vitamina C en las bebidas se redujo alrededor del 50% después de 17 días de almacenamiento a 4°C, respectivamente. En la investigación de Zulueta *et al.* (2010) la vida útil de las bebidas almacenadas a 4°C fue de 52 días. Para los jugos de naranja y zanahoria pasteurizados almacenados a 2 y 10°C, fue de 11 y 5 días, respectivamente (Torregrosa, *et al.* 2006) y Yeom *et al.* (2000) establece un tiempo de vida útil de 31 días para jugo de naranja pasteurizado a 94,6°C-30 s.

#### 5.4.3.1 Análisis estadístico

**Cuadro 35. Resumen estadístico del contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	18	9,1	0,30804	3,3850%	0,98

Fuente: esta investigación

**Cuadro 36. Análisis de varianza para el contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	518,107	5	103,621	121,99	<b>0,0000</b>
Intra grupos	10,1933	12	0,849444		
Total (Corr.)	528,3	17			

Fuente: esta investigación

Según el cuadro 36, el valor-P es menor que 0,05, por tanto existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del contenido de ácido ascórbico de las semanas de almacenamiento, con un nivel del 95,0% de confianza. Además, se han identificado 3 grupos homogéneos (ver cuadro 37 y gráfica 19), en los cuales existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del contenido de ácido ascórbico del control y el día cero de almacenamiento y los días 7, 14, 21 y 28, mientras que en estos últimos cuatro tratamientos no hay diferencias significativas.

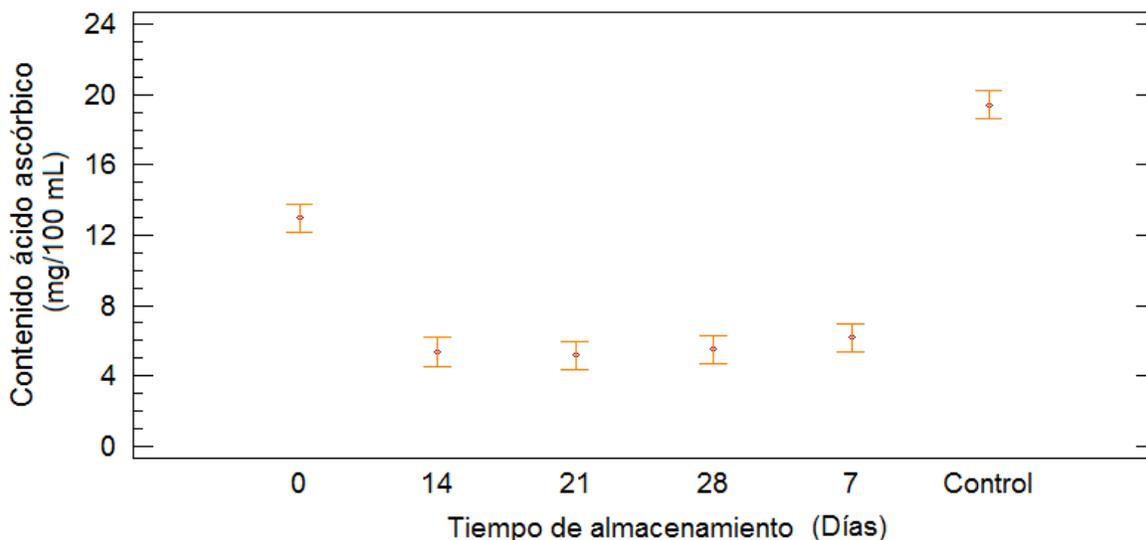
**Cuadro 37. Prueba LSD Fisher para el contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
21	3	5,16667	X
14	3	5,36667	X
28	3	5,5	X
7	3	6,16667	X
0	3	12,9667	X
Control	3	19,4333	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 19. Gráfica de medias del contenido de ácido ascórbico de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

**5.4.3.2 Determinación del contenido de carotenoides.** El cuadro 38 presenta los resultados del contenido de  $\beta$ -caroteno evaluado en la bebida a lo largo del tiempo de almacenamiento, los cuales corresponden a un promedio derivado del análisis por triplicado ( $n=3$ ) realizado en el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad de Nariño (ver anexo 17).

**Cuadro 38. Contenido de  $\beta$ -caroteno en la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento (Días)	Contenido de $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$ )
Control	278,00 $\pm$ 7,55
0	243,00 $\pm$ 5,66
7	214,15 $\pm$ 4,60
14	164,00 $\pm$ 12,73
21	160,50 $\pm$ 14,85
28	146,50 $\pm$ 2,12

Nota: Los valores son la media de tres réplicas  $\pm$ DE.

Fuente: esta investigación

El cuadro 39 presenta la identificación de otros carotenos como  $\beta$ -criptoxantina, 9-cis- $\beta$ -caroteno, 13-cis- $\beta$ -caroteno y licopeno en las muestras de la bebida de tomate de árbol a lo largo del tiempo de almacenamiento. Además, según la cantidad relativa de cada uno de estos, se establece que el  $\beta$ -Caroteno es el que

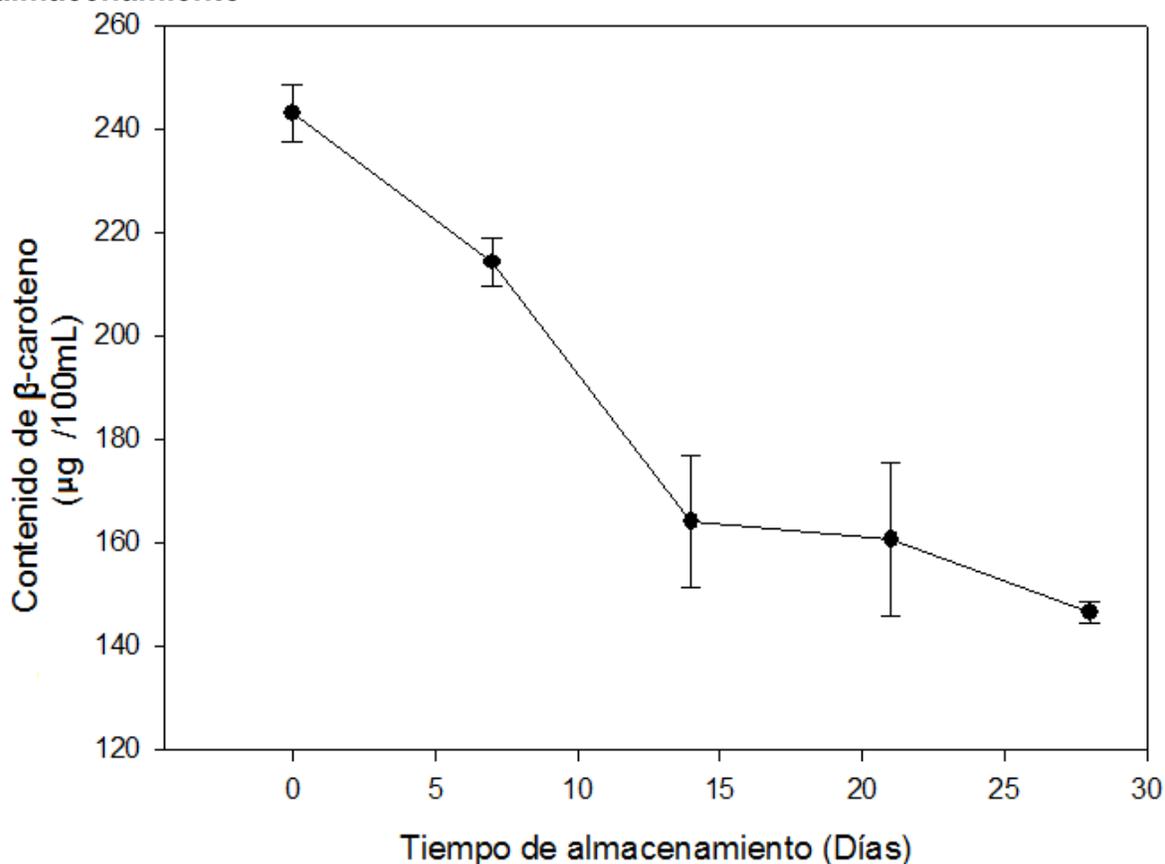
se encuentra en mayor proporción en comparación a los demás carotenoides identificados, seguido por la  $\beta$ -criptoxantina, 13-cis- $\beta$ -caroteno y 9-cis- $\beta$ -caroteno. El licopeno solo pudo ser identificado en tres muestras, a partir del día 21 de almacenamiento.

**Cuadro 39. Identificación de carotenos en las muestras de la bebida durante el almacenamiento por HPLC-PDA scan (210-500nm)**

Tiempo de almacenamiento (Días)	0			7			14			21			28		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
$\beta$ -criptoxantina (%)	10,6	15,85	26,4	14,1	17,5	16,6	21,1	19,0	20,75	27,2	21,5	25,5	20,1	16,3	19,7
$\beta$ -caroteno (%)	89,4	84,15	64,2	78,4	76,5	76,4	68,95	69,6	68,8	59,1	65,1	63,6	70,3	55,2	71,0
9-cis- $\beta$ -caroteno (%)	1,8	3,4	4,0	2,0	1,8	3,1	3,2	3,6	3,4	2,8	1,1	3,9	3,2	2,5	3,8
13-cis- $\beta$ -caroteno (%)	2,0	3,0	5,4	5,3	4,0	3,9	6,5	7,6	6,7	9,3	6,4	7,0	6,4	6,2	5,6
Licopeno (%)										1,5	5,5			19,6	

Fuente: esta investigación

**Gráfica 20. Variación del contenido de  $\beta$ -caroteno en la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Como se observa en la gráfica 20, el contenido de  $\beta$ -caroteno en las muestras de bebida disminuyó con el tiempo de almacenamiento. La muestra control presentó  $278,00 \pm 7,55 \mu\text{g}/100\text{mL}$  de  $\beta$ -caroteno, cantidad que decreció significativamente con el tratamiento térmico. El rango de  $\beta$ -caroteno obtenido desde el día 0 al día 28 de almacenamiento bajo refrigeración fue de  $243,00 \pm 5,66$  a  $146,50 \pm 2,12 \mu\text{g}/100\text{mL}$ . El contenido de  $\beta$ -caroteno obtenido hasta la segunda semana de almacenamiento fue superior a los rangos reportados por Zulueta *et al.* (2007), en cuya investigación estudiaron la concentración de varios carotenoides con actividad provitamina A entre los cuales se encuentran:  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y retinol en 17 muestras de bebida de leche y jugos de frutas.

Para el caso del  $\beta$ -caroteno, se establece un rango de  $0,50 \pm 0,03$  a  $160 \pm 3,89 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$  (encontradas en las bebidas de leche con jugo de manzana y leche descremada con jugo de mango y piña, respectivamente). Además se estableció que la capacidad antioxidante de los carotenoides fue mayor para  $\beta$ -criptoxantina, seguido de  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -caroteno, según sus capacidades relativas para secuestrar los radicales libres, las cuales están influenciadas por la presencia de

grupos funcionales que incrementan la polaridad, como grupos carbonilo y hidroxilo en los anillos terminales y por el número de dobles enlaces conjugados. Mertz *et al.* (2010) encontraron que los principales carotenoides del tomate de árbol procedente de Ecuador son ésteres de trans- $\beta$ -criptoxantina y trans- $\beta$ -caroteno mientras que en el estudio de Rodríguez *et al.* (1983), se identificaron a  $\beta$ -criptoxantina y  $\beta$ -caroteno como los carotenoides más importantes en la cáscara y la pulpa de tomate de árbol brasileño, los cuales, son resultados que respaldan la identificación y la cantidad relativa obtenida de los carotenoides encontrados en esta investigación.

Morales de la Peña *et al.* (2011) reportan similares resultados a los obtenidos en esta investigación, observando que el contenido total de carotenoides de las bebidas de leche de soja y jugos de frutas sin tratar y tratadas térmicamente y con pulsos eléctricos tendió a disminuir a medida que se incrementó el tiempo de almacenamiento.

Hsu *et al.* (2008) también reportan que durante los primeros 14 días de almacenamiento a 4°C, los carotenoides totales y el licopeno del zumo de tomate procesado térmicamente con el tratamiento convencional (98°C-15 min) se degradó rápidamente en 16% y 12% en comparación con el control, y no hubo una pérdida significativa durante el almacenamiento entre los días 14 a 28. También, Cortes *et al.* (2006) y Odriozola *et al.* (2009) informaron que la concentración total de carotenoides en zumos de tomate y naranja tratados con pulsos eléctricos y térmicamente disminuyó durante el tiempo de almacenamiento refrigerado, independientemente del tratamiento aplicado. Sánchez *et al.* (2003) y Cortés *et al.* (2006), observaron que la luteína, zeaxantina y  $\beta$ -caroteno mostraron las mayores pérdidas entre todos los carotenoides durante el almacenamiento en melón y jugo de naranja.

Además, se han reportado varias investigaciones que establecen el efecto de la pasteurización sobre los zumos de mora, piña y manzana, estableciendo que este tratamiento conduce a una disminución en los niveles de carotenoides (Aramwit, *et al.*, 2010; Rattanathanalerk, *et al.*, 2009; Zepka y Mercadante, 2009).

Es así como al estudiar los cambios en el contenido de carotenoides después de la pasteurización térmica de néctares de tomate de árbol desgasificados y sin desgasificar a tres temperaturas (80, 90 y 95°C-10 min), se encontró que el aumento de las temperaturas condujo a pérdidas significativamente más altas en algunos carotenoides, dependiendo de su estructura química, tales como zeaxantina y  $\beta$ -caroteno. Además, los carotenoides con provitamina A tuvieron una estabilidad térmica más alta que otros, estableciendo que la labilidad térmica parece estar influenciada por las condiciones experimentales y la naturaleza de la matriz del alimento. Además, se concluyó que la degradación de los carotenoides se debió principalmente al tratamiento térmico, el cual dependiendo de su

gravedad y duración indujo la 5,8-epoxidación y *cis*-isomerización (Mertz *et al.*, 2010).

Según lo anterior, la descomposición térmica parece ser una de las causas más probables de la pérdida de los carotenoides y depende de la estructura química de las moléculas, destacando que una estructura insaturada es más propensa a la degradación. Por ejemplo, el licopeno en el tomate es resistente a la degradación, mientras que otros antioxidantes como el ácido ascórbico, tocoferol y  $\beta$ -caroteno disminuyen en función del procesamiento térmico (Abushita, *et al.*, 2000). Además el oxígeno disuelto en los alimentos líquidos también puede aumentar la tasa de degradación de estos compuestos bioactivos y por lo tanto la desgasificación antes de la pasteurización puede ayudar a una retención más alta (Rawson, *et al.*, 2011).

En consecuencia, la exposición al calor o al oxígeno puede inducir a la isomerización y la oxidación de los carotenoides en los jugos y los compuestos de oxidación de los carotenoides tienen efectos perjudiciales *in vivo*, a través de la inducción del estrés oxidativo y los efectos citotóxicos y genotóxicos.

Así mismo, autores como Hsu *et al.* (2008) establecen que la degradación de los carotenoides es debida principalmente a la oxidación, la cual es una reacción espontánea en cadena de radicales libres en presencia de oxígeno y se estimula por la luz, el calor, metales, enzimas, y peróxidos, y se inhibe por los antioxidantes, tales como tocoferoles y ácido ascórbico. En su investigación, la degradación de los carotenoides totales y el licopeno después del tratamiento térmico convencional del jugo de tomate y el almacenamiento a baja temperatura y en oscuridad es debido a la presencia de oxígeno residual en el jugo.

Cabe resaltar que la estabilidad de los compuestos carotenoides durante la vida útil comercial afecta la calidad del producto. Las reacciones de isomerización y oxidación de los carotenoides que se producen durante el almacenamiento, resulta en una pérdida de color, que es uno de los atributos más importantes relacionados con la calidad que afecta la elección de compra de productos (Morales de la Peña, *et al.*, 2010).

#### 5.4.3.3 Análisis estadístico

**Cuadro 40. Resumen estadístico del contenido de  $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	12	200,942	50,5335	25,1483%	0,98

Fuente: esta investigación

**Cuadro 41. Análisis de varianza para el contenido de  $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	27537,3	5	5507,46	59,80	<b>0,0000</b>
Intra grupos	552,625	6	92,1042		
Total (Corr.)	28089,9	11			

Fuente: esta investigación

El cuadro 41 muestra que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, por tanto existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias del contenido de  $\beta$ -caroteno de los tratamientos con un nivel del 95,0% de confianza. Además, según la prueba de múltiples rangos, LSD de Fisher (ver cuadro 42) y como se observa en la gráfica 21, se han identificado 4 grupos homogéneos, en los cuales las medias del contenido de  $\beta$ -caroteno del control, el día 0 y 7 de almacenamiento presentan diferencias estadísticamente significativas entre estos mismos y con respecto a los días 14, 21 y 28. Por el contrario, las medias del contenido  $\beta$ -caroteno de estos últimos tres tratamientos no exhiben diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

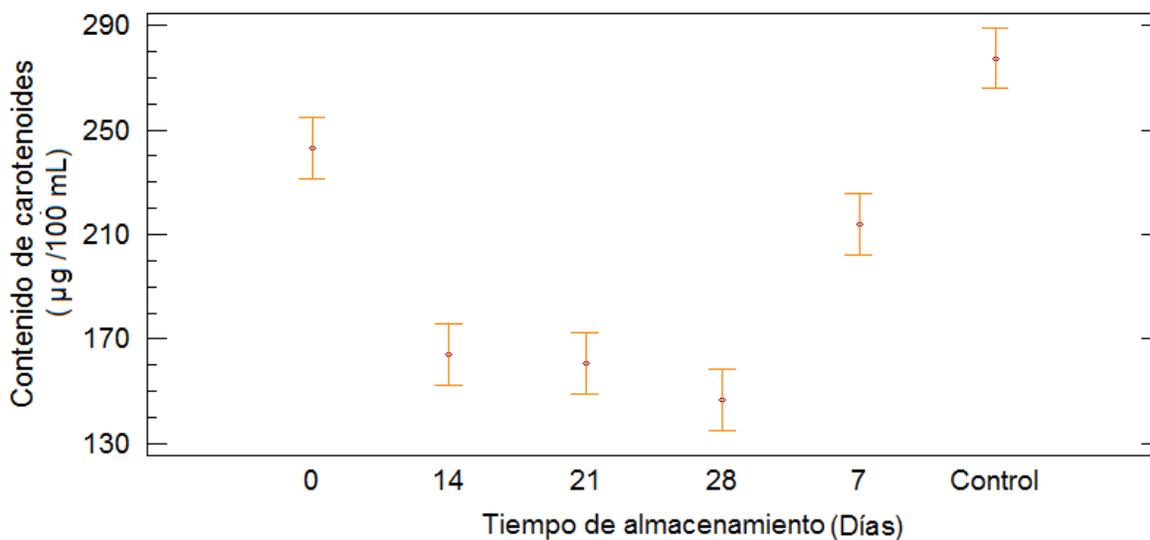
**Cuadro 42. Prueba LSD Fisher de varianza para el contenido de  $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento**

<b>Nivel</b>	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos Homogéneos</b>
28	2	146,5	X
21	2	160,5	X
14	2	164,0	X
7	2	214,15	X
0	2	243,0	X
Control	2	277,5	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

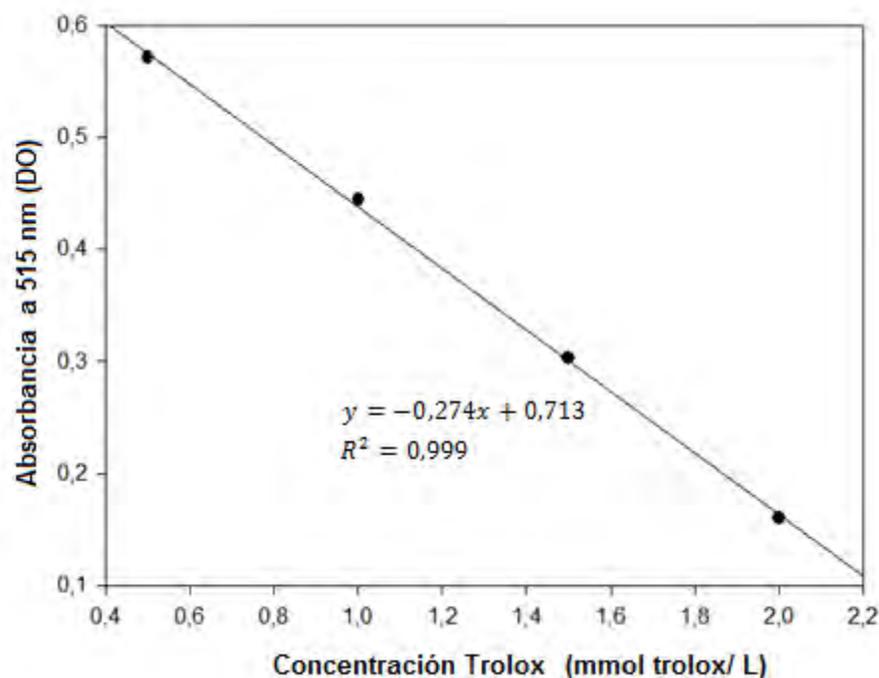
**Gráfica 21. Gráfica de medias del contenido para el contenido de  $\beta$ -caroteno de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

**5.4.4 Evaluación de la capacidad antioxidante de la bebida.** La gráfica 22 presenta la curva de calibración empleada para obtener la capacidad antioxidante de la bebida durante el tiempo de almacenamiento. Debido a que el coeficiente de correlación de la ecuación al aplicar la regresión lineal es muy cercano a 1 los resultados obtenidos permitieron realizar un análisis confiable.

**Gráfica 22. Curva de calibración para evaluar la actividad antioxidante en la bebida**



Fuente: esta investigación

**Cuadro 43. Capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo (Día)	Promedio absorbancia (DO a 515 nm)	Capacidad antioxidante total (mmol Trolox/L)
0	0,398±0,011	3,450±0,142
7	0,441±0,016	2,976±0,183
14	0,461±0,005	2,760±0,061
21	0,467±0,003	2,694±0,028
28	0,470±0,005	2,658±0,048

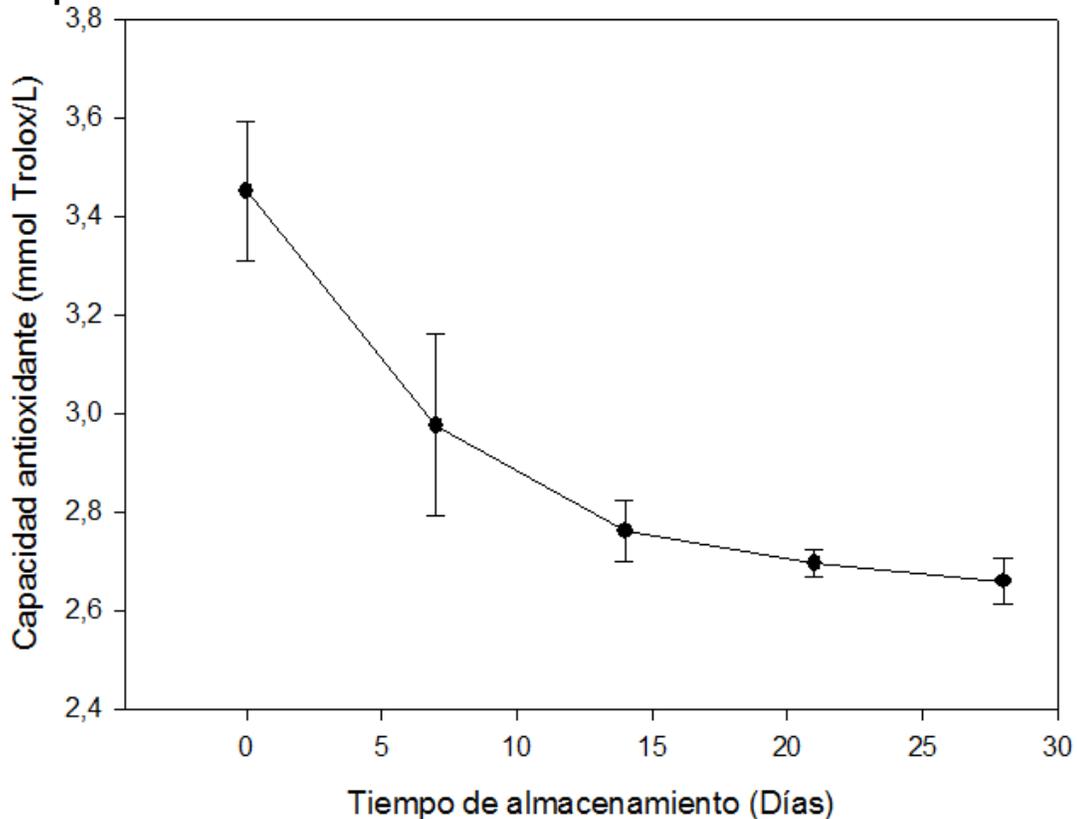
Nota: Los valores son la media de tres réplicas ±DE.

Fuente: esta investigación

El cuadro 43 muestra la capacidad antioxidante total de la bebida durante el almacenamiento a 4°C, la cual disminuyó gradualmente y de forma significativa a medida que se incrementó el tiempo (ver gráfica 23). Después de un mes de almacenamiento, la pérdida de la capacidad antioxidante fue del 30%. Similares resultados se portaron por Morales de la Peña *et al.* (2010), quienes además encontraron que fue significativamente menor en las bebidas tratadas térmicamente y por Barba *et al.* (2012), reportando la reducción de la capacidad

antioxidante del jugo de arándano al final del período de almacenamiento (después de 56 días), que varió de 69% (sin procesar) a 52% (tratado con pulsos eléctricos) y 79% (con altas presiones).

**Gráfica 23. Variación de la capacidad antioxidante total de la bebida durante el tiempo de almacenamiento**



Fuente: esta investigación

También, en el trabajo realizado por Piljac-Žegarac *et al.* (2009) se obtuvo que al final del período de almacenamiento (29 días), los jugos sin tratamiento previo mostraron una disminución significativa de su capacidad antioxidante que varió de 15% (jugo de arándano) a 62% (jugo de cereza) y Kevers *et al.*, (2007) reportaron que la actividad antioxidante de la espinaca y el brócoli también disminuyó en más de un 50% después de 30 días de almacenamiento refrigerado.

Por otro lado, la capacidad antioxidante de la bebida estuvo entre un rango de  $2,658 \pm 0,048$  a  $3,450 \pm 0,142$  mmol trolox/L, valores que corresponden a los niveles 28 y 0 de almacenamiento, respectivamente. Estos valores se ubican dentro del intervalo reportado por Zulueta *et al.* (2007) de 3,60 a 0,61 mmol trolox/L, en donde la máxima capacidad antioxidante la tuvo la mezcla de jugo de Naranja, manzana, piña y limón con leche descremada. Los autores establecen que el

porcentaje de jugo empleado en cada bebida analizada por dicho estudio no interactúa significativamente con la capacidad antioxidante. En consecuencia, aseguran que las diferencias entre los parámetros se deben a la composición del jugo (tipos de fruta) y las condiciones de almacenamiento y procesamiento, estableciendo que los tratamientos térmicos enérgicos son la principal causa de la reducción de los antioxidantes naturales.

Sin embargo, cabe resaltar que aunque las temperaturas de pasteurización más bajas reducen el abuso térmico del producto, resultando así una mayor retención de componentes de color, sabor y disminuyendo la producción de compuestos indeseables, estas temperaturas no inactivan por completo las enzimas (PME, PG, POD) y permiten que dichos sistemas generen alteraciones en las propiedades fisicoquímicas y organolépticas del producto. Por tanto para garantizar inocuidad y extender la vida útil se requiere de la pasteurización convencional o la esterilización, aunque se genera una pérdida de calidad en términos de sus propiedades sensoriales y nutritivas (Hsu *et al.* 2008).

En general, la capacidad antioxidante de los zumos de frutas se relaciona con la composición y la concentración de compuestos bioactivos tales como vitaminas, fenoles, carotenoides o flavonoides (Min *et al.*, 2003; Sánchez-Moreno *et al.*, 2005). Se reporta que la vitamina C y los fenoles son los principales componentes antioxidantes en zumos de frutas y hortalizas (Takeoka *et al.*, 2001). Es así como en la bebida de leche UHT descremada y tomate de árbol la capacidad antioxidante se relacionó con el contenido de fenoles totales, ácido ascórbico y carotenoides, resultando que una disminución en estos últimos generó un consecuente decrecimiento de la capacidad antioxidante. En la investigación realizada por Morales de la Peña *et al.* (2010), se observó que había una correlación significativa entre la capacidad antioxidante de las bebidas de jugo de frutas con leche y la vitamina C. Este resultado parece indicar que los cambios en la capacidad antioxidante durante el tiempo están asociados principalmente a las variaciones de contenido de vitamina C. Además, Odriozola-Serrano *et al.* (2008) observaron que los niveles de vitamina C están altamente correlacionados con los valores de la capacidad antioxidante en el zumo de fresa tratado con pulsos eléctricos y Zulueta *et al.* (2007) reportan que la vitamina C es el principal compuesto bioactivo responsable de la capacidad antioxidante en bebidas de zumos de frutas con leche.

Así mismo, al evaluar zumos de diferentes frutas Gardner *et al.* (2000) encontró que la vitamina C contribuye entre 65-100% del potencial antioxidante de bebidas derivadas de cítricos (100% de la actividad antioxidante del jugo de naranja), pero menos del 5% en el zumo de manzana y piña. En general, la actividad antioxidante fue mayor en aquellos zumos que tuvieron las concentraciones más altas de vitamina C, lo cual permite afirmar que el ácido ascórbico es el principal antioxidante en el jugo de naranja, pero no es un importante contribuyente a la capacidad antioxidante en el zumo de manzana. Además, la contribución de los

carotenoides al potencial antioxidante fue insignificante. Mientras que los compuestos fenólicos parecen ser unos de los principales contribuyentes al potencial antioxidante de los zumos no cítricos, por tanto la capacidad de los jugos de estas frutas para reducir los radicales DPPH estaba estrechamente relacionada con su contenido total de fenoles y refleja la capacidad de muchos de estos compuestos para donar átomos de hidrógeno de los grupos hidroxilo en sus estructuras de anillo (Gardner, *et al.*, 2000).

Así mismo, Barba *et al.* (2012) relacionaron la actividad antioxidante con los polifenoles totales, antocianinas y el ácido ascórbico, observando una correlación estadísticamente significativa entre el ácido ascórbico y los fenoles con la actividad antioxidante en jugo de arándano tratado con pulsos eléctricos.

Sin embargo, no está claro que los compuestos fenólicos son los principales contribuyentes a la actividad antioxidante de la manzana, piña y jugos de vegetales, ya que su identidad y su biodisponibilidad requiere mayor investigación.

Es así como la importancia nutricional de tales compuestos fenólicos es incierta, ya que pueden ser mal absorbidos y metabolizados rápidamente y por lo tanto tienen una capacidad antioxidante limitada *in vivo*. En contraste, la vitamina C es altamente biodisponible y es por consiguiente uno de los antioxidantes hidrosolubles más importante en las células, y realiza un eficiente barrido de especies reactivas del oxígeno, como O<sub>2</sub>, OH, radicales peroxilo y el singlete de oxígeno (Halliwell, 1996). Además, debido a la captura eficiente de radicales peroxilo en la fase acuosa del citosol, protege las biomembranas y lipoproteínas de baja densidad del daño peroxidativo (Sies *et al.*, 1992). Por consiguiente, al relacionar la actividad antioxidante de los zumos de frutas frente al riesgo de sufrir enfermedades y mantener la salud (Williams, 1995), es importante tener en cuenta la contribución de la vitamina C y la de los compuestos fenólicos.

#### 5.4.4.1 Análisis estadístico

**Cuadro 44. Resumen estadístico de la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	15	2,9082	0,3161	10,8687%	0,91

Fuente: esta investigación

**Cuadro 45. Análisis de varianza para la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,27802	4	0,319505	26,47	<b>0,0000</b>
Intra grupos	0,120701	10	0,0120701		
Total (Corr.)	1,39872	14			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05 (ver cuadro 45), existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la capacidad antioxidante de la bebida entre los días de almacenamiento estudiados, con un nivel del 95,0% de confianza. Además, se han identificado 3 grupos homogéneos (ver cuadro 46 y gráfica 24), de los cuales, las medias de la capacidad antioxidante de los días 0 y 7 son significativamente diferentes y a su vez, las de éstos dos días también presentan diferencias estadísticamente significativas con los días 14, 21 y 28 de almacenamiento.

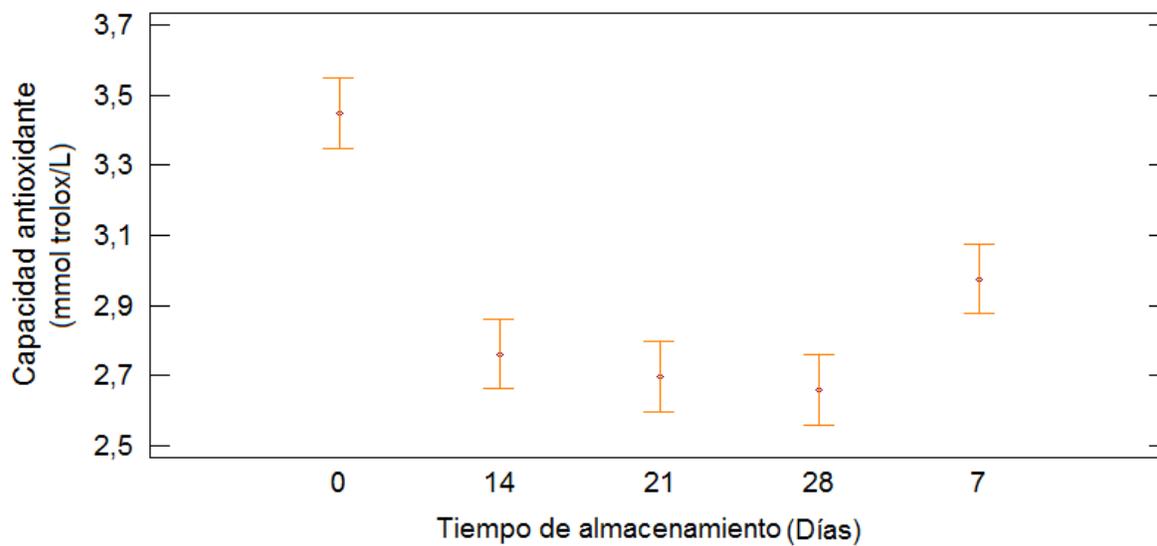
**Cuadro 46. Prueba LSD Fisher para la capacidad antioxidante de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	2,65933	X
21	3	2,69567	X
14	3	2,76133	X
7	3	2,97533	X
0	3	3,44933	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 24. Gráfica de medias de la capacidad antioxidante de la bebida durante el tiempo de almacenamiento**



Fuente: esta investigación

## 5.5. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO

### 5.5.1. Análisis de las características fisicoquímicas durante el almacenamiento

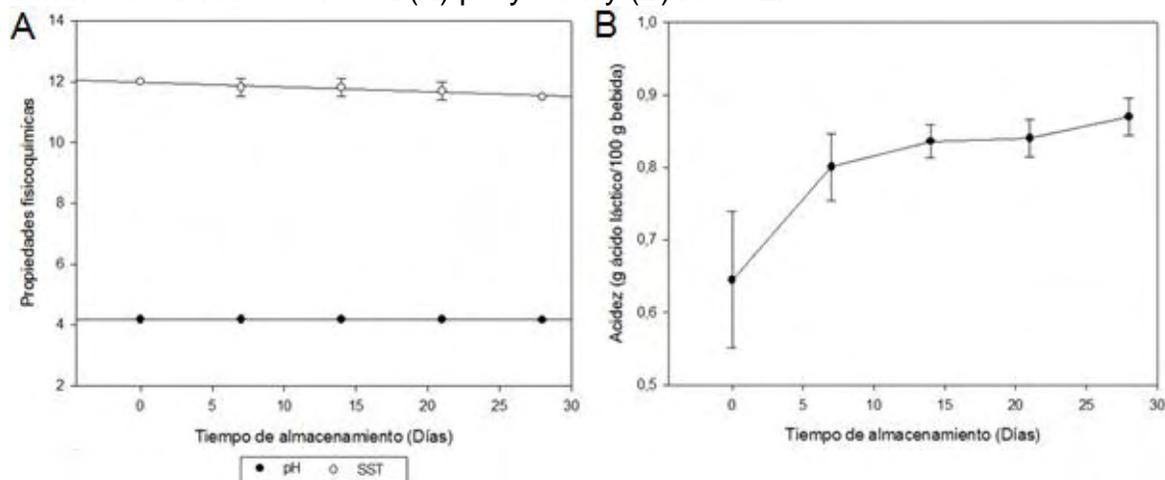
**Cuadro 47. Características fisicoquímicas de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo (Día)	pH	SST (°Brix)	Acidez (g Acido láctico/ 100 mL)
0	4,19±0,02	12,0±0,0	0,645±0,094
7	4,19±0,01	11,8±0,3	0,801±0,046
14	4,18±0,01	11,8±0,3	0,836±0,023
21	4,18±0,01	11,7±0,3	0,840±0,026
28	4,17±0,02	11,5±0,0	0,870±0,026

Nota: Los valores son la media de tres réplicas±DE.

Fuente: esta investigación

Gráfica 25. Comportamiento de las características fisicoquímicas de la bebida durante el almacenamiento: (A) pH y SST y (B) Acidez.



Fuente: esta investigación

### 5.5.1.1 Análisis estadístico del pH de la bebida durante el almacenamiento

**Cuadro 48. Resumen estadístico del pH de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	15	4,182	0,0132017	0,31568%	0,45

Fuente: esta investigación

**Cuadro 49. Análisis de varianza para el pH de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00110667	4	0,000276667	2,08	<b>0,1592</b>
Intra grupos	0,00133333	10	0,000133333		
Total (Corr.)	0,00244	14			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

Tal como lo muestra el cuadro 49, dado que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0,05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de pH a lo largo del tiempo de almacenamiento con un nivel del 95,0% de confianza. Además, según la prueba LSD de Fisher (ver cuadro 50 y gráfica 26) existen 2 grupos homogéneos, en los cuales se puede observar una diferencia significativa entre las medias del pH de los días 0 y 28 de almacenamiento.

**Cuadro 50. Prueba LSD Fisher para el pH de la bebida durante el almacenamiento**

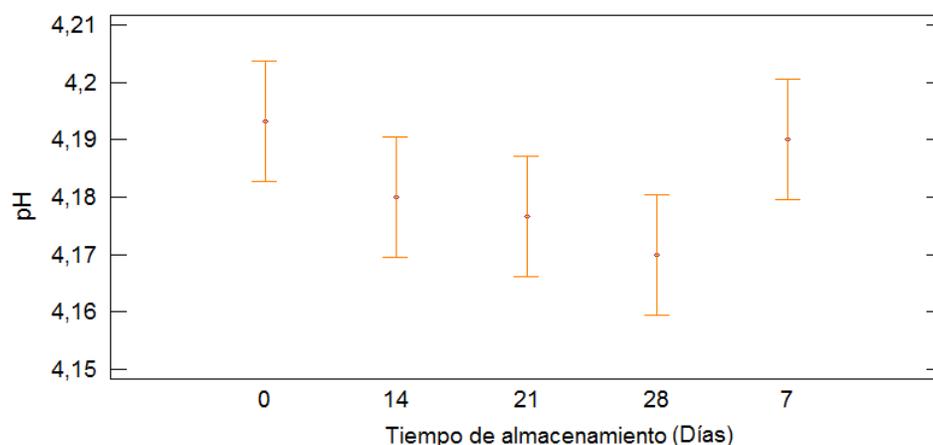
Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	4,17	X
21	3	4,17667	XX
14	3	4,18	XX
7	3	4,19	XX
0	3	4,19333	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

Los valores de pH (ver cuadro 47) de los jugos analizados se encuentran dentro del rango normal (3,1 - 4) para néctares. Como era de esperar, el pH disminuye a medida que pasa el tiempo y a medida que aumenta la acidez. Sin embargo, existe un efecto tampón debido a la presencia de cantidades limitadas en el tomate de árbol de citratos y malatos principalmente de potasio, por lo cual las variaciones en el pH con el almacenamiento son menos pronunciadas que las variaciones en la acidez. Durante las cuatro semanas de almacenamiento a 4°C, las variaciones en el pH no fueron estadísticamente significativas, el pH permaneció constante (ver gráfica 25). La misma conclusión se alcanzó en otras investigaciones reportadas por Esteve *et al.* (2005) y Kaanane *et al.* (1988), quienes estudiaron el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el pH de jugos de frutas y Salvia *et al.* (2011), cuyo trabajo de investigación se realizó con leche descremada y con jugo de naranja, kiwi, mango y piña.

**Gráfica 26. Gráfica de medias de la variación de pH de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

### 5.5.1.2. Análisis estadístico de la acidez de la bebida durante el almacenamiento

**Cuadro 51. Resumen estadístico de la acidez de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	15	0,7984	0,0929	11,6366%	0,79

Fuente: esta investigación

**Cuadro 52. Análisis de varianza de la acidez de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0953583	4	0,0238396	9,35	<b>0,0021</b>
Intra grupos	0,0254853	10	0,00254853		
Total (Corr.)	0,120844	14			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

Tal como lo muestra el cuadro 52, dado que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de Acidez de la bebida entre cada semana de almacenamiento, con un nivel del 95,0% de confianza. Se han identificado 2 grupos homogéneos (ver cuadro 53 y gráfica 27), observando que existe diferencia significativa entre las medias de los valores de acidez del día 0 y las otras 4 semanas de almacenamiento. Sin embargo, a partir del día 7 y hasta el final del almacenamiento las medias de los valores de acidez no experimentaron cambios significativos.

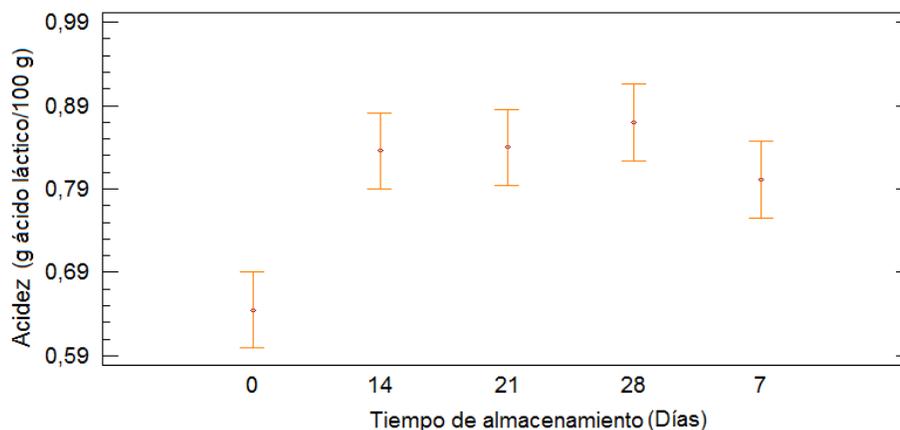
**Cuadro 53. Prueba LSD Fisher para la acidez de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,645	X
7	3	0,801333	X
14	3	0,835667	X
21	3	0,84	X
28	3	0,87	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 27. Gráfica de medias de la variación de la acidez de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

La acidez total en la bebida se encuentra determinada principalmente por dos ácidos orgánicos que contribuyen a su sabor y palatabilidad y se encuentran como resultado de los procesos bioquímicos que se llevan a cabo tanto en la fruta como en la leche. Los ácidos más abundantes en la bebida y que además se encuentran en su forma libre son el cítrico y el láctico, procedentes del tomate de árbol y la leche, respectivamente.

La acidez total en la bebida a lo largo del tiempo de almacenamiento fue significativamente diferente ( $p \leq 0,05$ ), pero en todos los casos estuvo dentro de los valores recomendados para néctares por la Resolución 7992/1991 del Ministerio de Salud, en donde debe ser como mínimo 0,2 g/100 g y por Redd *et al.* (1986) que van en un rango de 0,6 a 1,6 g/100 g. Con el almacenamiento a 4°C, se observó un aumento significativo de la acidez ( $p \leq 0,05$ ) en las muestras de bebida. Este aumento indica el inicio de deterioro o de la fermentación de la muestra por microorganismos (Esteve, *et al.*, 2005). Similares resultados se reportan en la investigación realizada por Zulueta *et al.* (2007) en varias bebidas fabricadas a partir de leche UHT descremada y jugos de diversas frutas.

Además, a partir del día 47 de almacenamiento a 4°C se evidenció la separación de fases (ver figura 19). Sin embargo, Salvia *et al.* (2011) reportó que a pesar de sus bajos valores de pH y la acidez alta, no se observó separación de fases en las bebidas tratadas a 90°C-1 min y no tratadas después de 56 días a 4°C.

**Figura 15. Muestra de Bebida en el día 47 de almacenamiento**



Fuente: esta investigación

### 5.5.1.3. Análisis estadístico de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento

**Cuadro 54. Resumen estadístico de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	15	11,7667	0,258199	2,19432%	0,46

Fuente: esta investigación

**Cuadro 55. Análisis de varianza para los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,433333	4	0,108333	2,17	<b>0,1466</b>
Intra grupos	0,5	10	0,05		
Total (Corr.)	0,933333	14			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

El cuadro 55 presenta el análisis de varianza para los SST de la bebida y muestra que el valor-P es mayor que 0,05, por tanto no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los SST a lo largo del tiempo de almacenamiento, con un nivel del 95,0% de confianza. Similares resultados fueron reportados por Morales de la Peña *et al.* (2010), estableciendo que SST no presentaron un descenso significativo en la bebida durante los 56 días de almacenamiento analizados.

Además, se han identificado 2 grupos homogéneos, dentro de los cuales existe una diferencia significativa entre las medias de este parámetro fisicoquímico del día 0 y el día 28 de almacenamiento (ver cuadro 56 y gráfica 28).

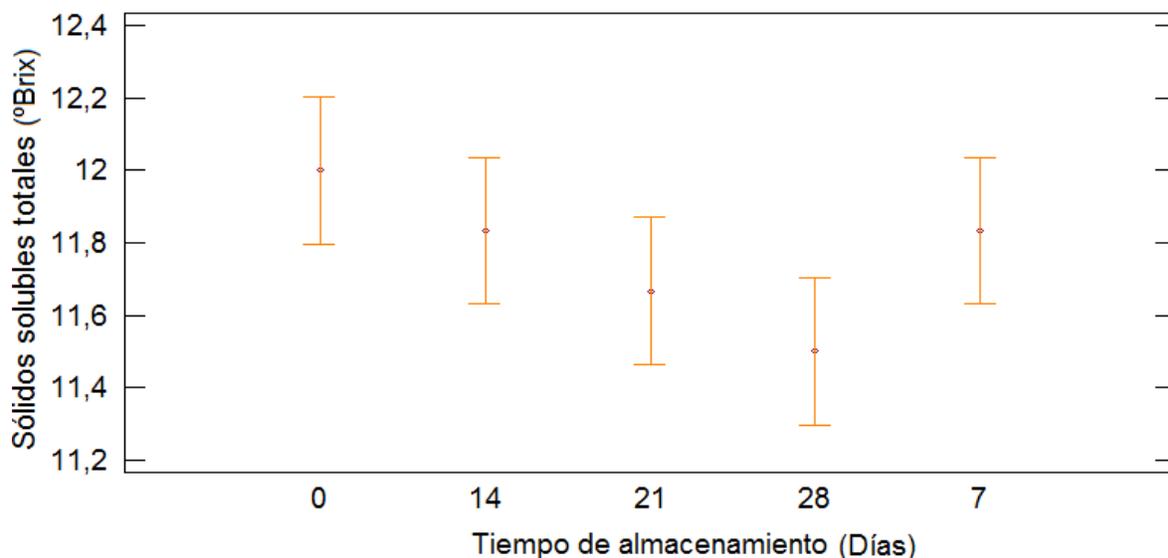
**Cuadro 56. Prueba LSD Fisher para los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	11,5	X
21	3	11,6667	XX
14	3	11,8333	XX
7	3	11,8333	XX
0	3	12	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 28. Gráfica de medias de la variación de los sólidos solubles totales de la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Después de la pasteurización los SST fueron 12°Brix, valor que es más bajo que el inicial, (14°Brix, que son los SST de la bebida con los cuales se realizaron los balances de materia) debido a la destrucción de compuestos solubles en las bebidas por efecto de la temperatura. Resultados similares se reportan en la investigación de Zulueta *et al.* (2007) y Salvia *et al.* (2011), los cuales trabajaron con bebidas realizadas a partir de leche descremada con jugos de diversas frutas.

### 5.5.2. Análisis microbiológico de la bebida durante el almacenamiento

El cuadro 57 presenta los resultados de los diferentes parámetros microbiológicos evaluados en la bebida a lo largo del tiempo de almacenamiento, los cuales corresponden a un promedio derivado del análisis por triplicado (n=3) realizado por el laboratorio de microbiología de la Universidad de Nariño (ver anexos 18 a 37).

**Cuadro 57. Análisis microbiológicos realizados a la bebida durante cinco semanas de almacenamiento a 4°C**

Tiempo (Días)	Coliformes totales (No. Bacterias/mL)	Coliformes fecales (No. Bacterias/mL)	Recuento Esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor	Mesófilos (Log <sub>10</sub> UCF/mL)	Hongos y levaduras (Log <sub>10</sub> UCF/mL)
Control	ND	ND	ND	4,409±0,019	2,563±0,033
0	ND	ND	ND	3,075±0,073	ND
7	-	-	-	4,486±0,033	ND
14	-	-	-	4,451±0,032	ND
21	-	-	-	4,469±0,067	ND
28	-	-	-	4,461±0,041	ND
35	-	-	-	4,584±0,071	ND

Nota: Los valores son la media de tres réplicas ±DE; ND: No detectado (los niveles de poblaciones microbianas estudiadas estaban por debajo del límite de detección en el tratamiento correspondiente)

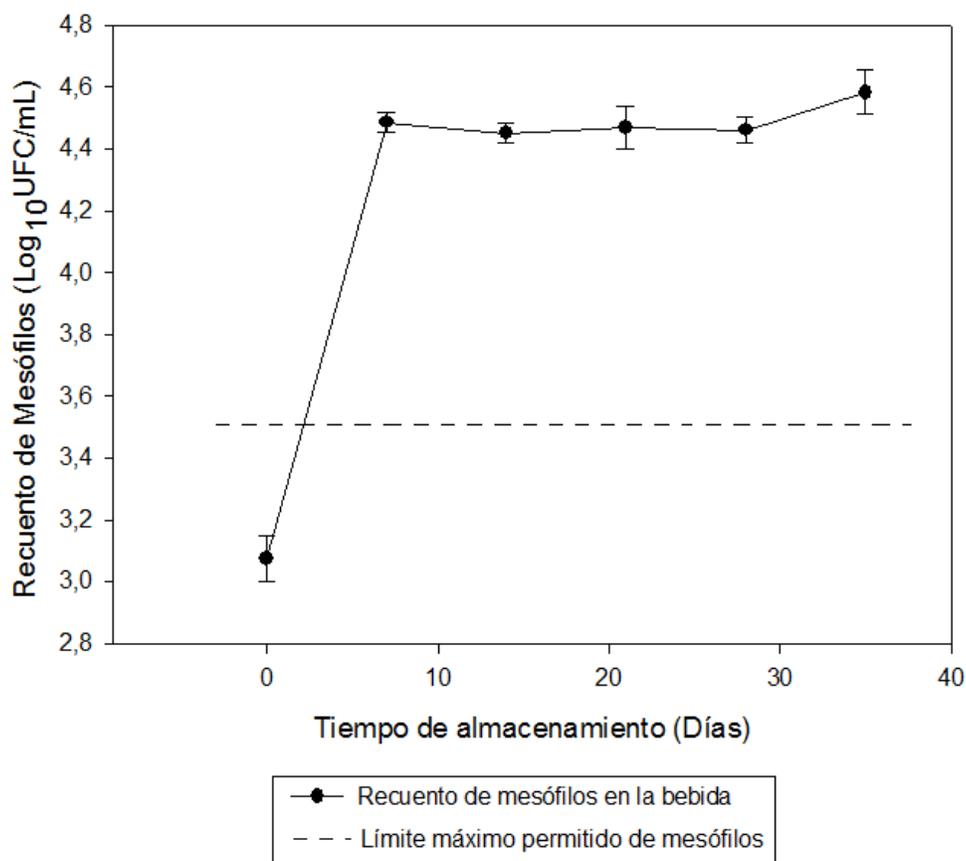
Fuente: esta investigación

Las poblaciones iniciales promedio de bacterias mesófilas aerobias y hongos y levaduras en la bebida no tratada (control) fueron 4,409±0,019 y 2,563±0,033 log<sub>10</sub> UFC/mL, respectivamente. Después del tratamiento térmico a 92°C durante 56 s se observó la reducción en 1 ciclo logarítmico de la carga microbiana de mesófilos y de la población de hongos y levaduras a <1 Log UFC/mL, lo cual fue suficiente para mantener a las poblaciones microbianas investigadas por debajo del límite de máximo permitido hasta acercarse a la primera semana de almacenamiento. De acuerdo a esto, dicho tratamiento fue capaz de extender la vida útil microbiológica de la bebida almacenada a 4°C en un periodo inferior a 7 días.

En el día 0 de almacenamiento, todos los parámetros analizados en la bebida estuvieron dentro de los rangos exigidos para néctares por la resolución 7992 de 1991. Para el caso del recuento de hongos y levaduras, se observó que fue un parámetro que se mantuvo dentro del rango establecido por la resolución 7992/91, durante todo el mes de estudio. Varios autores han reportado similares resultados, al presentarse la inactivación total de mohos y levaduras (<1 log UFC/mL) en diferentes zumos de frutas y leche de soja, después de la aplicación de diferentes

tratamientos térmicos (Li & Zhang, 2004; Mosqueda, *et al.*, 2008). Además, los resultados de esta investigación también son similares al estudio realizado por Salvia (2011) y Velázquez *et al.* (2012) quienes trabajaron con jugo de naranja procesado a 90°C durante 1 y 2 min, obteniendo en ambos casos recuentos no detectables de mohos y levaduras después del tratamiento y hasta el día 22 y 36 de almacenamiento respectivamente.

**Gráfica 29. Curva de crecimiento microbiano de mesófilos aerobios en la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Por otra parte, la gráfica 29 muestra la curva de crecimiento de mesófilos aerobios en la bebida almacenada a 4°C durante un período máximo de 35 días almacenamiento. Según la resolución 7992/91, las cargas microbianas máximas aceptables para mesófilos aerobios y hongos y levaduras en zumos de frutas y néctares están alrededor de 3 y 3,5 Log UFC/mL, respectivamente. En el presente estudio, se observó que a partir de la primera semana de almacenamiento, el recuento de mesófilos se incrementó a niveles que sobrepasan los valores permitidos, llegando a un recuento de 4,5 Log UFC/mL. Este crecimiento microbiano observado después de la aplicación del tratamiento térmico puede

explicarse por la recuperación de microorganismos afectados, germinación de microorganismos formadores de esporas, baja influencia del tratamiento térmico sobre la inactivación de esporas (Morales de la Peña, *et al.*, 2010), la resistencia de microorganismos mesófilos a medios ácidos, como es el caso de *Staphylococcus aureus* el cual es capaz de resistir condiciones de acidez y pH bajos en los jugos de frutas (Briñez, *et al.*, 2007) y también debido al crecimiento exponencial de los microorganismos por la disponibilidad de altos niveles de nutrientes, principalmente azúcares, en la matriz de la bebida (Morales de la Peña, *et al.*, 2010).

Además, en la gráfica 29 se puede observar que a partir de la primera semana inicia la fase estacionaria de la cinética de crecimiento, la cual ocurre cuando se agotan los nutrientes y el sustrato que los microorganismos habían estado metabolizando y además, porque se presenta un cambio en la acidez de la bebida (ver gráfica 25) de 0,645 a 0,801 g ácido láctico/100 g bebida, por tanto, el crecimiento celular se detiene y la biomasa permanece constante (Duarte, 1998).

En la práctica, el recuento microbiano por debajo de un límite definido en condiciones determinadas de almacenamiento durante un período específico indica microbiológicamente la vida útil de los productos inicialmente sometidos a tratamientos de conservación (Aporn, *et al.*, 2013). Es así como para alcanzar un tiempo de vida útil aceptable se debe considerar la extensión de la fase de latencia y la disminución de la tasa de crecimiento de las poblaciones microbianas, lo cual se obtiene con la efectividad del tratamiento térmico.

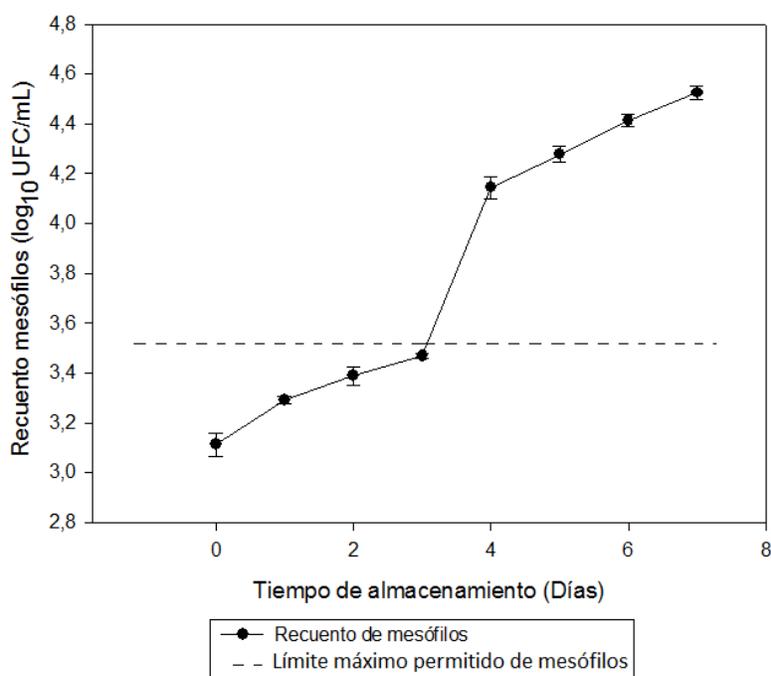
Con los resultados obtenidos, para conocer el tiempo de vida útil de la bebida se realizó un seguimiento diario durante la primera semana de almacenamiento debido a que como lo muestra la gráfica 29, no se presenta la fase de latencia de las bacterias mesófilas y se observa solamente la fase de crecimiento, seguida de la fase estacionaria. Por tanto, se obtuvieron los recuentos de bacterias mesófilas de cada día (ver cuadro 58 y anexos 38 a 53) para conocer el tiempo exacto en el cual este sobrepasa los límites superiores exigidos por la normatividad vigente (ver gráfica 30). Estos hallazgos sugieren que la bebida estudiada bajo las anteriores condiciones debe ser tratada como un producto de vida útil corta, el cual debe ser consumido antes del tercer día de procesamiento.

**Cuadro 58. Análisis microbiológicos realizados a la bebida durante la primera semana de almacenamiento a 4°C**

Tiempo (Días)	Mesófilos (Log <sub>10</sub> UCF/mL)
0	3,113 ± 0,047
1	3,290 ± 0,016
2	3,388 ± 0,038
3	3,470 ± 0,010
4	4,145 ± 0,044
5	4,278 ± 0,032
6	4,415 ± 0,024
7	4,525 ± 0,028

Nota: Los valores son la media de dos réplicas ±DE.  
Fuente: esta investigación

**Gráfica 30. Seguimiento de las bacterias mesófilas durante la primera semana de almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Por tanto, el tiempo de vida útil de la bebida es menor al promedio de bebidas de leche y jugos de frutas de otras investigaciones y hace parte del 10% de las bebidas de corta vida útil que necesita una cadena de frío para su almacenamiento y distribución (Sampedro, *et al.*, 2007), puesto que según lo

reportado por Salvia *et al.* (2011) se establece un periodo de vida de 56 días con una pasteurización a 90°C durante 1 min para una bebida con leche descremada y jugos de frutas; Varela *et al.*, (2012) reporta que es mayor a 35 días, pero empleando pulsos eléctricos en jugo de granada y se establece 9 días para jugo de naranja tratado con luz ultravioleta (Çiğdem & Ayşegül, 2013).

### 5.5.2.1. Análisis estadístico

**Cuadro 59. Resumen estadístico del recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento**

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	21	4,277	0,507	11,85%	0,99

Fuente: esta investigación

**Cuadro 60. Análisis de varianza del recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento**

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5,10177	6	0,850295	313,20	<b>0,0000</b>
Intra grupos	0,0380087	14	0,0027149		
Total (Corr.)	5,13978	20			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

Puesto que el valor-P es menor que 0,05 (ver cuadro 60), existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la población de mesófilos aerobios entre los diferentes niveles del tiempo de almacenamiento estudiados, con un nivel del 95,0% de confianza. Además, la gráfica 31 y el cuadro 61 presentan 3 grupos homogéneos, en los cuales existe una diferencia significativa entre el nivel 0 de almacenamiento y los demás tratamientos; entre el nivel 35 y los demás tratamientos; mientras que entre los días 7,14, 21, 28 y el control no existen diferencias estadísticamente significativas.

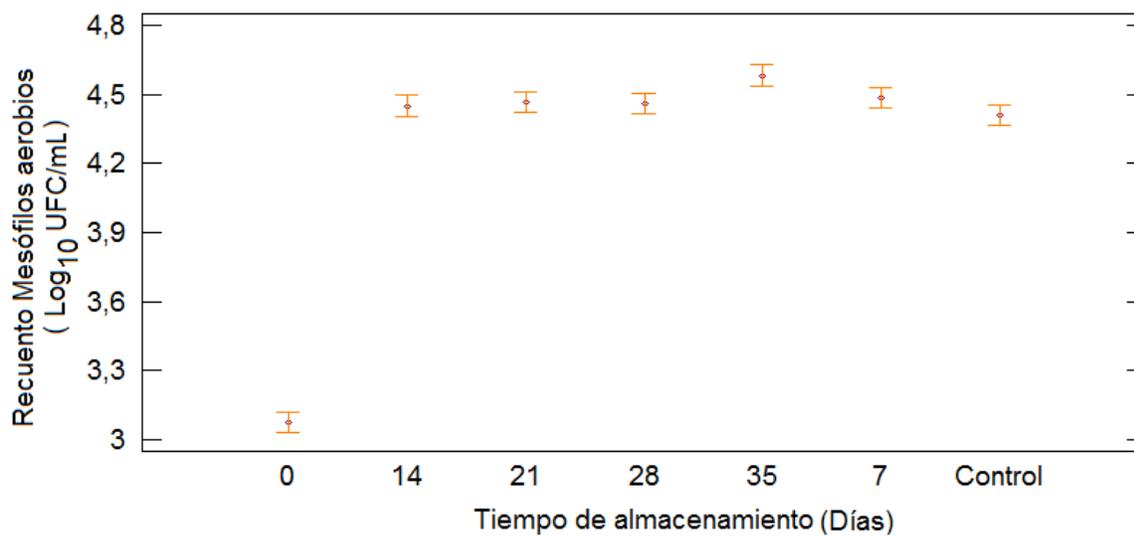
**Cuadro 61. Prueba LSD Fisher para el recuento de mesófilos aerobios de la bebida durante el almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	3,075	X
Control	3	4,409	X
14	3	4,45133	X
28	3	4,461	X
21	3	4,46867	X
7	3	4,48567	X
35	3	4,58333	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 31. Gráfica de medias del crecimiento microbiano de mesófilos en la bebida durante el almacenamiento**



Fuente: esta investigación

### 5.5.3. Reactivación de POD en la bebida durante el almacenamiento.

**Cuadro 62. Actividad residual de POD durante el almacenamiento**

Tratamiento	Coefficiente de correlación	Pendiente (dAbs/min)	Actividad enzimática promedio ( $\Delta$ Abs/min)	Actividad residual POD (%)
Patrón	0,9992	0,1034	0,1034	100,00
0 días	0,9881 $\pm$ 0,0019	0,0077 $\pm$ 0,0002	0,0077 $\pm$ 0,0002	7,41 $\pm$ 0,14
7 días	0,9981 $\pm$ 0,0028	0,0067 $\pm$ 0,0006	0,0067 $\pm$ 0,0006	6,48 $\pm$ 0,36
14 días	0,9856 $\pm$ 0,0007	0,0057 $\pm$ 0,0003	0,0057 $\pm$ 0,0003	5,48 $\pm$ 0,12
21 días	0,9819 $\pm$ 0,0003	0,0053 $\pm$ 0,0004	0,0053 $\pm$ 0,0004	5,13 $\pm$ 0,19
28 días	0,9931 $\pm$ 0,0011	0,0051 $\pm$ 0,0005	0,0051 $\pm$ 0,0005	4,96 $\pm$ 0,46
28 días	0,9864 $\pm$ 0,0023	0,0045 $\pm$ 0,0003	0,0045 $\pm$ 0,0003	4,38 $\pm$ 0,51

Nota: Los valores son la media de tres réplicas  $\pm$ DE.

Fuente: esta investigación

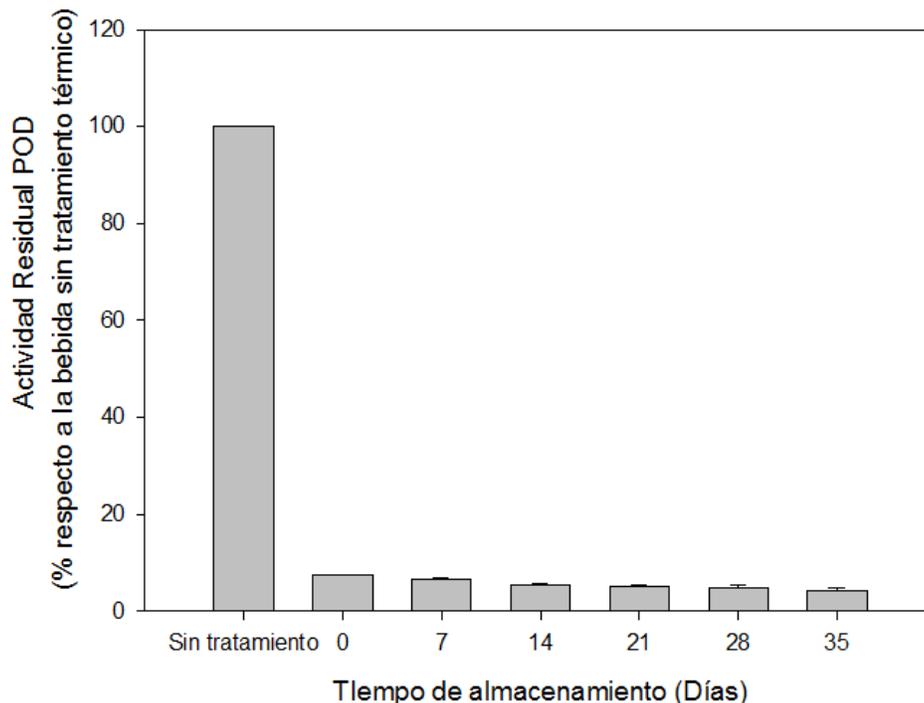
El cuadro 62 y las gráficas 32 y 33 muestran que durante el tiempo de almacenamiento la actividad residual de POD disminuye. Similares resultados se reportan en investigaciones realizadas en puré de fresa por Osorio (2008), reportando que al cabo de 30 días de almacenamiento en refrigeración, la actividad POD de las muestras tratadas térmicamente se redujo a menos de la mitad de la que presentaba la muestra recién tratada (ver cuadro 63) y en un mayor tiempo de almacenamiento, es decir a los 60 días ninguna muestra tratada presentó actividad POD (Osorio, 2008).

**Cuadro 63. Actividad POD del puré de fresa (%del puré fresco)**

Tratamiento	0 días		30 días		60 días
	Media	DE	Media	DE	Media
Puré fresco	100	-	-	-	-
75°C -15 s	14,6	0,5	4,1	0,9	0,0
90°C-20 s	12,7	0,4	4,2	0,2	0,0
90°C-2 min	7,3	0,3	2,4	0,13	0,0

Fuente: Osorio (2008)

**Gráfica 32. Actividad enzimática residual de POD en la bebida durante el almacenamiento**

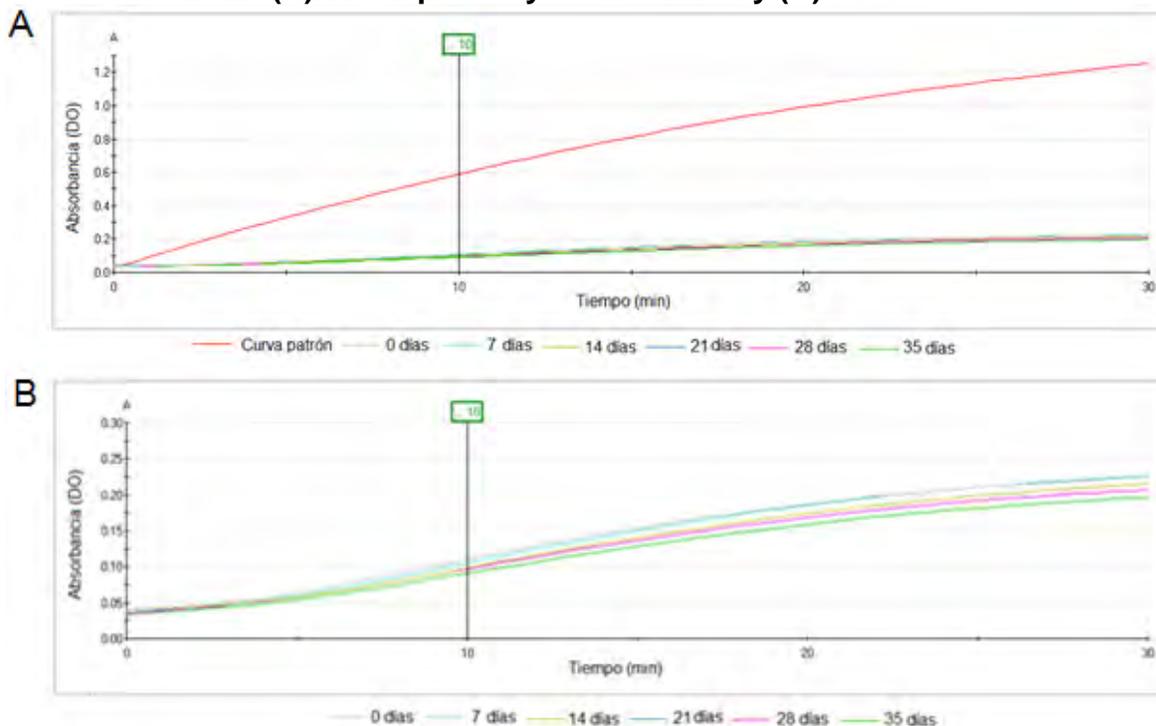


Fuente: esta investigación

Así mismo, resultados similares en jugo de naranja fueron reportados por Hirsch *et al.* (2008), en los cuales se establece que la actividad de POD disminuyó rápidamente después de 20 días de almacenamiento y la reactivación de POD no fue significativa después de aplicar el tratamiento térmico. Las actividades residuales de POD después de los tratamientos del jugo de naranja a 42 y 52°C fueron 49,2% y 25,8%, respectivamente, mientras que el calentamiento a 62°C redujo la actividad de POD a un rango de 2.9 a 9.6% de su valor inicial.

Estos resultados se pueden atribuir a la desnaturalización de POD por efecto del tratamiento térmico al ser una proteína debido a la ruptura de las fuerzas que mantienen su estructura terciaria (pocas enzimas están activas a más de 60°C y muchas de ellas ya se alteran a 40 – 50°C), cumpliéndose así uno de los objetivos primordiales de la pasteurización. También puede deberse al ambiente ácido al que está expuesta la enzima, de allí que estudios demuestran que la regeneración máxima de POD en rábano se produce en pH neutro, mientras que por debajo de un pH de 5 no se encontró ninguna regeneración. En el caso de POD, las condiciones ácidas de los zumos de naranja durante los tratamientos térmicos bajaron su estabilidad térmica global en su matriz natural. Informes anteriores sobre rábano describen un alto impacto del valor de pH en la estabilidad al calor de POD, con una pérdida total de actividad que se produce a pH 3,5 después de que el extracto se pasteurizó a 76 °C durante 30 s (Hirsch, *et al.*, 2008).

**Gráfica 33. Actividad enzimática de POD en la bebida durante el almacenamiento: (A) curva patrón y tratamientos y (B) tratamientos.**



Fuente: esta investigación

La regeneración de POD en la bebida observada en las figuras 34 y 35 se explica asumiendo que la fracción proteica de la proteína sufre una desnaturalización parcial, con pérdida de estructura terciaria, produciendo luego una reversión a su estado normal por la recombinación de grupos hidrógenos o sulfhidrúlicos.

Además, la regeneración de POD después de la pasteurización se presenta solo cuando la enzima no es totalmente inactivada por el calor, ya que esta tiene fracciones con diferente resistencia térmica, por tanto después de una inactivación parcial bajo condiciones de medio ácido se presenta la recombinación del grupo hemo con la apoenzima desplegada, seguido por un plegamiento para dar la forma nativa o similar a POD. Así mismo, para prevenir la regeneración de POD se requiere un largo periodo de calentamiento, sin embargo, un tratamiento térmico severo puede perjudicar la calidad de los alimentos. Los cambios que pueden ocurrir como resultado de sobreproceso incluyen el deterioro de color y sabor y reducción del valor nutritivo por pérdidas de vitamina C, proteínas y aminoácidos (López, 2003).

### 5.5.3.1. Análisis estadístico

**Cuadro 64.** Resumen estadístico de la Actividad enzimática POD en la bebida durante el almacenamiento

Tiempo de almacenamiento	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Coefficiente de correlación
Total	21	0,0197714	0,0350248	17,148%	0,99

Fuente: esta investigación

**Cuadro 65.** Análisis de varianza para actividad enzimática de POD en la bebida durante el almacenamiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0244979	6	0,00408298	1553,87	<b>0,0000</b>
Intra grupos	0,0000367867	14	0,00000262762		
Total (Corr.)	0,0245347	20			

( $P < 0,05$ )=significativo

Fuente: esta investigación

Según el cuadro 65 se observa que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, por lo tanto existe una diferencia estadísticamente significativa de la actividad enzimática de POD entre los días de almacenamiento con un nivel del 95,0% de confianza. Además, la gráfica 34 y el cuadro 66 muestran 3 grupos homogéneos, en donde hay diferencias significativas entre los niveles de almacenamiento 0 y 35, así como también entre el tratamiento patrón con respecto a los demás días de almacenamiento estudiados.

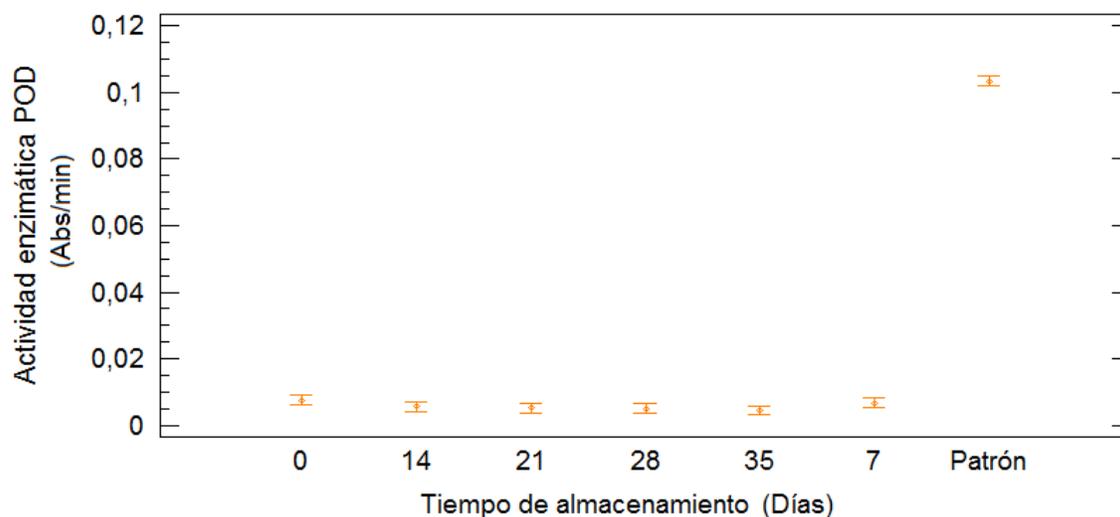
**Cuadro 66. Prueba LSD Fisher para actividad enzimática de POD en la bebida durante el Tiempo de almacenamiento**

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
35	3	0,0045	X
28	3	0,0051	XX
21	3	0,0053	XX
14	3	0,0057	XX
7	3	0,0067	XX
0	3	0,0077	X
Patrón	3	0,1034	X

Alfa=0,05

Fuente: esta investigación

**Gráfica 34. Gráfica de medias para actividad enzimática de POD en la bebida durante el Tiempo de almacenamiento**



Fuente: esta investigación

Finalmente, a nivel general, con respecto a los resúmenes estadísticos del contenido de fenoles totales (cuadro 31), ácido ascórbico (cuadro 35), carotenoides (cuadro 40), actividad antioxidante (cuadro 44), acidez (cuadro 51), SST (cuadro 54), pH (cuadro 48), recuento de mesófilos aerobios (cuadro 59) y para la actividad POD durante el almacenamiento a 4°C (cuadro 64) en la bebida, los coeficientes de variación estuvieron en un rango de 0,32 a 25,14%, por tal razón hubo homogeneidad en los datos, ya que valores de este parámetro estadístico por debajo del 25% permiten afirmar lo anterior.

## CONCLUSIONES

El tiempo de centrifugación, la cantidad de pulpa y el volumen de extracto enzimático, ejercieron una influencia significativa sobre la actividad POD, la cual se incrementó a medida que aumentaron los valores de estas variables. Es así como la optimización mostró que la mayor actividad enzimática se obtuvo al mezclar durante la extracción 6 mL de pulpa con 4 mL de buffer fosfato 0,2 M y pH 6,5, en un tiempo de centrifugación de 34 min, y un volumen de extracto de 110  $\mu$ L con 2,390 mL de solución sustrato, en la medición.

La pasteurización de la pulpa a 92°C-56 s, reduce la actividad de POD a un 10,0% de la inicial y además asegura la inocuidad del producto.

En la evaluación sensorial la muestra 122 presentó los mayores puntajes en cuanto a color y olor, sin embargo, en estos dos atributos no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los otros tratamientos, como si se observó en la viscosidad y el sabor. De acuerdo a esto la muestra 340 obtuvo la mayor calificación (me gusta) en cuanto a viscosidad y tuvo un puntaje muy similar a la 430 con respecto al sabor, por lo tanto esta fue sometida al análisis de su potencial antioxidante y se evaluó su estabilidad durante el almacenamiento.

La bebida presentó características funcionales, las cuales se reflejaron en el contenido de ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, fenoles totales, fibra y calcio encontrados. Se observó que durante la primera semana de almacenamiento, las cantidades de ácido ascórbico, fenoles totales y  $\beta$ -caroteno disminuyeron significativamente y que además estos valores estuvieron dentro del rango estudiado por otras investigaciones, incluso, el contenido de  $\beta$ -caroteno en la bebida proporcionado por la pulpa de tomate fue superior a los rangos reportados en otros estudios hasta la segunda semana de almacenamiento.

La bebida puede ser considerada como saludable debido a que una porción de 200 mL aporta 10,9 y 10,3% de calcio y fibra, respectivamente. Además, la contribución a la dieta de minerales como el calcio, fósforo, potasio y hierro se encuentran cercanos al 10% y por tanto la bebida no puede declararse como “Alta en”, “Buena fuente de” o “No es una fuente significativa de” dichos minerales.

La capacidad antioxidante de la bebida disminuyó significativamente a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento de  $3,450 \pm 0,041$  a  $1,581 \pm 0,025$  mmol Trolox/L junto con el contenido de fenoles totales, ácido ascórbico y carotenoides, en un rango entre  $33,150 \pm 2,020$  hasta  $21,467 \pm 1,360$  mg GAE/100 mL, de  $12,967 \pm 0,603$  hasta  $5,167 \pm 0,321$  mg/100 mL y de  $243,00 \pm 5,66$  hasta  $146,50 \pm 2,12$   $\mu$ g/100 mL, respectivamente. Por tanto se concluyó que las concentraciones de ácido ascórbico, fenoles totales y carotenoides están fuertemente correlacionadas con la capacidad antioxidante.

Debido a que en la primera semana de almacenamiento se presentó un decrecimiento significativo del contenido de ácido ascórbico, fenoles totales y por tanto una disminución de la capacidad antioxidante total de la bebida, la vida útil funcional es inferior a una semana. En efecto, el periodo de vida funcional de la bebida con base en la reducción del ácido ascórbico al 50% de su contenido original correspondió a 7 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración.

El pH y los SST no presentaron un descenso significativo durante el tiempo de almacenamiento a 4°C, mientras que la acidez aumentó en un rango de  $0,645 \pm 0,094$  a  $0,870 \pm 0,026$  g ácido láctico/100 mL.

Después de aplicar el tratamiento térmico a 92°C-56 s, la bebida cumplió con la normatividad vigente en cuanto a los parámetros microbiológicos exigidos. Sin embargo, al realizar el seguimiento de la actividad microbiológica se presentó que a partir del día 7 de almacenamiento, el recuento de mesófilos aerobios sobrepasó el límite máximo permitido, por tanto, al conocer los recuentos diarios de la primera semana de almacenamiento, se estableció que la vida útil de la bebida es aproximadamente 3 días.

Se presentó reactivación de POD en la bebida durante el tiempo de almacenamiento, sin embargo esta disminuyó de forma significativa en el transcurso de las semanas. Es así como en el día cero de almacenamiento fue de  $7,41 \pm 0,14\%$  y al final del periodo correspondió a  $4,38 \pm 0,51\%$ .

## RECOMENDACIONES

Determinar el periodo de vida útil organoléptico de la bebida.

Evaluar la bebida empleando otro tipo de leche.

En el envasado de la bebida se debería llevar a cabo un proceso de desgasificación para evitar que el oxígeno cause el deterioro del ácido ascórbico y  $\beta$ -caroteno.

Para incrementar el tiempo de vida útil de la bebida se podría plantear un diseño experimental para realizar la pasteurización, en el cual se incremente el límite máximo de las variables tiempo y temperatura con respecto a los estudiados en esta investigación, para evaluar su efectividad en la reducción del recuento de microorganismos mesófilos sin olvidar estudiar la degradación de los compuestos que le otorgan las características funcionales.

Para conseguir lo anterior también se podría realizar el tratamiento térmico a escala piloto empleando un pasteurizador y un envasado aséptico del producto, así como también realizar un pre-escaldado al tomate de árbol antes de mezclarlo con la leche y los demás aditivos.

Como otra alternativa para incrementar el periodo de vida útil de la bebida se sugiere emplear una tecnología de conservación emergente como los pulsos eléctricos de alta intensidad de campo, para evaluar si estos otorgarían una mayor estabilidad microbiológica al producto y también para evaluar la retención de los componentes bioactivos en la bebida al evitar los efectos negativos inducidos por el calor, ya que probablemente el daño causado sería menor que al emplear la pasteurización.

## BIBLIOGRAFÍA

ABUSHITA, A., DAOOD, H. & BIACS, P. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol., 48. No 6 (2000); p. 2075–2081.

AGÜERO, M., ANSORENA, M., ROURA, S. & DEL VALLE, C. Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash. En: *LWT*. Vol., 41. (2008); p. 401–407.

AGUILÓ, I., SOLIVA, R. & MARTÍN, O. Comparative study on color, viscosity and related enzymes of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. En: *European Food Research and Technology*. Vol., 227. No 2 (2008); p. 599-606.

AKHTAR, S., ANJUMET, F., REHMAN, S. & SHEIK, M. Effect of storage and baking on mineral contents of fortifies whole wheat flour. En: *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol., 34. (2009); p. 335-349.

AKYOL, Ç., ALPAS, H., & BAYINDIRLI, A. Inactivation of Peroxidase and lipoxygenase in carrots, green beans, and green peas by combination of high hydrostatic pressure and mild heat treatment. En: *European Food Research and Technology*. Vol., 224. No 2 (2006); p. 171–176.

ANDLAUER, W. & FURST, P. Nutraceuticals: a piece of history, resent status and outlook. En: *Food Research International*. Vol., 35. (2002); p. 171-176.

ANESE, M., MANZOCCO, L., NICOLI, M. & LERICI, C. Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol., 79. (1999); p. 750–754.

ANTHON, G., SEKINE, Y., WATANABE, N. & BARRETT, D. Thermal Inactivation of Pectin Methylesterase, Polygalacturonase, and Peroxidase in Tomato Juice. En: *J. Agric. Food Chem.* Vol., 50. (2002); p. 6153-6159.

ANZALDÚA, M. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica: en lengua española. Zaragoza, España: Acribia, S.A, 1994. 193p.  
AOAC (Association of Official Analytical Chemist International). Official methods of analysis of AOAC International. 16<sup>th</sup> Edition. Gaithersburg, USA. 340 p.

ARAMWIT, P., BANG, N. & SRICHANA, T. The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. En: *Food Research International*. Vol., 43. (2010); p. 1093–1097.

ARNAO, M., CANO, A. & ACOSTA, M. Estimación de la actividad antioxidante total de cítricos y su relación con el contenido de vitamina C. En: Fruticultura. Vol., 93. (1998); p. 48–54.

AVALLONE, C., CRAVZOV, C. M., MONTENEGRO, A. L., & PELLIZZARI, S. B. Estudio de la actividad de polifeniloxidasas y peroxidasa en *Carica papaya* L. mínimamente procesada. En: Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Vol., 13. (2000); p. 1–4.

AYHAN, Z., YEOM, H., ZHANG, Q. & MIN, D. Flavor, color and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 49. (2001); p. 669-674.

BAHÇEÇI, K., SERPEN, A., GÖKMEN, V. & ACAR, J. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. En: Journal of Food Engineering. Vol., 66. No 2 (2005); p.187–192.

BARBA, F., JÄGER, H., MENESES, N., ESTEVE, M., FRÍGOLA, A. & KNORR, D. Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high-pressure and pulsed electric fields processing. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 14. (2012); p.18–24

BARBOSA, G. & RODRIGUEZ, J. Update on nonthermal food processing technologies: pulsed electric field, high hydrostatic pressure, irradiation and ultrasound. En: Food Australia. Vol., 54. No 11 (2002); p. 513-520.

BARBOSA, G., GONGORA, M. & SWANSON, B. Nonthermal electrical methods in food preservation. En: Food Science and Technology International. Vol., 4. No 5 (1998); p. 363-370.

BEECHER, G. Nutrient content of tomatoes and tomato products. En: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol., 218. (1998); p. 98–100.

BELEN, D., EURIS, S., GARCIA, D., MORENO, M. y LINARES, O. Características físico-químicas y composición en ácidos grasos del aceite extraído de semillas de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt) variedades roja y amarilla. En: Grasa y Aceites. Vol., 55. No 4 (2004); p. 428-433.

BELLO, J. Alimentos para la salud. En: Arbor. Vol., 12. (2001); p.1-29.

BENDICHO, S., BARBOSA, G., MARTIN, O. Milk processing by high intensity pulsed electric fields. En: Trends in Food Science & Technology. Vol., 13. No 6/7 (2002); p.195-204.

BENDICHO, S., MARSELLES, A., BARBOSA, G., MARTÍN, O. High intensity pulsed electric fields and heat treatments applied to a protease from *Bacillus subtilis*. A comparison study of multiple systems. En: Journal of Food Engineering. Vol., 69. No 3 (2005); p. 317-323.

BENLLOCH, M., IGUAL, M., RODRIGO, D. & MARTÍNEZ, N. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 19. (2013); p.166–172.

BERNAL, J., DÍAZ, C., AMAYA, A. y VANEGAS, F., Generalidades del cultivo. En: Tecnología para el cultivo del tomate de árbol. Corpoica. Manual técnico 3. C.I. "La Selva", Rionegro, Antioquia. 2003. p. 8-49.

Bi, X., LIU, F., RAO, L., LI, J., LIU, B., LIAO, X. & WU, J. Effects of electric field strength and pulse rise time on physicochemical and sensory properties of apple juice by pulsed electric field. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 17. (2013); p. 85–92.

BOBBIO, F., BOBBIO, P. & RODRIGUEZ, D. Anthocyanins of the Brazilian fruit *Cyphomandra betaceae*. En: Food Chemistry. Vol., 12. No 3 (1983); p. 189–195.

BRADDOCK, R. J. Handbook of citrus by-products and processing technology. New York: John Wiley & Sons, 1999. p. 53–83.

BRIÑEZ, W., ROIG-SAGUÉS, A., HERNÁNDEZ HERRERO, M. & GUAMIS LÓPEZ, B. Inactivation of *Staphylococcus* spp. strains in whole milk and orange juice using ultra high pressure homogenisation at inlet temperatures of 6 and 20°C. En: Food Control. Vol., 18. (2007); p. 1282–1288.

BRITO, B., ESPÍN, S., VILLACRÉS, E. & VALLANT, F. Tomate de árbol: Características físicas y nutricionales de la fruta importantes en la investigación y desarrollo de pulpas y chips. {En línea}. {12 de marzo de 2013}. Disponible en: [http://www.iniap.gob.ec/sitio/index.php?option=com\\_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=2&sobi2Id=221&Itemid=](http://www.iniap.gob.ec/sitio/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=2&sobi2Id=221&Itemid=)

BRUEMMER, J., ROC, B., & BOWEN, E. Peroxidase reactions and orange juice quality. En: Journal of Food Science. Vol., 41. (1976); p. 186–189.

CALLIGARIS, S., MANZOCCO, L., ANESE, M., & NICOLI, M. Effect of heat-treatment on the antioxidant and pro-oxidant activity of milk. En: International Dairy Journal. Vol., 14. (2004); p. 421–427.

CALVO, I. 2009. Cultivo de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae*). {En línea}. {14 de abril de 2013}. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00168.pdf>.

CAO, X., BI, X., HUANG, W., WU, J., HU, X. & LIAO, X. Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 16. (2012); p. 181–190

CASTANEDA, C., RAMOS, LL., IBÁÑEZ, V. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. En: Revista Horizonte Médico. Vol., 8. No 1 (2008); p. 56-72.

CENI, G., BALDISSERA, E., ANTUNES, O., VLADIMIR OLIVEIRA, J., DARIVA, C. & OLIVEIRA, D. Oxidases from mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*): extraction optimization and stability at low and high temperatures. En: Bioprocess and Biosystems Engineering. Vol., 31. No 6 (2008); p. 541–550.

CEPAL. El clúster de los lácteos. Colombia. Proyecto estrategia de desarrollo de clúster en torno a recursos naturales: su crecimiento e implicaciones distributivas y medioambientales. Comisión económica para América latina y el Caribe. Septiembre 1998. p. 52

CERVATO, G., CAZZOLA, R., & CESTARO, B. Studies on the antioxidant activity of milk caseins. En: International Journal of Food Science and Nutrition. Vol., 50. (1999); p. 291-296.

CHEN, J., LINDMARK, H., GORTON, L. & AKESSON, B. Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. En: International Dairy Journal. Vol., 13. (2003); p. 927-935.

CHISARI, M., BARBAGALLO, R. & SPAGNA, G. Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 55. No.9 (2007); p. 3469-3476.

CHOI, M., KIM, G. & LEE, H. Effect of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. En: Food Research International. Vol., 35. (2002); p. 753–759.

CHOI, Y., JEONG, H. & LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. En: Food Chemistry. Vol., 103. No 1 (2007); p. 130-138.

ÇIĞDEM, UYSAL PALA & AYŞEGÜL, KIRCA TOKLUCU. Microbial, physicochemical and sensory properties of UV-C processed orange juice and its microbial stability during refrigerated storage. En: LWT-Food Science and Technology. Vol., 50. (2013); p. 426-431

CILLA, A., PERALES, S., LAGARDA, M., BARBERÁ, R., CLEMENTE, G. & FARRÉ, R. Influence of storage and in vitro gastrointestinal digestion on total antioxidant capacity of fruit beverages. En: Journal of Food Composition and Analysis. Vol., 24. (2011); p. 87-94

CIVELLO, P., MARTÍNEZ, G., CHAVES, A. & AÑÓN, M. Peroxidase from strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.): partial purification and determination of some properties. En: Journal Agriculture Food Chemistry. Vol., 43. (1995); p. 2596-2601.

CLINTON, S. Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. En: Nutrition Reviews. Vol., 56. (1998); p. 35–51.

CODEX ALIMENTARIUS. Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. (Codex Stan 247-2005). 21 p.

COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Plan Frutícola Nacional: Desarrollo de la fruticultura en Nariño. 2006. 67p.

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto 616 (28, febrero, 2006). Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendá, importe o exporte en el país. Bogotá: El Ministerio, 2006. 32p.

COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Resolución 7992 (21, julio, 1991). Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979 en lo relacionado con la elaboración, conservación y comercialización de Jugos. Concentrados, Néctares, Pulpas, Pulpas Azucaradas y Refrescos de Frutas. Bogotá: El Ministerio, 1991. 21 p.

CORTÉS, C., ESTEVE, M., FRÍGOLA, A. & TORREGROSA, F. Identification and quantification of carotenoids including geometrical isomers in fruits and vegetables by liquid chromatography with uvdiode array detector. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 52. No 8 (2004); p. 2203-2212.

CORTES, C., TORREGROSA, F., ESTEVE, M. & FRIGOLA, A. Carotenoid profile modification during refrigerated storage in untreated and pasteurized orange juice and orange juice treated with high intensity pulsed electric fields. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 54. (2006); p. 6247–6254

CRUZ, R., VIEIRA, M. & SILVA, C. Effect of heat and thermosonication treatments on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinale*). En: Journal of Food Engineering. Vol., 72. (2006); p. 8–15.

DEL CARO, A. PIGA, A. Y VACCA, V. Changes of flavonoids, vitamic C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. En: Food Chemistry. Vol., 84. (2004); p. 99-105

DI MICHELE, S., ROSA, M. y ROJAS, I. Estudio Bioquímico de la Leche líquida del Mercado de Maracay. II. Nitrógeno Total, Proteínas Totales y Electroforesis de las Proteínas del lactosuero. En: Rev. Fac. de Cien. Vet. Vol., 34. No ¼ (1987); p.125-134.

DOĞAN, S. AND DOĞAN, M. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from Thymus (*Thymus logicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*). En: Food Chemistry. Vol., 88. (2004); p. 69-77.

DUARTE, M., WHITAKER, J., ROJO, A., GARCÍA, B. & REGALADO, C. Isolation and thermal characterization of an acidic isoperoxidase from turnip roots. En: Journal of agricultural and food chemistry. Vol., 51. No 17 (2003); p. 5096–6102.

DUARTE, P. Biotecnología de la fermentación. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A, 1998. 124 p.

DURANGO, K., MUÑOZ, K., OCAMPO, P., & LONDOÑO, J. Caracterización preliminar del enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implicaciones en su proceso de industrialización. En: Scientia Et Technica. Vol., 13. No 33 (2007); p. 161–164.

DUTTA, D., DUTTA, A., RAYCHAUDHURI, U., CHAKRABORTY, R. Rheological characteristics and thermal degradation kinetics of beta-carotene in pumpkin puree. En: Journal of Food Engineering. Vol., 76. No 4 (2006); p. 538-546.

ÉLEZ, P., SUÁREZ, M., y MARTÍN, O. Modeling the reduction of pectinmethyl esterase activity in orange juice by high pulsed electric fields. En: Journal of Food Engineering. Vol., 78. (2007); p. 184-193.

ERCAN, S. & SOYSAL, Ç. Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. En: Ultrasonics Sonochemistry. Vol., 18. (2011); p. 689–695

ESKIN, N., GROSSMAN, S. & PINSKY, A. Biochemistry of lipoxygenase in relation to food quality. En: Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol., 3. (1977); p. 123-131.

ESPINAL, M. Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba Palmira ICA I (*Psidium guajava*). Bogotá, 2010, 150 p. Trabajo de investigación (Maestría en Ciencias Química). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de química.

ESTEVE, M., FRÍGOLA, A., RODRIGO, C. & RODRIGO, D. Effect of storage period under variable conditions on the chemical and physical composition and colour of Spanish refrigerated orange juices. En: Food and Chemical Toxicology. Vol., 43. (2005); p. 1413–1422.

FAN, J., DING, X. & GU, W. Radical-scavenging proanthocyanidins from sea buckthorn seed. En: Food Chemistry. Vol., 102. No 1 (2007); p. 168-177.

FANG, L., JIANG, B. & ZHANG, T. Effect of combined high pressure and thermal treatment on kiwifruit peroxidase. En: Food Chemistry. Vol., 109. (2008); p. 802–807

FAO. Ficha técnica del tomate de árbol. {En línea}. {13 de Abril de 2013}. Disponible en: [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/TOMATEDEARBTO.HTM](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/TOMATEDEARBTO.HTM).

FARNWORTH, E., LAGACÉ, M., COUTURE, R., YAYLAYANC, V. & STEWART, B. Thermal processing, storage conditions, and the composition and physical properties of orange juice. En: Food Research International. Vol., 34. (2001); p. 25-30

FERNANDEZ, J., FERNANDEZ, S., ALTUNAKAR, B., SWANSON, B. & BARBOSA, G. The combined effect of pulsed electric fields and conventional heating on the microbial quality and shelf life of skim milk. En: Journal of Food Processing and Preservation. Vol., 29. No 5-6 (2005); p.390-406.

FORTEA, M., LÓPEZ, S., SERRANO, A., CARREÑO, J. & NÚÑEZ, E. Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (*Crimson seedless*). En: Food Chemistry. Vol., 113. No 4 (2009); p. 1008–1014.

FRANCO, G. Industrialización del tomate de árbol. 15 p. En: Memorias II seminario Frutales de Clima Frio moderado. Manizales. Colombia, 1998.

GANJLOO, A., RAHMAN, R., BAKAR, J., OSMAN, A., & BIMAKR, M. Modelling the Kinetics of Peroxidase Inactivation and Colour Changes of Seedless Guava (*Psidium guajava* L.) during Thermal Treatments. Vol., 7. No 1 (2009); p.105–112.

GARCIA M., MARTINO, M., ZARITZKY, N. Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality and stability. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 46. No 9 (1998); p. 3758-3767.

GARCÍA MUÑOZ, M. Manual de manejo cosecha y poscosecha del tomate de árbol. Bogotá. Corpoica, 2008. 98 p.

GARDNER, P., WHITE, T., MCPHAIL, D. & DUTHIE, G. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. En: Food Chemistry. Vol., 68. (2000); p. 471-474.

GAWLIK-DZIKI, U., SZYMANOWSKA U. AND BARANIAK, B. Characterization of polyphenol oxidase from broccoli (*Brassica oleraceavar. botrytis italica*) florets. En: Food Chem. Vol., 105. (2007); p. 1047-1053.

GAWLIK-DZIKI, U., ZLOTEK, U. AND SWIECA, M. Characterization of polyphenol oxidase from butter lettuce (*Lactuca sativa var. capitata L.*). En: Food Chem. Vol., 107. (2008); p. 129-135.

GONÇALVES, E. M., PINHEIRO, J., ABREU, M., BRANDÃO, T. R. S., & SILVA, C. L. Carrot (*Daucus carota L.*) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. En: Journal of Food Engineering. Vol., 97. No 4 (2010); p. 574–581.

GONÇALVES, E., PINHEIRO, J., ABREU, M., BRANDÃO, T. & SILVA, C. Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima L.*) during blanching. En: Journal of Food Engineering. Vol., 81. (2007); p. 693–701.

GONZÁLEZ, E., DE ANCOS, B., & CANO, M. Partial characterization of peroxidase and polyphenol oxidase activities in blackberry fruits. En: Journal of agricultural and food chemistry. Vol., 48. No 11 (2000); p. 5459–64.

GRANATO, D., BRANCO, G., CRUZ, A., FARIA, J. & SHAH, N. Probiotic dairy products as functional foods. En: Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol., 9. No 5 (2010); p. 455-470.

GUERRERO, J. & BARBOSA, G. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and polyphenoloxidase in mango nectar treated with UV light. En: Journal of Food Protection. Vol., 69. No 2 (2006); p. 362-368.

GUERRERO, J. & BARBOSA, G. Reduction of *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice by ultraviolet light. En: Journal of Food Process Engineering. Vol., 28. No 5 (2005); p. 437-452.

GUERRERO, J. & BARBOSA, G. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. En: Food Science and Technology International. Vol., 10. No 3 (2004); p. 137-147.

GUERRERO, J., BARBOSA, G. & SWANSON, G. High hydrostatic pressure processing of fruit and vegetable products. En: Food Reviews International. Vol., 21. No 4 (2005); p. 411-425.

GUERRERO, J., BARBOSA, G., MORAGA, G., MORAGA, M., SWANSON, G. Effect of pH and ascorbic acid on high hydrostatic pressureprocessed mango puree. En: Journal of Food Processing and Preservation. Vol., 30. No 5 (2006); p. 582-596.

GUNDGAARD, J., NIELSEN, J. OLSEN, J. & SORENSEN, J. Increased intake of fruit and vegetables. Estimation of impact in terms of life expectancy and healthcare costs. En: Public Health Nutr. Vol., 6 (2003); p. 25-30.

GUNES, B. & BAYINDIRLI, A. Peroxidase and lipoxygenase inactivation during blanching of green beans, green peas and carrots. En: Lebensm Wiss Technol. Vol., 26. (1993); p. 406-410.

HALLIWELL, B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo?. En: Free Radical Research. Vol., 25 (1996); p. 439-454.

HARTE, F., LUEDECKE, L., SWANSON, B. & BARBOSA, G. Low-Fat Set Yogurt Made from Milk Subjected to Combinations of High Hydrostatic Pressure and Thermal Processing. En: Journal of Dairy Science. Vol., 86. No 4 (2003); p. 1074-1082.

HINER, A., HERNÁNDEZ, J., RODRÍGUEZ, J., GARCÍA, F., BRISSET, N., SMITH, A., ARNAO, M. Reactions of the class II peroxidases, lignin peroxidase and *Arthromyces ramosus* peroxidase, with hydrogen peroxide. Catalase-like activity, compound III formation, and enzyme inactivation. En: The Journal of biological chemistry. Vol., 277. No 30 (2002); p. 26879-26885.

HIRSCH, A., FÖRCH, K., NEIDHART, S., WOLF, G. & CARLE, R. Effects of Thermal Treatments and Storage on Pectin Methylsterase and Peroxidase Activity in Freshly Squeezed Orange Juice. En: J. Agric. Food Chem. Vol., 56. (2008); p. 5691–5699.

HSU, K., TAN, F. & CHI, H. Evaluation of microbial inactivation and physicochemical properties of pressurized tomato juice during refrigerated storage. En: LWT. Vol., 41. (2008); p. 367–375.

HUANG, Y., RASCO, B. & CAVINATO, A. Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control. USA: Edited by Da Wen Sun, 2009. 400p.

HURTADO, N., MORALES, A., GONZÁLEZ L., ESCUDERO, E. & HEREDIA, F. Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). En: Food Chemistry. Vol., 117. (2009); p. 88–93.

ICMSF: International Commission on Microbiological Specifications for. Microorganisms in foods. Microorganisms in Foods 4: Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System to Ensure Microbiological Safety and Quality. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1988. ISBN: 0632021810.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Frutas frescas. Tomate de árbol. Especificaciones. NTC 4105. Bogotá. ICONTEC, 1997. 15 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Análisis sensorial: Guía para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Parte I. Evaluadores seleccionados. NTC 4129. Bogotá. ICONTEC, 1997. 20 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Rotulado o etiquetado. Parte 2: rotulado Nutricional de alimentos envasados. NTC 512-2. Bogotá. ICONTEC, 2007. 36 p.

IQBAL, S. & BHANGER, M. Stabilization of sunflower oil y garlic extract during accelerated storage. En: Food Chem. Vol., 100. (2007); p. 246-254

JANG, J. & MOON, K. Inhibiton of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh cut Apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. En: Food Chemistry. Vol., 124. No 2 (2011); p. 444-449

JARAMILLO, S. *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Medellín, 2003, 98p. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agrícolas.

KAANANE, A., KANE, D., LABUZA, T.P. Time and temperatura effect on stability of Moroccan processed orange juice during storage. En: Journal of Food Science. Vol., 53. (1988); p.1470–1473, and 1489.

KABASAKALIS, V., SIOPIDOU, D. & MOSHATOU, E. Ascorbic acid content of commercial fruit juices and its rate of loss upon storage. En: Food Chemistry. Vol., 70. (2000); p. 325–328.

KEVERS, C., FALKOWSKI, M., TABART, J., DEFRAIGNE, J., DOMMES, J. & PINCEMAIL, J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 55. (2007); p. 8596–8603.

KLIMCZAK, I., MALECKA, M., SZLACHTA, M. & GLISZCZYŃSKA, A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. En: Journal of Food Composition and Analysis. Vol., 20. (2007); p. 313–322.

KLOPOTEK, Y., OTTO, K. & BOHM, V. Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 53. No 14 (2005); p. 5640-5646.

KUMAR-ROY, M., TAKENAKA, M., ISOBE, S. & TSUSHIDA, T. Antioxidant potential, anti-proliferative activities and phenolic content in water soluble fractions of some commonly consumed vegetables: effects of thermal treatments. En: Food Chemistry. Vol., 103. (2007); p. 106–114.

LAORKO, A., Tongchitpakdee, S. & Youravong, W. Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. En: Journal of Food Engineering. Vol., 116. (2013); p. 554–561.

LASSO, M. Propuesta para la creación de una cooperativa comercializadora de productos derivados del tomate de árbol orgánicos en el municipio de Funes, departamento de Nariño, Colombia. San Juan de Pasto, 2007, 175 p. Tesis de Especialización. Universidad de Nariño. Facultad de ciencias administrativas y económicas.

LATORRE, L. Y PANTOJA, A. Evaluación de tratamientos térmicos para la inactivación de las enzimas polifenol oxidasa y peroxidasa en el jugo de fique (*Furcraea gigantea* Vent.) producido en el departamento de Nariño. San Juan de Pasto, 2011, 70 p. Trabajo de investigación (Pregrado). Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

LEE, C., PENNESI, A., & DICKSON, M. Characterization of the cauliflower peroxidase isoenzyme. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 32. No 1 (1984); p. 18–21.

LEE, H., & COATES, G. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. En: Food Science and Technology. Vol., 36. (2003); p. 153-156.

LEMMENS, L., TIBÄCK, E., SVELANDER, C., SMOUT, C., AHRNÉ, L., LANGTON, M., ALMINGER, M. Thermal pretreatments of carrot pieces using different heating techniques: Effect on quality related aspects. En: Innovative Food Science & Emerging Technologies. Vol., 10. No 4 (2009); p. 522–529.

LI, S. & ZHANG, Q. Inactivation of *E. coli* 8739 in enriched soymilk using pulsed electric fields. En: Food Microbiology and Safety. Vol., 69. (2004); p. 169–174.

LINDMARK, H., & AKESSON, B. Antioxidative factors in milk. En: British Journal of Nutrition. Vol., 84. (2000); p. 103-110.

LISTER, C. E., MORRISON, S. C., KERKHOF, N. S., & WRIGHT, K. M. The nutritional composition and health benefits of New Zealand tamarillos. En: Crop & Food Research Confidential Report No. 1281. {En línea}. {11 Mayo de 2010}. Disponible en: <http://www.tamarillo.com/vdb/document/153N>.

LIU, R. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. En: American Journal of Clinical Nutrition. Vol., 1. (2003); p. 78-81.

LO SCALZO, R., IANNOCCARI, T., SUMMA, C., MORELLI, R., & RAPISARDA, P. Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. En: Food Chemistry. Vol., 3. (2004); p. 85, 1-47.

LÓPEZ, N. Influencia de la concentración Enzimática inicial en la cinética de desactivación térmica de Peroxidasa comercial. Monsalve Valdivia, Chile, 2003, 78p. Trabajo de investigación (pregrado). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos.

LOPEZ, P., SALA, F., DE LA FUENTE, J., CONDON, S., RASO, J. & BURGOS, J. Inactivation of peroxidase, lipoxygenase, and polyphenol oxidase by manothermosonication. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 42. No 2 (1994); p. 252-256.

LUIZ, R., MEDEIROS, T., & CLEMENTE, E. Kinetic of inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase of avocado (*Persea americana* Mill.). En: Ciênc. agrotec., Lavras. Vol., 31. No 6 (2007); p. 1766-1773.

MAEHLY, A. & CHANCE, B. The assay of catalase and peroxide. En: Interscience. Vol., 1. (1954); p.351-425.

MANSO, M., OLIVEIRA, F., OLIVEIRA, J. & FRIAS, J. Modeling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. En: International Journal of Food Science. Vol., 66. (2001); p. 328-331.

MARTÍN, J., SOLANES, E., BOTA, E. & SANCHO, J. Chemical and organoleptic changes in pasteurised orange juice. En: *Alimentaria*. Vol., 261. (1995); p. 59–63.

MARTÍNEZ, G., CIVELLO, P., CHAVES, A. & AÑÓN, M. C. Characterization of peroxidase-mediated chlorophyll bleaching in strawberry fruit. En: *Phytochemistry*. Vol., 58. No 3 (2001); p. 379–87.

MATSUI, K. N., GUT, J. A. W., DE OLIVEIRA, P. V., & TADINI, C. C. Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. En: *Journal of Food Engineering*. Vol., 88. No 2 (2008); p. 169–176.

MDLULI, K. Partial purification and characterisation of polyphenol oxidase and peroxidase from marula fruit (subsp. Caffra). En: *Food Chemistry*. Vol., 92. No 2 (2005); p. 311–323.

MERTZ, C., BRAT, P., CARIS-VEYRAT, C. & GUNATA, Z. Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). En: *Food Chemistry*. Vol., 119. (2010); p. 653–659

MERTZ, C., GANCEL, A., GUNATA, Z., PASCALINE, A., MAYER, C. & VAILLANT, F. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. En: *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol., 22. No 5 (2009); p. 381–387.

MIN, S., JIN, Z., MIN, S.K., YEOM, H. & ZHANG, Q. Commercial-scale pulsed electric fields. En: *Journal of Food Science*. Vol., 68. No 6 (2003); p. 1265–1271.

MORALES DE LA PEÑA, E., CHANDIA, V. & CISNEROS, L. Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from broccoli, green asparagus and carrots. En: *Journal of Food Science*. Vol., 67. No 1 (2002); p. 146-154.

MORALES, M., SALVIA, L., ROJAS, M. y MARTÍN, O. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice–soymilk beverage in chilled storage. En: *LWT-Food Science and Technology*. Vol., 43. (2010); p. 872–881.

MOSQUEDA-MELGAR, J., RAYBAUDI-MASSILIA, R. & MARTÍN-BELLOSO, O. Combination of high intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials to inactivate pathogenic microorganisms and extend the shelf-life of melon and water melon juices. En: *Food Microbiology*. Vol., 25. No 3 (2008); p. 479–491.

MURASAKI-ALIBERTI, N. D. C., DA SILVA, R. M. S., GUT, J. A. W., & TADINI, C. C. Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut

(*Cocos nucifera*) water. En: International Journal of Food Science & Technology. Vol., 44. No 12 (2009); p. 2662–2668.

MURILLO, E. 2002. Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de Té comercializadas en Costa Rica. Universidad de Panamá/Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT).

NAGY, S., CHEN, C., & SHAW, P. Fruit juice processing technology. Florida: Auburndale, Agscience. 1993. 145p.

NARVÁEZ-CUENCA, C. E. Extracción y medida de Peroxidasa en Pulpa de Arazá (*Eugenia stipitata* MC Vaugh). En: Quim. Nova. Vol., 31. No 8 (2008); p. 2047–2051.

NEIRA, A. Y YURI, J. El valor nutritivo de la Fruta. Boletín Técnico. POMACEAS. Universidad de Talca. Vol., 4. No 4 (2004); p.123.

NORTON, T. & SUN, D. Recent advances in the use of high pressure processing technique in the food industry. En: Food and Bioprocess Technology. Vol., 1. (2008); p. 2-34.

NOUR, V., TRANDAFIR, I. & IONICA, M. HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Conditions. En: Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. Vol., 38. No 1 (2010); p. 44-48.

ODRIOZOLA, I., SOLIVA, R., & MARTÍN, O. Changes of health-related compounds throughout cold storage of tomato juice stabilized by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. En: Innovative Food Science & Emerging Technologies. Vol., 9. No 3 (2007); p. 272–279.

ODRIOZOLA, I., SOLIVA, R., HERNÁNDEZ, T. & MARTÍN, O. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. En: Food Chemistry. Vol., 112. (2009); p. 258-266.

ODRIOZOLA-SERRANO, I., SOLIVA-FORTUNY, R. & MARTÍN-BELLOSO, O. Phenolic acids, flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high intensity pulsed electric field or heat treatments. En: European Food Research Technology. Vol., 228. No 2 (2008); p. 239-248

ONSA, G., BIN SAARI, N., SELAMAT, J., & BAKAR, J. Purification and characterization of membrane-bound peroxidases from Metroxylon sagu. En: Food Chemistry. Vol., 85. No 3 (2004); p. 365–376.

ORDÓÑEZ, R., VATTUONE, M. & ISLA, M. Changes in carbohydrate content and related enzyme activity during *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. fruit maturation. En: Postharvest Biology and Technology. Vol., 35. (2005); p. 293–301

OSORIO, C., HURTADO, N., DAWID, C., HOFMANN, T., HEREDIA, F. & MORALES, A. Chemical characterisation of anthocyanins in tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) and Andes berry (*Rubus glaucus* Benth.) fruits. En: Food Chemistry. Vol., 132. (2012); p. 1915–1921.

OSORIO, O., MARTÍNEZ, N., MORAGA, G. & CARBONELL, J. Effect of Thermal Treatment on Enzymatic Activity and Rheological and Sensory Properties of Strawberry Purees. En: Food Science and Technology International. Vol., 3. (2008); p. 123-135.

PALACE, V., KHAPER, N., QIN, Q. & SINGAL, P. Antioxidant potentials of vitamin a and carotenoids and their relevance to heart disease. En: Free Radical Biology & Medicine. Vol., 26. No 5/6 (1999); p. 746–761.

PASCAL, G. Functional foods in the European Union. En: Nutr. Rev. Vol., 3. (1996); p: 54:11.

PENNA, A., SUBBARAO, G. & BARBOSA, G. Effect of high hydrostatic pressure processing on rheological and textural properties of probiotic low-fat yogurt fermented by different starter cultures. En: Journal of Food Process Engineering. Vol., 29. No 5 (2006); p. 447-461.

PILJAC, J., VALEK, L., MARTINEZ, S., BELŠČAK, A. Fluctuations in the phenolic content and antioxidant capacity of dark fruit juices in refrigerated storage. En: Food Chemistry. Vol., 113. (2009); p. 394–400.

PLAZA, L., SÁNCHEZ, C., ELEZ, P., DE ANCOS, B., MARTÍN, O., & CANO, M. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. En: European Food Research and Technology. Vol., 223. (2006); p. 487-493.

POŁATA, H.; WILIŃSKA, A., BRYJAK, J. & POLAKOVIČ, M. Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. En: Journal of Food Engineering. Vol., 91. (2009); p. 387–391.

PRIOR, R. & CAO, G. Antioxidant Phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. En: Hortscience. Vol., 35. (2000); p. 588-592.

ProCHILE. Tendencias del consumidor europeo. {En línea}. {3 de octubre de 11}. Disponible en: <http://rc.prochile.gob.cl/informativos>.

PSZCZOLA, D. E. Ingredients. Making fortification. En: Food Technology. Vol., 59. (2005); p. 44-61.

RAIMBAULT, A., MARIE P., HORRY, J., FRANCOIS, M., ROMUALD, K., & SOLER, A. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (*Ananas comosus* L.) after a chilling injury. En: Journal of agricultural and food chemistry. Vol., 59. No 1 (2011); p. 342–348.

RAMIREZ, N. Optimización del proceso de elaboración de pulpa de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav), maximizando la retención de ácido ascórbico. En: Revista Universidad Técnica particular de Loja: Escuela de Ingeniería en Industrias Agropecuarias. Vol., 3. (2008); p.1-11.

RAMIREZ, S. Alimentos funcionales. En: Virtualpro. Vol., 101. (2010); p. 1-2.

RANI, D., & ABRAHAM, T. Kinetic study of a purified anionic peroxidase isolated from *Eupatorium odoratum* and its novel application as time temperature indicator for food materials. En: Journal of Food Engineering. Vol., 77. No 3 (2006); p. 594–600.

RAPEANU, G., VAN LOEY, A., SMOUT, C., & HENDRICKX, M. Thermal and high pressure inactivation kinetics of victoria grape polyphenol oxidase: from model systems to grape must. En: Journal of Food Process Engineering. Vol., 29. No 3 (2006); p. 269–286.

RASO J., GONGORA, M., BARBOSA, G. & SWANSON B. Influence of several environmental factors on the initiation of germination and inactivation of *Bacillus cereus* by high hydrostatic pressure International. En: Journal of Food Microbiology. Vol., 44. No1-2 (1998); p. 125-132.

RATTANATHANALERK, M., CHIEWCHAN, N. & SRICHUMPOUNG, W. Effect of thermal Processing on the Quality Loss of Pineapple Juice. En: Journal of Food Engineering. Vol., 66. (2009); p. 259-265.

RAWSON, A., PATRAS, A., TIWARI, B., NOCI, F., KOUTCHMA, T. & BRUNTON, N. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. En: Food Research International. Vol., 44. (2011); p. 1875–1887.

REINA, C. Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt.) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Neiva, 1998, 66p. Trabajo de investigación (pregrado). Universidad Sur Colombiana. Facultad de Ingeniería.

REDD, J.B., HENDRIX, C.M., HENDRIX, D.L. Quality Control Manual for Citrus Processing Plants. Florida, USA: Intercit, Inc, 1986.

REPO DE CARRASCO, R. Y ENCINA ZELADA, C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. En: Rev Soc Quím Perú. Vol., 74. No 2 (2008); p. 108-124.

RIVAS, A., RODRIGO, D., COMPANY, B., SAMPEDRO, F. & RODRIGO, M. 2007. Effects of pulsed electric fields on agua-soluble vitamins and ACE inhibitory peptides added to a mixed orange juice and milk beverage. En: Food Chemistry. Vol., 104. (2007); p. 1550-1559.

ROBARDS, K., PRENZLER, P., TUCKER, G., SWATSITANG, P. & GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. En: Food Chemistry. Vol., 66. (1999); p. 401–436.

ROBINSON, D. Peroxidases and catalases in foods. En: D.S. Robinson and N.A. Eskin, Editors, Oxidative enzymes in foods. London: Elsevier, 1991, 123p.  
RODRIGUEZ, D., BOBBIO, P. & BOBBIO, F. Carotenoid composition and vitamin A value of the Brazilian fruit *Cyphomandra betacea*. En: Food Chemistry. Vol., 12. No 1 (1983); p. 61–65.

ROE, SIMON. Protein Purification Techniques. Second Edition. Oxford: Oxford University Press, 2001. 240 p.

RUDRA, G., SHIVHARE, U., & BASU, S. Thermal inactivation kinetics of Peroxidase in mint leaves. En: Journal of Food Engineering. Vol., 85. No 1 (2008); p. 147–153.

ŞAHİN, S, & SOYSAL, Ç. Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. En: Ultrasonics Sonochemistry. Vol., 18. (2011); p. 689–695.

SALAMANCA, G., OSORIO, P. Y MONTOYA, L. Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de borojó (*Borojoa patinoi Cuatrec*). En: Rev Chil Nutr. Vol., 37. No 1 (2010); p. 87-96.

SALVIA, L., MORALES, M., ROJAS, M & MARTÍN, O. Microbial and enzymatic stability of fruit juice-milk beverages treated by high intensity pulsed electric fields or heat during refrigerated storage. En: Food Control. Vol., 22 (2011); p. 1639-1646.

SAMPEDRO, F., GEVEKE, D., FAN, X. & ZHANG, H. Effect of PEF, HHP and thermal treatment on PME inactivation and volatile compounds concentration of an orange juice-milk based beverage. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 10 (2009); p. 463-469.

SAMPEDRO, F., RODRIGO, D. & HENDRICKX, M. Inactivation kinetics of pectin methyl esterase under combined thermal-high pressure treatment in an orange juice-milk beverage. En: Journal of Food Engineering. Vol., 86 (2008); p. 133-139.

SAN MARTIN, M., BARBOSA, G. & SWANSON, B. Food processing by high hydrostatic pressure. En: Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol., 42. No 6 (2002); p. 627-645.

SÁNCHEZ, C., PLAZA, L., DE ANCOS, B. & CANO, M. Impact of high-pressure and traditional thermal processing of tomato puree on carotenoids, vitamin C and antioxidant activity. En: Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol., 86. No 2 (2006); p. 171–179.

SANCHEZ-MORENO, C., PLAZA, L., DE ANCOS, B. & CANO, P. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 51. (2003); 647–653.

SÁNCHEZ-MORENO, C., PLAZA, L., ELEZ-MARTÍNEZ, P., DE ANCOS, B., MARTÍN-BELLOSO, O. & CANO, P. Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant capacity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. En: Journal of Agriculture and Food Chemistry. Vol., 53. No 11 (2005); p. 4403–4409.

SATUÉ, M., FRANKEL, E., RANGAVAIJHYALA, N., & GERMAN, J. Lactoferrin in infant formulas: effect on oxidation. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 48. (2000); p. 4984-4990.

SAUNDERS B. S., HOLMES-SIEDLE A.G., STACK B. P. Peroxidase. The Properties and Uses of Versatile Enzymes and Some Related Catalysts. London: Butterworths, 1964, 135 p.

SCHREIER, P. & MILLER, E. Studies on flavonoid degradation by peroxidase: quercetin. En: Food Chemistry. Vol., 17. (1985); p. 301-317.

SCHWEIGGERT, U., SCHIEBER, A., & CARLE, R. Inactivation of peroxidase, polyphenoloxidase, and lipoxygenase in paprika and chili powder after immediate thermal treatment of the plant material. En: Innovative Food Science & Emerging Technologies. Vol., 6. No 4 (2005); p. 403–411.

SECRETARIA DE AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE DE NARIÑO. Consolidado agropecuario, San Juan de Pasto. 2010. p: 105.

SEPULVEDA, D., ORTEGA, E., & BARBOSA, G. Quality aspects of cheddar cheese obtained with milk pasteurized by pulsed electric fields. En: Journal of Institution of Chemical Engineers. Vol., 78. (2000); p. 65-71.

SHAW, P. E. Shelf-life and aging of citrus juices, juice drinks and related soft drinks. In J. B. Redd, P. E. Shaw, Jr., C. M. Hendrix, & D. L. Hendrix (Eds.), Quality control manual for citrus processing plants (pp. 173–199). Florida: Auburndale, Agscience, 1992.

SHI, H., NOGUCHI, N. & NIKY, E. Natural antioxidants. En Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M (Eds.) Antioxidants in food practical application. CRC. Cambridge, RU, 2001, 230p.

SIDDHURAJU, P. & BECKER, K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. En: Food Chemistry. Vol., 101. No 1 (2007); p. 10-19.

SIES, H., STAHL, W., & SUNDQUIST, A. Antioxidant functions of vitamins: Vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. En: Annals of the New York Academy of Sciences. Vol., 669. (1992); p. 7-20.

SINGLETON, V. L., & ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. En: American Journal of Enology and Viticulture. Vol., 16. (1965); p. 144-158.

SIONG, T. & CHIN, L. Analysis of Carotenoids in Vegetables by HPLC. En: ASEAN Food Journal. Vol., 7. No 2 (1992); p. 91- 99.

SONG, H., BYUN, M., JO, C., LEE, C., KIM, K. & KIM, D. Effects of gamma irradiation on the microbiological, nutritional, and sensory properties of fresh vegetable juice. En: Food Control. Vol., 18. No 1 (2007); p. 5-10.

SOYSAL, Ç., & SÖYLEMEZ, Z. Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. En: Journal of Food Engineering. Vol., 68. No 3 (2005); p. 349–356.

SOYSAL, C., SOYLEMEZ, Z. & BOZOGLU, F. Effect of high hydrostatic pressure and temperature on carrot peroxidase inactivation. En: Eur Food Res Technol. Vol., 218. (2004); p. 152–156.

STEIJNS, J. & VAN, A. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. En: British Journal of Nutrition. Vol., 84. (2000); p. 11-17.

TABARES, C. Y VELÁSQUEZ, J. Estudio de la vida de anaquel del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) osmodeshidratado empacado en atmósferas modificadas. Manizales, 2003, 114p. Trabajo de investigación (pregrado de Ing. Química). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería.

TAKEOKA, G., DAO, L., FLESSA, S., GILLESPIE, D. & JEWELL, W., HUEBNER, B. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 49. No 8 (2001); p. 3713–3717.

TEREFE, N., YANG, Y., KNOERZER, K., BUCKOW, R. & VERSTEEG, C. High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. En: Innovative Food Science & Emerging Technologies. Vol., 11. No 1 (2010); p. 52–60.

TERPINC, P. & ABRAMOVIC, H. A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolic acids. En: Food Chemistry. Vol., 121. No 2 (2010); p. 366-371.

THONGSOOK, T., & BARRETT, D. Purification and partial characterization of broccoli (*Brassica oleracea* Var. Italica) peroxidases. En: Journal of agricultural and food chemistry. Vol., 53. No 8 (2005); p. 3206–14.

THONGSOOK, T., WHITAKER, J. R., SMITH, G. M., & BARRETT, D. M. Reactivation of broccoli peroxidases: structural changes of partially denatured isoenzymes. En: Journal of agricultural and food chemistry. Vol., 55. No 3 (2007); p. 1009–18.

TIJSKENS, L., RODIS, P., HERTOOG, M., WALDRON, K., INGHAM, L., PROXENIA, N. & VAN DIJK, C. Activity of peroxidase during blanching of peaches, carrots and potatoes. En: Journal of Food Engineering. Vol., 34. No 4 (1997); p. 355–370.

TONG, L., SASAKI, S., MCCLEMENTS, D., & DECKER, E. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 48. (2000); p. 1473-1478.

TORREGROSA, F.; ESTEVE, M.; FRÍGOLA, A. & CORTÉS, C. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. En: Journal of Food Engineering. Vol., 73. (2006); p. 339–345.

TRUJILLO, L., MORALES, M., ROJAS, M. & MARTÍN, O. Microbial and enzymatic stability of fruit juice-milk beverages treated by high intensity pulsed electric fields or heat during refrigerated storage. En: Food Control. Vol., 22. (2011); p. 1639-1646.

VANDERJAGT, D., OKOLO, S., COSTANZA, A., BLACKWELL, W., & GLEW, R. Antioxidant content of the milk of Nigerian women and the sera of their exclusively breast-fed infants. En: Nutrition Research. Vol., 21. (2001); p. 121-128.

VANKERSCHAUER K., WILCOX F., SMOUT C., HENDRICKX M. Y TOBBACK P. The influence of temperature and gas mixtures on the growth of the intrinsic microorganisms on cut endive: predictive versus actual growth. En: Food Microbiol. Vol., 13. (1996); p. 427–440.

VARELA-SANTOS, E.; OCHOA-MARTINEZ, A.; TABILO-MUNIZAGA, G.; REYES, J.; PÉREZ-WON, M.; BRIONES-LABARCA, V.; MORALES-CASTRO, J. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 13. (2012); p. 13–22

VASQUEZ, A.; SCHILLING, S.; CARLE, R. & NEIDHART, S. Effects of thermal processing and fruit matrix on  $\beta$ -carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into puree and nectar. En: Food Chemistry. Vol., 102. (2007); p. 1172–1186.

VELÁZQUEZ-ESTRADA, R., HERNÁNDEZ-HERRERO, M.M., GUAMIS-LÓPEZ, B. & ROIG-SAGUÉS, A.X. Impact of ultra high pressure homogenization on pectin methylesterase activity and microbial characteristics of orange juice: A comparative study against conventional heat pasteurization. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 13. (2012): p. 100–106

VERA DE ROSSO, V. & MERCADANTE, A. HPLC–PDA-MS/MS of anthocyanins and carotenoids from Dovyalis and Tamarillo fruits. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 55. No 22 (2007); p. 9135–9144.

WALSTRA, P. & JANNES, R. Variabilidad. En: Química y Física Lactológica. Zaragoza: Editorial Acribia S.A., 1987. 423p.

WENG, W. & CHEN, J. The Eastern Perspective on Functional Foods Based on Traditional Chinese Medicine. En: Nutr. Rev. Vol., 54. No 11 (1996); p. 11-16.

WHITAKER, J. Enzymes: Monitors of food stability and quality. En: Trends in Food Science & Technology. Vol., 2. (1994); p. 94-97.

WILLIAMS, C. Healthy eating: clarifying advice about fruit and vegetables. En: British Medical Journal. Vol., 310. (1995); 1453-1455.

WROLSTAD, R. & HEATHERBELL, D. Identification of anthocyanins and distribution of flavonoids in tamarillo fruit (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendt.). En: Journal of the Science of Food Agriculture. Vol., 25. No 10 (1974); p. 1221–1228.

XIAMIN C., XIUFANG B., WENSHU H., JIHONG W., XIAOSONG H. & XIAOJUN L. Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear

strawberry juices during storage. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 16. (2012); p. 181–190.

YEOM, H., STREAKER, C., ZHANG, Q. & MIN, D. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol., 48. (2000); p. 4597–4605.

YOSHIOKA, V., PENA, E., PINERES, J. y CANO, C. Caracterización de la cadena láctea en el departamento de Nariño: Perfil social, económico y productivo e interacciones de los productores de leche, acopiadores y transformadores de derivados lácteos en Colombia. 2003. 78p.

ZEPKA, L. & MERCADANTE, A. Degradation compounds of carotenoids formed during heating of a simulated cashew apple juice. En: Food Chemistry. Vol., 117. (2009); p. 28–34.

ZERDIN, K., ROONEY, M. & VERMUE, J. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. En: Food Chemistry. Vol., 82. (2003); p. 387–395.

ZHONG, K., WU, J., WANG, Z., CHEN, F., LIAO, X., HU, X., & ZHANG, Z. Inactivation kinetics and secondary structural change of PEF-treated POD and PPO. En: Food Chemistry. Vol., 100. No 1 (2007); p. 115–123.

ZHOU, Y., DAHLER, J., UNDERHILL, S., & WILLS, R. Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. En: Food Chemistry. Vol., 80. No 4 (2003); p. 565–572.

ZULUETA, A., ESTEVE, M. & FRÍGOLA, A. Ascorbic acid in orange juice–milk beverage treated by high intensity pulsed electric fields and its stability during storage. En: Innovative Food Science and Emerging Technologies. Vol., 11. (2010); p. 84–90.

ZULUETA, A., ESTEVE, M., FRASQUET, I. & FRÍGOLA, A. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. En: Food Chemistry. Vol., 103. (2007); p. 1365–1374.

# **ANEXOS**

## Anexo 1. METODOLOGIAS DE EXTRACCION DE PEROXIDASA

PRODUCTO	PROPORCION			Aditivo	CENTRIFUGACION				REFERENCIA
	Tejido (g)	Buffer (mL)	[Buffer]		Velocidad	Tiempo (min)	T (°C)	Fracción	
Zanahoria	2	1			12000 r/min	15	4	Sobrenadante	(Soysal & Söylemez, 2005)
	20	100			18000 g	30	4	Sobrenadante	(Morales, Chandia, & Cisneros, 2006)
Calabaza	1	3			1000 g	15	4	Sobrenadante	(Agüero, Ansorena, Roura, & Del Valle, 2008)
Sandia	1	4			15000 r/min	15	4	Sobrenadante	(Avallone, Cravzov, Montenegro, & Pellizzari, 2000)
Arazá	1	3			12000 r/min	15	4	Sobrenadante	(Narváez-Cuenca, 2008)
Hojas de Menta	1	3			18000 r/min	0.5	4	Sobrenadante	(Rudra Shalini, Shivhare, & Basu, 2008)
Té de Mate	40	90	0,05 M	PVP 3% (w PVP/ w hojas)	11000 g	30	4	Sobrenadante	(Ceni et al., 2008)
Tomillo	1	10			20000 g	30	4	Sobrenadante	(DOGAN & DOGAN, 2004)
Uchuva – Lulo	1	1			4000 g	60	4	Sobrenadante	(Durango, Muñoz, Ocampo, & Londoño, 2007)
Aguacate	1	2			12000 r/min	20	4	Sobrenadante	(Luiz, Medeiros, & Clemente, 2007)
Lechuga	1	8			32000 g	20	4	Sobrenadante	(Gawlik-Dziki, et al., 2007)
Brócoli	1	8			32000 g	20	4	Sobrenadante	(Gawlik-Dziki, et al., 2007)
	1	4			Filtración con tela		4	Sobrenadante	
Brócoli	1,5	100	0,2 M		18000 g	30	4	Sobrenadante	(Morales et al., 2006)
Brócoli	1	4	50 mM		10000 r/min	15	4		Trejo y Guerrero (2011)
Espárragos Verdes	30	100			18000 g	30	4	Sobrenadante	(Morales et al., 2006)
Uvas	2	1			4000 g	15	4	Sobrenadante	(Rapeanu, Van Loey, Smout, & Hendrickx, 2006)
Fresa	10	40			8000 g	15	4	Precipitado	(Civello, Martinez, Chaves, & Anon, 1995)
Guayaba	3	25			6000 g	20	4	Sobrenadante	(Ganjloo, Rahman, Bakar, Osman, & Bimakr, 2009)
Manzanas			50 mM	PVP 50g/L	16000 g	30	4	Sobrenadante	(Jang & Moon, 2011)
Judías verdes y guisantes	30	70			Filtro		4	Sobrenadante	(Akyol, Alpas, & Bayındırlı, 2006)
Zanahorias	30	40			Filtro		4	Sobrenadante	(Akyol et al., 2006)
Puré de fresa	4,5	4,5	0,2 M	PVP (4% P/V),	14000 g	30	4	Sobrenadante	(Terefe, Yang, Knoerzer, Buckow,

				Triton X-100, NaCl 1 M					& Versteeg, 2010)
Puré de fresa	10	20	0,2 M	PVP (w/v) y Tritón X-100 (v/v)	5000 r/min	30	4	Sobrenadante	(Osorio Mora, 2008)
Piña	5	20	100 mM		12000 r/min	20	4	Sobrenadante	(Zhou, Dahler, Underhill, & Wills, 2003)
Berro de agua	3	100			18000 g	30	4	Sobrenadante	(Cruz, Vieira, & Silva, 2006)
Kiwi	1	2	50 mM	NaCl 1M y 2% PVPP	16000 g	20	4	Sobrenadante	(Fang, Jiang, & Zhang, 2008)
Duraznos	3	9	50 mM	Polyclar 1%	13000g	10	4	Sobrenadante	(Tijskens et al., 1997)
Zanahorias	2	100	Sln NaCl 1M		7000 r/min	15	4	Sobrenadante	(Gonçalves, Pinheiro, Abreu, Brandão, & Silva, 2010)
Hojas de Menta	35	100	0,1 M		6000 r/min	20	4	Sobrenadante	(Rudra Shalini et al., 2008)
Nabos			10 mM		12000 g	15	4	Sobrenadante	(Duarte-Vázquez, Whitaker, Rojo- Dominguez, García-Almendárez, & Regalado, 2003)

## Anexo 2. METODOLOGIAS DE MEDICION DE PEROXIDASA

Material	Cantidad de extracto	Cantidad de sln. Sustrato	pH	Absorbancia	Sustratos	[ ]	Cantidad de sustrato	Fuente
Calabaza	0,1 mL	2,9 mL	6,5	470	Guayacol Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1 mL/100 mL 0,05 M  0,3 mL/100 mL	10 mL 10 mL 1 mL	(Agüero et al., 2008)
Té de Mate	50 µL	2,75 mL	4	470	Sln. Guayacol+ Tween 80 Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,1 M  0,05 M 2mM	100 µL  100 µL	(Ceni et al., 2008)
Brócoli, espárragos verdes y zanahorias	0,120 mL	3,48 mL	6,5	470	Guayacol Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,5% 0,1 M 30%	0,1 mL 99,8 mL 0,1 mL	(Morales et al., 2006)
Brócoli	20 µL	2980 µL	7	470	Guayacol Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,5% 0,2 M 0,5%	500 µL 2300 µL 180 µL	Trejo y Guerrero (2011)
Zanahorias	0,100 mL	1,200 mL	6,5	470	Sln Buffer (0,1 M) con 1% de Guayacol  Sln Buffer (0,1 M) con 1% de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		1,075 mL  0,125 mL	(Lemmens et al., 2009)
Coco verde	1 mL	9 mL	5,5	470	Guayacol Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,5 g/L	1,5 mL 7 mL 0,5 mL	(Murasaki-Aliberti, Da Silva, Gut, & Tadini, 2009)

Brócoli	50 µL	1,5 mL	6	420	Guayacol Buffer Acetato H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50 mM 50 mM 10 mM		(Thongsook, Whitaker, Smith, & Barrett, 2007)
Metroxylon Sagu	0,1 mL	2,9 mL	4,5	420	Guayacol Buffer Acetato H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,03M 0,1 M	1 mL 1,8 mL 0,1 mL	(Onsa, Bin Saari, Selamat, & Bakar, 2004)
Fresa	0,3 mL	2, 7 mL	6	470	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Guayacol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.02 M 0.08 M 20 mM 4 mM		(Civello et al., 1995)
Puré de fresa	100 µL	3,1 mL	6,6	485	Buffer Fosfato p-fenilendiamina al H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,05 1% (w/v) 1,5%	2,7 mL 0,2 mL 0,1 mL	(Osorio Mora, 2008)
Piña	0,2 mL		5	470	Buffer citrato Guayacol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,2M 18mM 2mM		(Raimbault et al., 2011)
Guayaba	0,12 mL	3,48 mL	6,5	470	Buffer fosfato de potasio Guayacol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,1 M 30%	99,8 mL 0,1 mL 0.1 mL	(Ganjloo et al., 2009)
Manzana			5	475	Buffer fosfato Guayacol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50mM 20mM 40 mM		(Jang & Moon, 2011)

Judías verdes y guisantes	0,1 mL	3,5 mL	6,5	470	Buffer fosfato Guayacol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,5% 30%	99 mL 0,5 mL 0,5 mL	(Akyol et al., 2006)
Puré de fresa	200 µL	1,9 mL	6,5	485	Buffer fosfato p-Fenilendiamina H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,05 M 1% 1,5%	1,5 mL 200 µL 200 µL	(Terefe et al., 2010)
Zanahorias	0,1 mL	2,9 mL	6,0	460	Buffer fosfato de potasio H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O-dianisidina en metanol	0,1 M 0,1% 0,25% (w/v)	2,7 mL 0,1 mL 0,1 mL	(Soysal, Söylemez, & Bozoglu, 2004)
Piña	0,1 mL	2,9 mL	5	446	Buffer fosfato de potasio+ o-fenilendiamina dihidroclorada H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,4 mg/mL 30%	100 mL 1 µL	(Zhou et al., 2003)
Berro de agua	120 µL	3,48 mL	6,5	470	Guayacol Buffer fosfato de potasio H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	99,5% 0,1 M 30%	0,1 mL 99,8 mL 0,1 mL	(Cruz et al., 2006)
Kiwi	0,1 mL	2,9 mL	6,5	430	p-fenilendiamina Buffer fosfato H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1% (w/v) 10 mM 3% (v/v)	0,2 mL 2,5 mL 0,2 mL	(Fang et al., 2008)
Rábano	0,1 mL	5,9 mL	5,6	478	Guayacol		28 µL	(Zhong et al., 2007)

					Buffer Acetato	0,1 M	100 mL	
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	30%	7 µL	
Brócoli	50 µL	1,5 mL	6	420	Guayacol	50 mM		(Thongsook & Barrett, 2005)
					Buffer Tris-Acetato	50 mM		
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 mM		
Duraznos	50 µL	3,3 mL	5,5	470	o-dianisidina		50 µL	(Tijskens et al., 1997)
					Buffer Tris-Acetato	50 mM	2,7 mL	
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		100 µL	
Zanahoria				470	Guayacol			(Gonçalves et al., 2010)
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>			
Calabaza				470	Guayacol			(Gonçalves, Pinheiro, Abreu, Brandão, & Silva, 2007)
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>			
Hojas de menta	0,12 mL	3,48 mL	6,5	470	Guayacol	99,5%	0,1 mL	(Rudra Shalini et al., 2008)
					Buffer	0,1 M	99,8 mL	
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	30%	0,1 mL	
Fresas	0,1 mL	2,25 mL	7	470	Buffer Citrato+ Guayacol	0,01M - 1% (v/v)	2 mL	(Chisari, Barbagallo, & Spagna, 2007)
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	32mM	0,25 mL	
Coliflor	50 µL	2 mL	6,5	470	Guayacol	10 mM		(Lee, Pennesi, & Dickson, 1984)
					Buffer Citrato	0,2 M	2 mL	
					H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 mM		

Nabos	50 $\mu$ L	1,5 mL	6	414	ABTS Buffer Citrato H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1 mM 10 mM 5 mM		(Duarte-Vázquez et al., 2003)
Agua de coco	1 mL	8,6 mL	6	405	ABTS Buffer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,02M  1 M	0,8 mL 7 mL 0,8 mL	(Matsui, Gut, De Oliveira, & Tadini, 2008)

**Anexo 3. MATRIZ DE DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA ESTANDARIZACIÓN DEL PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y MEDICIÓN ENZIMÁTICA DE POD**

<b>Bloques</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Cantidad Pulpa (%)</b>	<b>Volumen de Extracto enzimático (µL)</b>
1	20	35	60
1	30	20	90
1	37	35	60
1	10	50	30
1	10	20	90
1	30	50	90
1	20	35	10
1	3	35	60
1	10	20	30
1	20	35	60
1	30	50	30
1	20	10	60
1	30	20	30
1	20	35	110
1	10	50	90
1	20	60	60
2	20	35	60
2	30	20	90
2	37	35	60
2	10	50	30
2	10	20	90
2	30	50	90
2	20	35	10
2	3	35	60
2	10	20	30
2	20	35	60
2	30	50	30
2	20	10	60
2	30	20	30
2	20	35	110
2	10	50	90
2	20	60	60

**Anexo 4. MATRIZ DE DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EVALUAR EL EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS TÉRMICOS SOBRE LA ACTIVIDAD RESIDUAL DE POD**

<b>Bloque</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (s)</b>
1	90	60
1	78	68
1	65	20
1	65	60
1	78	12
1	60	40
1	90	20
1	95	40
1	78	40
1	78	40
2	90	60
2	78	68
2	65	20
2	65	60
2	78	12
2	60	40
2	90	20
2	95	40
2	78	40
2	78	40
3	90	60
3	78	68
3	65	20
3	65	60
3	78	12
3	60	40
3	90	20
3	95	40
3	78	40
3	78	40

## Anexo 5. HOJAS DE RESPUESTA DE LA PRUEBA SENSORIAL AFECTIVA DE LA BEBIDA

**EVALUACION SENSORIAL DE UNA BEBIDA DE LECHE Y TOMATE DE ARBOL.**

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** A continuación se presentan tres muestras de Bebida de leche y tomate de árbol identificadas con códigos 122, 340 y 430, marque con una X su preferencia con respecto al OLOR.

CARACTERISTICAS	OLOR		
	122	340	430
Me gusta mucho			
Me gusta			
Indiferente			
Me disgusta			
Me disgusta mucho			

Observaciones: \_\_\_\_\_

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**EVALUACION SENSORIAL DE UNA BEBIDA DE LECHE Y TOMATE DE ARBOL.**

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** A continuación se presentan tres muestras de Bebida de leche y tomate de árbol identificadas con códigos 122, 340 y 430, marque con una X su preferencia con respecto al COLOR.

CARACTERISTICAS	COLOR		
	122	340	430
Me gusta mucho			
Me gusta			
Indiferente			
Me disgusta			
Me disgusta mucho			

Observaciones: \_\_\_\_\_

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**EVALUACION SENSORIAL DE UNA BEBIDA DE LECHE Y TOMATE DE ARBOL.**

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** A continuación se presentan tres muestras de Bebida de leche y tomate de árbol identificadas con códigos 122, 340 y 430, marque con una X su preferencia con respecto al SABOR.

CARACTERISTICAS	SABOR		
	122	340	430
Me gusta mucho			
Me gusta			
Indiferente			
Me disgusta			
Me disgusta mucho			

Observaciones: \_\_\_\_\_

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

**EVALUACION SENSORIAL DE UNA BEBIDA DE LECHE Y TOMATE DE ARBOL.**

FECHA: \_\_\_\_\_ HORA: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** A continuación se presentan tres muestras de Bebida de leche y tomate de árbol identificadas con códigos 122, 340 y 430, en cuanto a VISCOSIDAD marque con una X la calificación que usted asigne a la muestra.

CARACTERISTICAS	VISCOSIDAD		
	122	340	430
Me gusta mucho			
Me gusta			
Indiferente			
Me disgusta			
Me disgusta mucho			

Observaciones: \_\_\_\_\_

**GRACIAS POR SU COLABORACIÓN**

## Anexo 6. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=1)

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>		Código: LBE-PRS-FR-76		
			Página: 1 de 1		
			Versión: 1		
	<b>REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA</b>		Vigente a partir de: 26/04/2010		

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-061A-13
Solicitante:	Margareth Santander	Muestra	Pulpa de Tomate. M 1	Código lab	369
Dirección:	Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia	Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño		
cc / nit:	1.085.280.948	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
Teléfono:	301 276 7764	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail	marguis_santander@hotmail.com	Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Potasio, Hierro, Acidez			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Pulpa de Tomate. M 1
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	88,3
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	11,7
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,56
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,52
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	6,45
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	8,76
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	27,4
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	305
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,23
Acidez (g ácido cítrico/100g)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	1,51
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,25

<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449
PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO	

  
 Laboratorio de Bromatología  
 Gloria Sandra Espinosa Narváez  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
 Revisó: GSE                      2013-06-20

## Anexo 7. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=2)

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>		Código: LBE-PRS-FR-76		
			Página: 1 de 1		
			Versión: 1		
	REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Vigente a partir de: 26/04/2010		

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA	Reporte No.	LB-R-061B-13	
Solicitante: Margareth Santander		Muestra Pulpa de Tomate. M 2	Código lab	370	
Dirección: Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto		Procedencia Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño			
cc / nit: 1.085.280.948					
Teléfono: 301 276 7764		Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail		Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
marguis_santander@hotmail.com		Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Potasio, Hierro, Acidez			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Pulpa de Tomate. M 2
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	88,7
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	11,3
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,50
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,53
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	6,40
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	10,2
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	23,0
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	335
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,32
Acidez (g ácido cítrico/100g)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	1,44
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,26

<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449

PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO

  
 Gloria Sandra Espinosa Narváez  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE 2013-06-20  
 Revisó: GSE 2013-06-20

## Anexo 8. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA PULPA (n=3)

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>		Código: LBE-PRS-FR-76	
			Página: 1 de 1	
			Versión: 1	
	<b>REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA</b>		Vigente a partir de: 26/04/2010	

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-061C-13
Solicitante:	Margareth Santander	Muestra	Pulpa de Tomate. M 3	Código lab	371
Dirección:	Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño			
cc / nit:	1.085.280.948				
Teléfono:	301 276 7764	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail	marguis_santander@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
		Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Proteína, Azúcares totales, Calcio, Fósforo, Potasio, Hierro, Acidez			
PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LIMITE DE DETECCIÓN	Pulpa de Tomate. M 3
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	88,8
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	11,2
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,50
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,53
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	5,82
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	11,3
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	23,0
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	353
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,21
Acidez (g ácido cítrico/100g)	NTC 4623	Volumétrica	g/100g	-	1,37
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,67
<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA				
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449				
PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO					

  
 Gloria Sandra Espinoza  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
 Revisó: GSE                      2013-06-20

## Anexo 9. RESULTADOS PRUEBAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA LECHE UHT DESCREMADA (n=1)

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS		Código: LBE-PRS-FR-75	
			Página: 1 de 1	
			Versión: 1	
	REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Vigente a partir de: 26/04/2010	

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-061D-13
Solicitante:	Margareth Santander	Muestra:	Leche. M 1	Código lab	372
Dirección:	Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia: Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Nariño			
cc / nit:	1.085.280.948				
Teléfono:	301 276 7764	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail	marguis_santander@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
		Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Azúcares totales, Calcio, Acidez			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Leche. M 1
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	90,07
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	9,93
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,56
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	5,08
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	123
Acidez (g ácido láctico/100g)	NTC 4978	Volumétrica	g/100g	-	0,15
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,20

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA.
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100 2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IONET CO-SE-CER 110449

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO

  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Gloria Sabera Espinosa  
 Abonos  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE      2013-06-20  
Revisó: GSE      2013-06-20

## Anexo 10. RESULTADOS PRUEBAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA LECHE UHT DESCREMADA (n=2)

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS		Código: LBE-PRS-FR-76		
			Página: 1 de 1		
			Versión: 1		
	REPORTES DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Vigente a partir de: 25/04/2010		

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-061E-13
Solicitante:	Margareth Santander	Muestra:	Leche. M 2	Código lab	373
Dirección:	Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia: Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño			
cc / nit:	1.085.280.948				
Teléfono:	301 276 7764	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail:	marquis_santander@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
		Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Azúcares totales, Calcio, Acidez			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Leche. M 2
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	90,08
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	9,92
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,55
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	5,16
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	118
Acidez (g ácido láctico/100g)	NTC 4978	Volumétrica	g/100g	-	0,16
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	0,99

<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icootec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icootec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449

PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO

  
 Laboratorio de Bromatología  
 Gloria Saldaña Espinosa (Nancy)  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Universidad de Nariño  
 Orgánicos

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
Revisó: GSE                      2013-06-20

# Anexo 11. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN LA PULPA DE TOMATE DE ARBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO (n=1)



Universidad de Nariño  
SECCIÓN DE LABORATORIOS Y EQUIPOS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA  
Nit. 800118954 - I



 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 11/01/2013

## LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	02 de Abril de 2013	Reporte No:	LMR51-2013
Hora toma muestra:	11:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13-51
Fecha de Recepción:	02 de Abril de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	2.:45 p.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	08 de Abril de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Pulpa de Tomate Pasterurizada	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Observaciones:	Muestra N° 1	Sitio de toma:	Planta Piloto
		Motivo de Análisis:	Estudio

## RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO	VR. ADMISIBLE SEGÚN RESOLUCION N°7992/91 JUGOS Y PULPAS PASTEURIZADAS
Recuento de Microorganismos Mesófilos ufc/g	1000	1000- 3000
Número más probable de Coliformes Totales/g	Menor de 3	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3	Menor de 3
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10	Menor de 10
Recuento total de Hongos /g	Menor de 10	100 - 200

  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio de Microbiología  
 Estado de Alimentos  
 Registro No 125

## Anexo 12. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS EN LA PULPA DE TOMATE DE ARBOL PARA DETERMINAR LA EFECTIVIDAD DEL TRATAMIENTO TÉRMICO (n=2)



Universidad de Nariño  
SECCIÓN DE LABORATORIOS Y EQUIPOS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA  
Nit. 800118954 - 1



GP-CER112002 NTC-ISO 9001:2008

 Universidad de Nariño	SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 2
		Vigente a partir de: 11/01/2013

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	02 de Abril de 2013	Reporte No:	LMR52-2013
Hora toma muestra:	11:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13-52
Fecha de Recepción:	02 de Abril de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	2:45 p.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	08 de Abril de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Pulpa de Tomate Pasterurizada	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Observaciones:	Muestra N° 2	Sitio de toma:	Planta Piloto
		Motivo de Análisis:	Estudio

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	VALOR ENCONTRADO	VR. ADMISIBLE SEGÚN RESOLUCION N°7992/91 JUGOS Y PULPAS PASTEURIZADAS
Recuento de Microorganismos Mesófilos ufc/g	2.500	1000- 3000
Número más probable de Coliformes Totales/g	Menor de 3	Menor de 3
Número más probable de Coliformes Fecales/g	Menor de 3	Menor de 3
Recuento Esporas Clostridium Sulfito Reductor	Menor de 10	Menor de 10
Recuento total de Hongos / Levaduras/g	Menor de 10	100 - 200

**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 13. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=1)

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>	Código: LBE-PRS-FR-76
	<b>REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA</b>	Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de: 26/04/2010

DATOS USUARIO	DATOS MUESTRA	Reporte No.	LB-R-061F-13
Solicitante: Margareth Santander	Muestra: Bebida láctea de Tomate. M 1	Código lab	374
Dirección: Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia: Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño		
cc / nit: 1.085.280.948			
Teléfono: 301 276 7764	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20	
e-mail: marguis_santander@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20	
	Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20	

<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>	Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Azúcares totales, Calcio, Acidez
----------------------------	--

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Bebida láctea de Tomate. M 1
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	85,1
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	14,9
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,46
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,79
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	9,25
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	51,3
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	51,1
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	151
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,05
Acidez (g ácido láctico/100g)	NTC 4978	Volumétrica	g/100g	-	0,68
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,09

<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CQ-SE-CER 110449

PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO


**Laboratorio de Bromatología y Alimentos Orgánicos**  
 Gloria Sandra Espinosa Narváez  
 Téc. Laboratorio Bromatología

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
 Revisó: GSE                      2013-06-20

Ciudad Universitaria - Torobajo - Telf 7314477 - 7311449 ext 222, 256 - San Juan de Pasto - Colombia. email: labrom-abonosudenar.edu.co

## Anexo 14. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=2)

 Universidad de Nariño	SECCIÓN DE LABORATORIOS		Código: LBE-PRS-FR-76		
			Página: 1 de 1		
			Versión: 1		
	REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA		Vigente a partir de: 26/04/2010		

DATOS USUARIO		DATOS MUESTRA		Reporte No.	LB-R-061G-13
Solicitante:	Margareth Santander	Muestra:	Bebida láctea de Tomate. M 2	Código lab	375
Dirección:	Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia:	Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño		
cc / nit:	1.085.280.948				
Teléfono:	301 276 7764	Fecha de Muestreo	AA 13 MM 05 DD 20		
e-mail:	marguis_santander@hotmail.com	Fecha Recepción Muestra	AA 13 MM 05 DD 20		
		Fecha Reporte	AA 13 MM 06 DD 20		
ANÁLISIS SOLICITADO		Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Azúcares totales, Calcio, Acidez			

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LIMITE DE DETECCION	Bebida láctea de Tomate. M 2
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	85,1
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	14,9
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,23
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,81
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	8,79
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	52,9
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	47,6
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	164
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,08
Acidez (g ácido láctico/100g)	NTC 4978	Volumétrica	g/100g	-	0,68
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,33

OBSERVACIONES	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
Aseguramiento de Calidad de Resultados	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449

PROHIBIA SU REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACION ESCRITA DEL LABORATORIO

  
 Gloria Sandra Espinosa Narváez  
 Téc. Laboratorio Bromatología y Alimentos  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
 Revisó: GSE                      2013-06-20

## Anexo 15. RESULTADOS PRUEBAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA A BASE DE LECHE UHT DESCREMADA Y TOMATE DE ÁRBOL (n=3)

 Universidad de <b>Nariño</b>	<b>SECCIÓN DE LABORATORIOS</b>	Código: LBE-PRS-FR-76
	<b>REPORTE DE RESULTADOS LABORATORIO BROMATOLOGÍA</b>	Página: 1 de 1
		Versión: 1
		Vigente a partir de: 26/04/2010

DATOS USUARIO	DATOS MUESTRA	Reporte No.
Solicitante: Margareth Santander	Muestra: Bebida láctea de Tomate. M 3	Reporte No. LB-R-061H-13
Dirección: Villa Campestre Mz A Casa 8. Pasto	Procedencia: Planta Piloto Ingeniería Agroindustrial. Universidad de Nariño	Código lab 376
cc / nit: 1.085.280.948	Fecha de Muestreo AA 13 MM 05 DD 20	
Teléfono: 301 276 7764	Fecha Recepción Muestra AA 13 MM 05 DD 20	
e-mail marguis_santanderm@hotmail.com	Fecha Reporte AA 13 MM 06 DD 20	
<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>		
Humedad, Ceniza, Fibra cruda, Azúcares totales, Calcio, Acidez		

PARÁMETRO	MÉTODO	TÉCNICA	UNIDAD DE MEDIDA	LÍMITE DE DETECCIÓN	Bebida láctea de Tomate. M 3
Humedad	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	85,1
Sólidos Totales	Secado estufa	Termogravimétrica	g/100g	-	14,9
Ceniza	Incineración mufla	Termogravimétrica	g/100g	-	0,23
Proteína	Kjeldahl (N*6,25)	Volumétrica	g/100g	-	1,79
Carbohidratos Totales	Hidrólisis directa, Nelson	Espectrofotométrica	g/100g	-	9,87
Calcio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	52,2
Fósforo	Oxidación húmeda, Colorimetría	Espectrofotométrica	mg/100g	-	48,5
Potasio	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	139
Hierro	Oxidación húmeda, EAA	Espectrofotométrica	mg/100g	-	0,08
Acidez (g ácido láctico/100g)	NTC 4978	Volumétrica	g/100g	-	0,68
Fibra cruda	Digestión ácida-básica	Gravimétrica	g/100g	-	1,24

<b>OBSERVACIONES</b>	RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA MUESTRA ANALIZADA
<b>Aseguramiento de Calidad de Resultados</b>	Certificado Icontec GP-CER 112092 NTCPR 100:2009 Certificado Icontec SG-CER 110449 ISO 9001:2008 - NTC ISO 9001 : 2008 Certificado IQNET CO-SE-CER 110449
PROHIBIA SU REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL SIN PREVIA AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO	

  
 Gloria Sánchez Espinosa, Nariño  
 Téc. Laboratorio Bromatología  
 Universidad de Nariño

Elaboró: GSE                      2013-06-20  
 Revisó: GSE                      2013-06-20

## Anexo 16. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>	<b>Código:</b> LBE-PRS-FR-165
		<b>Página</b> 1 de 3
		<b>Versión:</b> 01
		<b>Vigente a partir de :</b> 2013/01/11

**FECHA:** 20/08/2013

**REPORTE No** LC-R-016

### 1. DATOS DEL USUARIO

Solicitante (s): Margareth Santander Muñoz  
Identificación: Grupo de Investigación TEA- Facultad de Ingeniería Agroindustrial  
Dirección: Universidad de Nariño – Ciudad Universitaria Torobajo  
Teléfono: 3012767764  
Correo Electrónico: marguis\_santandem@hotmail.com

### 2. DATOS DE LAS MUESTRAS

Número de Muestras Solicitadas: Catorce (18)  
Tipo de Muestra: Alimentos (Bebida de tomate)  
Descripción de la(s) Muestra(s): Muestras de bebida de tomate denominadas BT-R  
Análisis Solicitado: Acido Ascórbico por HPLC-DAD  
Código Muestras:  
Fecha del Análisis: 16, 24 y 31 de Mayo de 2013, 7 y 14 de Junio de 2013

### 3. DESCRIPCION DEL ANÁLISIS

**3.1 Equipo:** Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters Breeze – Bomba Binaria 1525  
**3.2 Columna:** Phenomenex Luna C18 (2) (5µm, 4,6x 250mm) a 30°C  
**3.3 Detector:** PDA Waters 2998 a 254 y 210nm - Scan (200-450nm)  
**3.4 Inyector:** Rheodyne 7725I con Loop de 20µL

#### 3.5 Análisis de las Muestras:

La extracción de ácido ascórbico en las muestras de bebida de tomate se realizó empleando extracción líquido-líquido con solución ácida (ácido fosfórico 0,05N) mediante agitación por 30 minutos en baño de hielo. Las muestras se centrifugaron a 6000 rpm, se tomaron 5,0 mL del sobrenadante y se filtró en discos GHP (Acrodisc, Pall) de 13mm x 0,45µm para la inyección al cromatógrafo líquido HPLC a las condiciones de análisis establecidas. La identificación de ácido ascórbico en las muestras se realizó mediante comparación con el tiempo de retención de una solución patrón de ácido ascórbico analizada bajo las mismas condiciones. La cuantificación se realizó empleando estándar externo y relaciones de área cromatográfica con soluciones patrón de ácido ascórbico.

### 4. RESULTADOS

Los resultados del análisis en las muestras de bebida de tomate se registran en la tabla N° 1.

## Anexo 14. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-165
		Página 2 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

**Tabla N°. 1**  
**Análisis de Ácido Ascórbico muestras Bebida de Tomate por HPLC-PDA**

Muestra N°	Fecha de análisis	Descripción de las muestras	Cuantificación mg/100 mL de muestra
Control	16/05/2013	BT-R-1 Control	19,8
Control	16/05/2013	BT-R-2 Control	19
Control	16/05/2013	BT-R-2 Control	19,5
1	16/05/2013	BT-R-1 Día 0	13,6
2	16/05/2013	BT-R-2 Día 0	12,4
3	16/05/2013	BT-R-3 Día 0	12,9
4	24/05/2013	BT-R-1 Día 7	6,3
5	24/05/2013	BT-R-2 Día 7	6,1
6	24/05/2013	BT-R-3 Día 7	6,1
7	31/05/2013	BT-R-1 Día 14	5,4
8	31/05/2013	BT-R-2 Día 14	5,6
9	31/05/2013	BT-R-3 Día 14	NC
10	07/06/2013	BT-R-1 Día 21	5
11	07/06/2013	BT-R-2 Día 21	5,2
12	07/06/2013	BT-R-3 Día 21	5,3
13	14/06/2013	BT-R-1 Día 28	5,3
14	14/06/2013	BT-R-2 Día 28	5,4
15	14/06/2013	BT-R-3 Día 28	4,8

NC = No Cuantificado.

## Anexo 14. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>	<b>Código:</b> LBE-PRS-FR-165
		<b>Página</b> 3 de 3
		<b>Versión:</b> 01
		<b>Vigente a partir de :</b> 2013/01/11

### 5. OBSERVACIONES

Adjunto Anexos: Cromatogramas

- Los resultados del presente informe aplican únicamente para las muestras entregadas por el usuario al Laboratorio.
- Los resultados descritos en este informe son confidenciales y de propiedad del solicitante

Cordialmente.

#### Original Firmado

Qco. David Arturo Perdomo  
Laboratorio de Cromatografía  
Universidad de Nariño

Elaboró: David Arturo Perdomo-Laboratorio de Cromatografía  
Revisó: Juan Pablo Jiménez-Laboratorio de Cromatografía  
*FIN DEL REPORTE*

**Anexo 15. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA  
BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA**

UNIVERSIDAD DE NARIÑO-LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA

**ANEXOS ANÁLISIS  
MUESTRAS BEBIDA DE  
TOMATE**

---

**ACIDO ASCORBICO POR HPLC-DAD**

LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA

16/08/2013

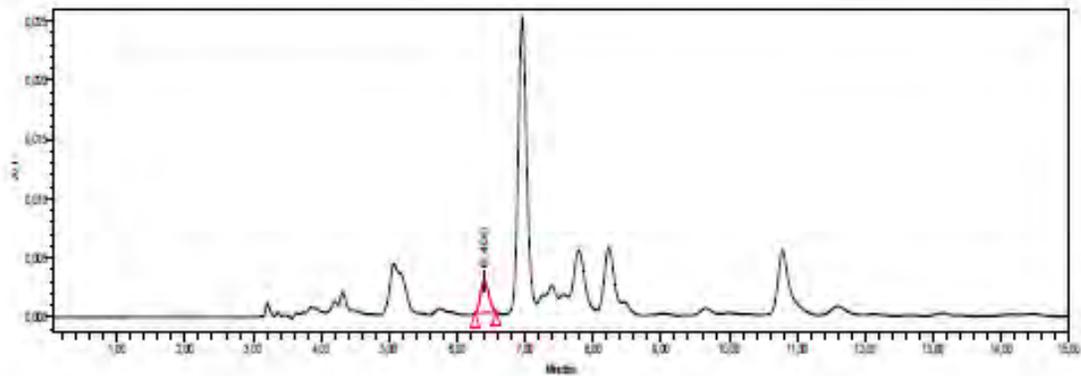
CROMATOGRÁMAS

## Anexo 16. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

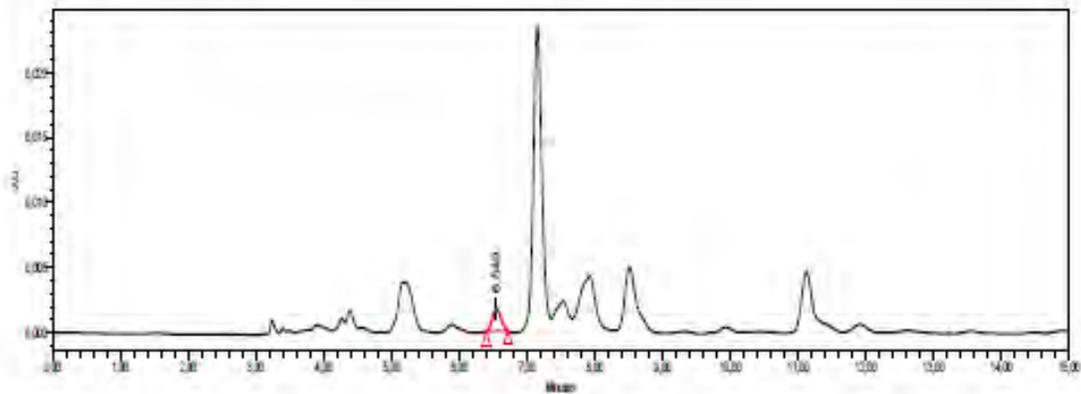
UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCION DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

ANEXOS CROMATOGRAMAS MUESTRAS ACIDO ASCORBICO  
MUESTRAS BEBIDA DE TOMATE

Cromatograma a 254nm Muestra BT-R-2 DIA CERO Ac Ascórbico tR= 6,40 minutos



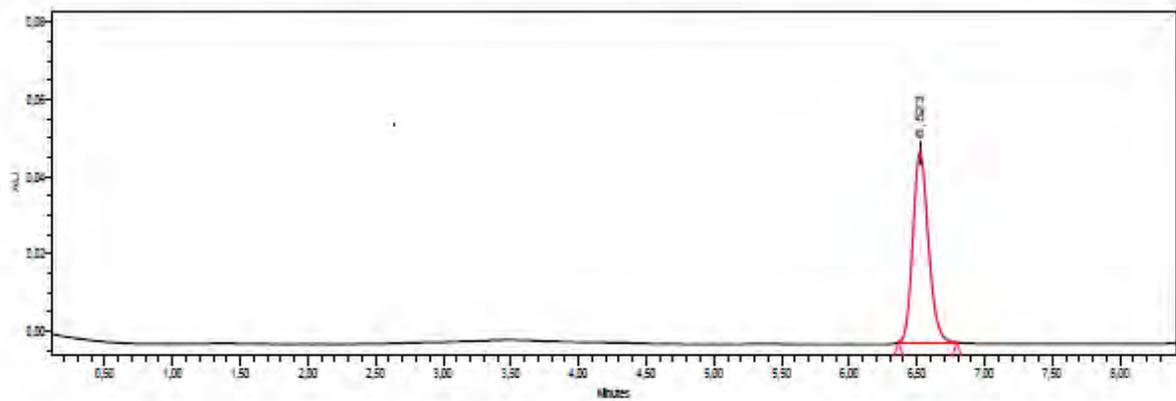
Cromatograma a 254nm Muestra BT-R-1 DIA 7 tR = 6,549 min



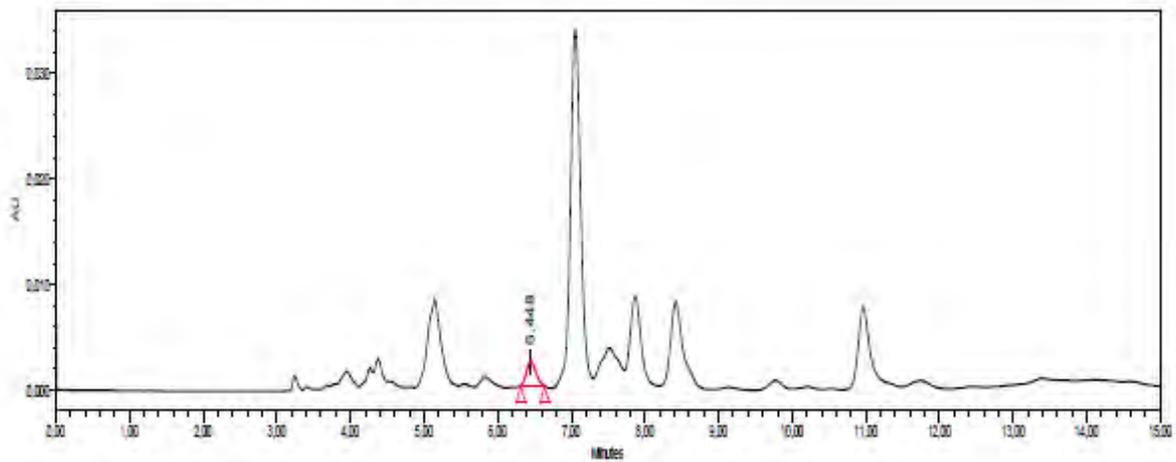
## Anexo 17. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCION DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

Cromatograma a 254nm Patrón de Ácido Ascórbico tR = 6,523 min



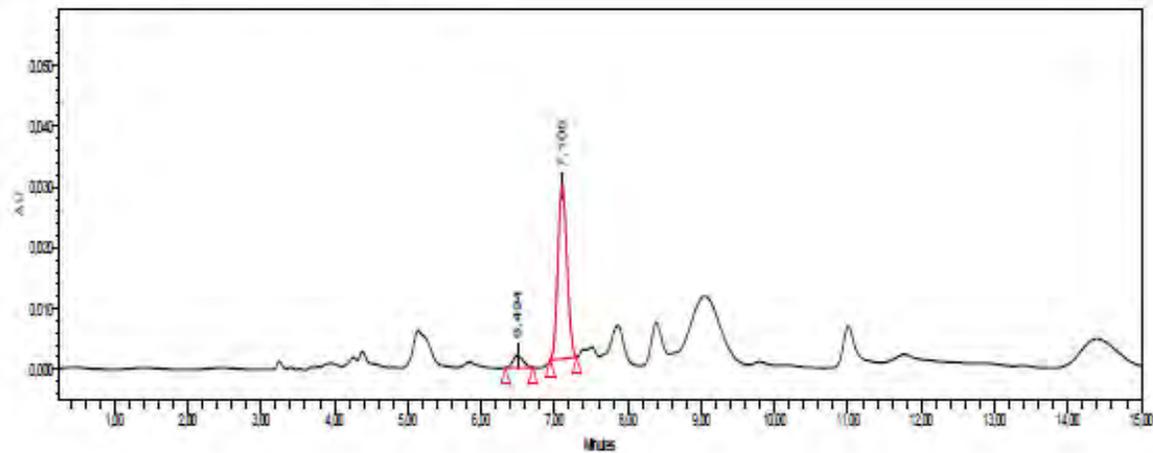
Cromatograma a 254nm Muestra BT-2- Dia 14 tR = 6,450 min



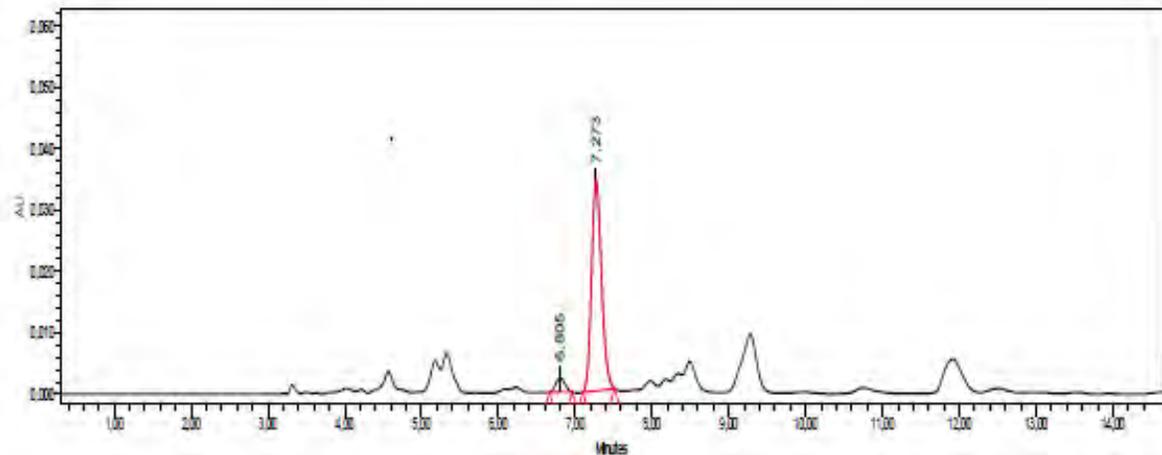
## Anexo 18. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCION DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

CROMATOGRAMA 254nm Muestra BT-3-21 tR = 6,494 min



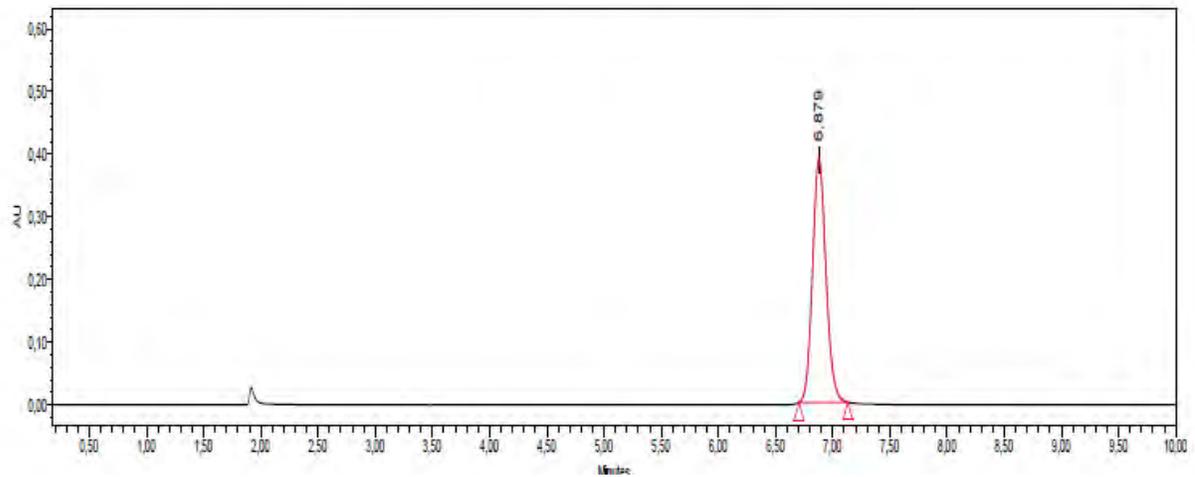
Cromatograma 254nm Muestra BT-28-1 tR= 6,805 min



**Anexo 19. RESULTADOS DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCION DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA**

Cromatograma Acido Ascorbico a 254nm tR= 6,879 min para muestras día 28.



## Anexo 2017. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-165
		Página 1 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

FECHA: 23/08/2013

REPORTE No LC-R-018

### 1. DATOS DEL USUARIO

Solicitante (s): Margareth Santander Muñoz

Identificación: Grupo de Investigación TEA- Facultad de Ingeniería Agroindustrial

Dirección: Universidad de Nariño – Ciudad Universitaria Torobajo

Teléfono: [3012767764](tel:3012767764)

Correo Electrónico: [marguis\\_santandem@hotmail.com](mailto:marguis_santandem@hotmail.com)

### 2. DATOS DE LAS MUESTRAS

Número de Muestras Solicitadas: Quince (18)

Tipo de Muestra: Alimentos (Bebida de tomate)

Descripción de la(s) Muestra(s): Muestras de bebida de tomate denominadas BT-R

Análisis Solicitado: Carotenos por HPLC-DAD

Código Muestras: LC-CL-136 -150-13

Fecha del Análisis: 16, 24 y 31 de Mayo de 2013; 7, 14 y 28 de Junio de 2013

### 3. DESCRIPCION DEL ANÁLISIS

3.1 Equipo: Cromatógrafo Líquidos HPLC Waters Breeze – Bomba Binaria 1525

3.2 Columna: Waters *Spherisob* ODS C18 - (5  $\mu$ m, 4,6x 100mm) a 30°C

3.3 Detector: PDA Waters 2998 a 450 nm - Scan (210-500nm)

3.4 Inyector: Rheodyne 7725I con Loop de 20 $\mu$ L

#### 3.5 Análisis de las Muestras:

La extracción de carotenos en las muestras de bebida de tomate se realizó mediante extracción líquido-líquido empleando como solvente una mezcla etanol:hexano (4:3). Posteriormente se adicionó solución saturada de NaCl al 10% y agua tipo I. La muestra se separó en embudo de decantación, el extracto orgánico se concentró con N<sub>2</sub> a sequedad y se adicionaron 2mL de Metanol grado HPLC. Las muestras se conservaron en vial ámbar a -18°C hasta el momento del análisis. La cuantificación de  $\beta$ -caroteno se realizó empleando estándar de  $\beta$ -caroteno al 93% (Sigma-aldrich) mediante relación de áreas cromatográficas.

### 4. RESULTADOS

Los resultados del análisis en las muestras de bebida de tomate se registran en las tablas N° 1 y 2.

## Anexo 21. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

	SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA	Código: LBE-PRS-FR-165
		Página 2 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

**Tabla N° 1**  
**Análisis de  $\beta$ -caroteno en muestras de Bebida de Tomate por HPLC-PDA**

Muestra N°	Fecha de análisis	Descripción de las muestras	Cuantificación $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$ de muestra
Control	16/05/2013	BT-R-1 Control	270
Control	16/05/2013	BT-R-1 Control	285
Control	16/05/2013	BT-R-1 Control	279
1	16/05/2013	BT-R-1 Día 0	239
2	16/05/2013	BT-R-2 Día 0	247
3	16/05/2013	BT-R-2 Día 0	156,5
4	24/05/2013	BT-R-1 Día 7	210,9
5	24/05/2013	BT-R-2 Día 7	217,4
6	24/05/2013	BT-R-3 Día 7	150
7	31/05/2013	BT-R-1 Día 14	173
8	31/05/2013	BT-R-2 Día 14	209
9	31/05/2013	BT-R-3 Día 14	155
10	07/06/2013	BT-R-1 Día 21	171
11	07/06/2013	BT-R-2 Día 21	150
12	07/06/2013	BT-R-3 Día 21	112
13	14/06/2013	BT-R-1 Día 28	148
14	14/06/2013	BT-R-2 Día 28	145
15	14/06/2013	BT-R-3 Día 28	89

## Anexo 22. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS CROMATOGRAFIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-185
		Página 3 de 3
		Versión: 01
		Vigente a partir de : 2013/01/11

**Tabla N° 2**  
**Identificación de carotenos en muestras de Bebida de Tomate**  
**HPLC-PDA scan (210-500nm)**

Identificación	Muestras														
	Día 0			Día 7			Día 14			Día 21			Día 28		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>Carotenos/ Cantidad relativa %</i>															
$\beta$ -criptoxantina	10,6	15,85	26,4	14,1	17,5	16,6	21,1	19	20,75	27,2	21,5	25,5	20,1	16,3	19,7
$\beta$ -caroteno	89,4	84,15	64,2	78,4	76,5	76,4	68,95	69,6	68,8	59,1	65,1	63,6	70,3	55,2	71
9-cis- $\beta$ -caroteno	1,8	3,4	4,0	2,0	1,8	3,1	3,2	3,6	3,4	2,8	1,1	3,9	3,2	2,5	3,8
13-cis- $\beta$ -caroteno	2,0	3,0	5,4	5,3	4,0	3,9	6,5	7,6	6,7	9,3	6,4	7,0	6,4	6,2	5,6
Licopeno										1,5	5,5			19,6	

### 5. OBSERVACIONES

Adjunto Anexos: Cromatogramas y Espectros UV-Vis

- Los resultados del presente informe aplican únicamente para las muestras entregadas por el usuario al Laboratorio.
- Los resultados descritos en este informe son confidenciales y de propiedad del solicitante

Cordialmente.

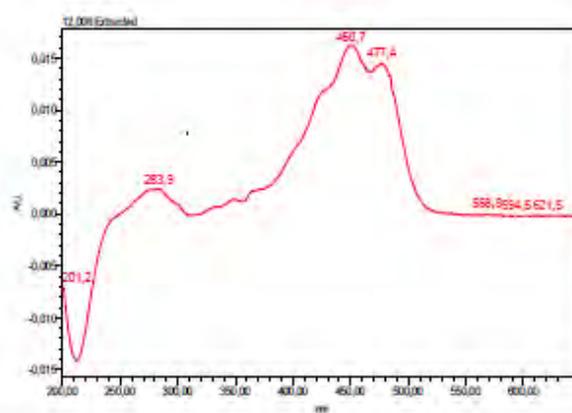
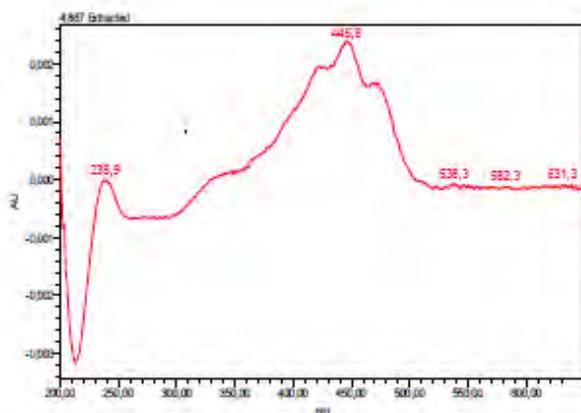
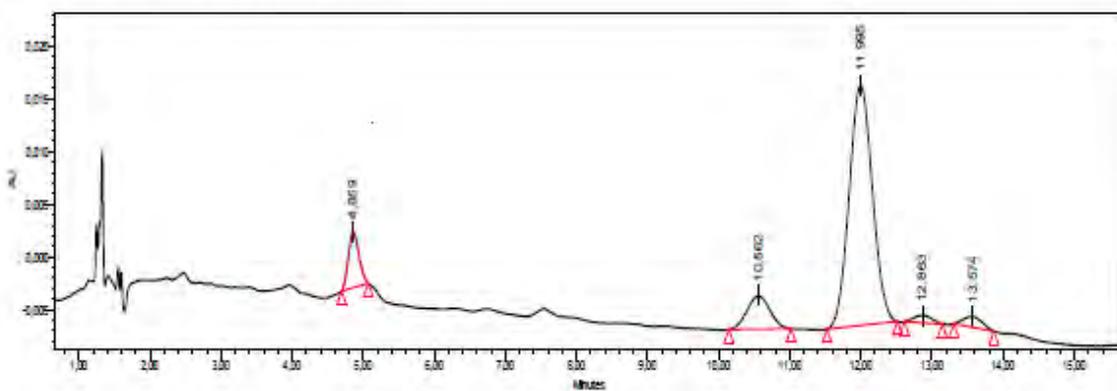
Original Firmado  
 Qco. David Arturo Perdomo  
 Laboratorio de Cromatografía  
 Universidad de Nariño

Elaboró: David Arturo Perdomo- Laboratorio de Cromatografía  
 Revisó: Juan Pablo Jiménez- Laboratorio de Cromatografía  
**FIN DEL REPORTE**

## Anexo 23. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCIÓN DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

Cromatograma muestra 1 día 0 a 450nm

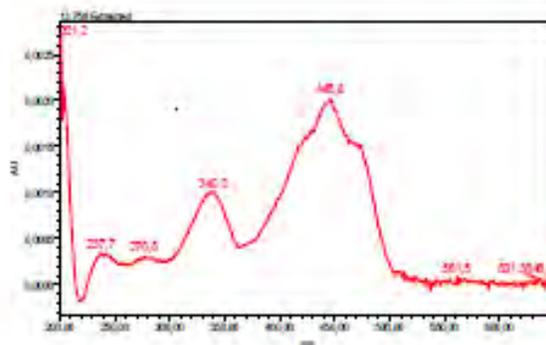
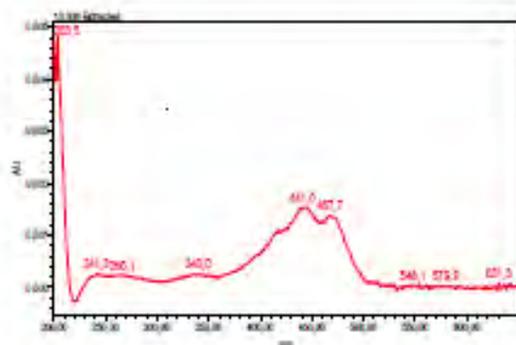
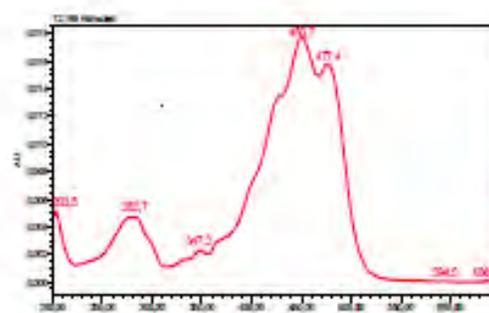
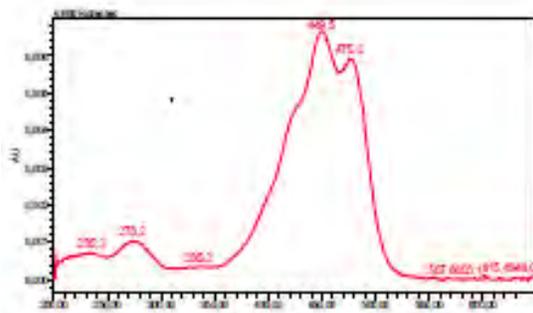
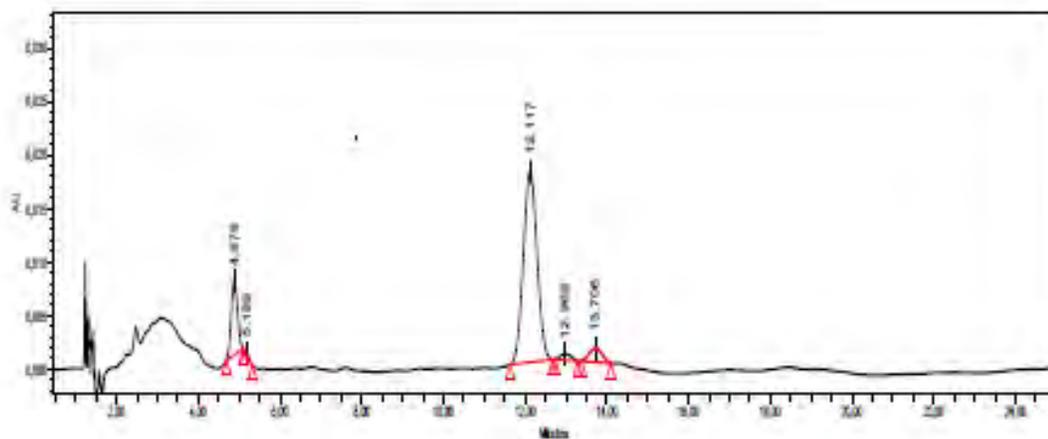


Espectros UV-vis Carotenoides

## Anexo 24. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCIÓN DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

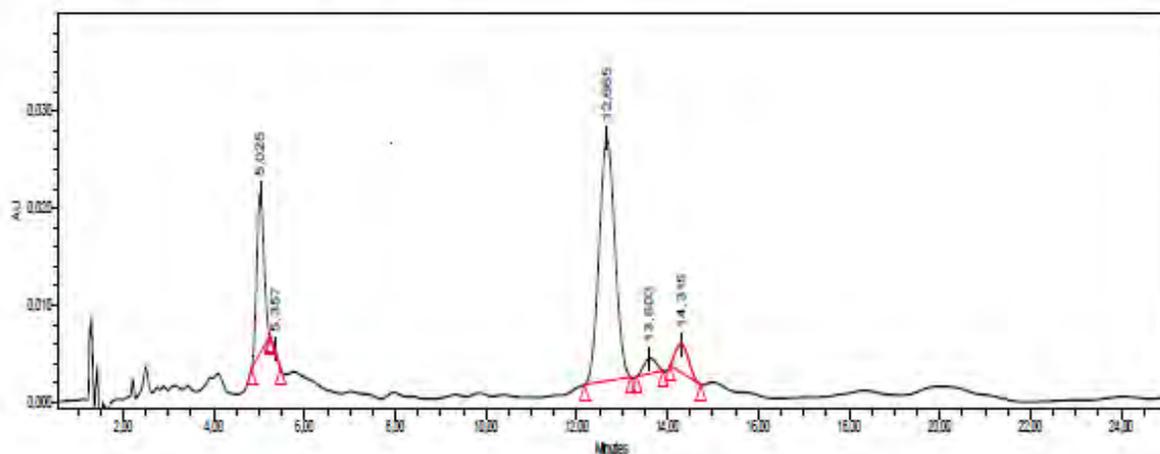
Cromatograma muestra 1 día 7 a 450nm



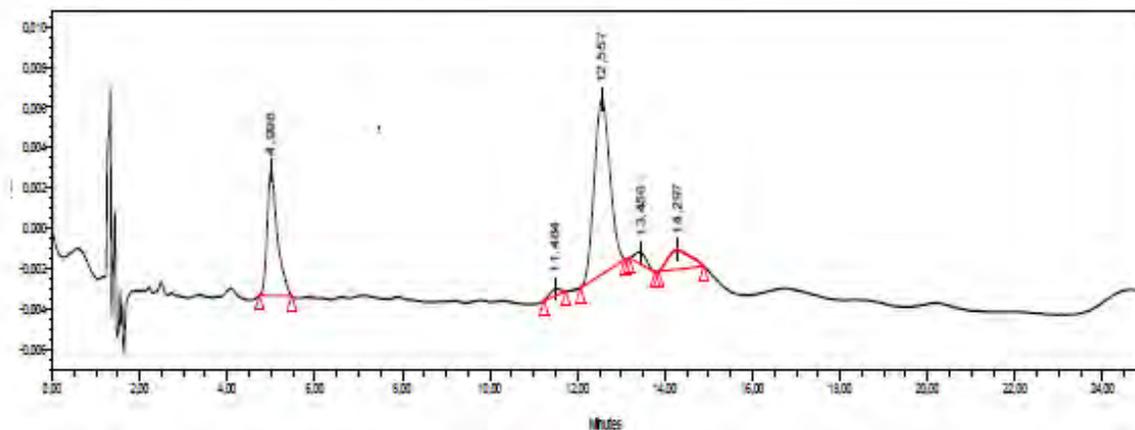
## Anexo 25. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCIÓN DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

Cromatograma Muestra 3 día 14 a 450nm



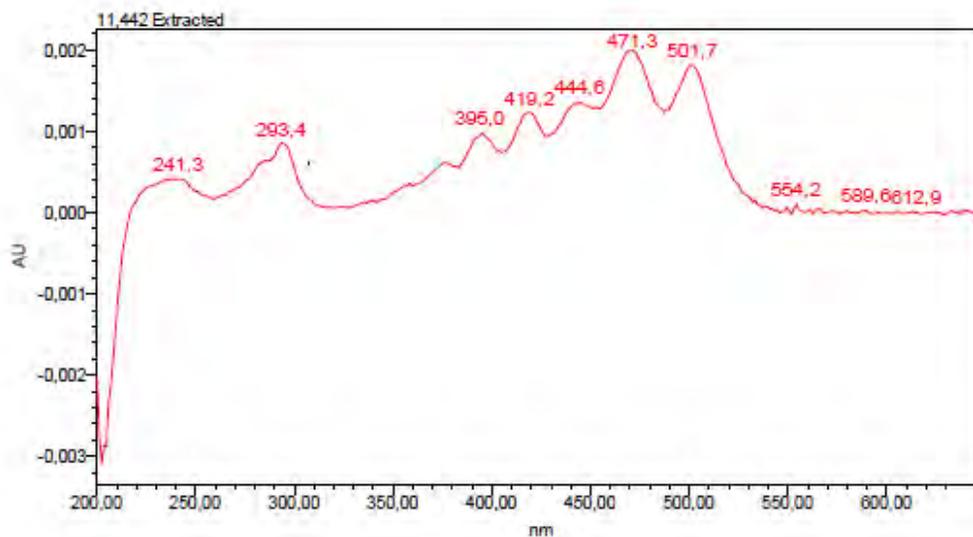
Cromatograma Muestra 1 día 21 a 450nm



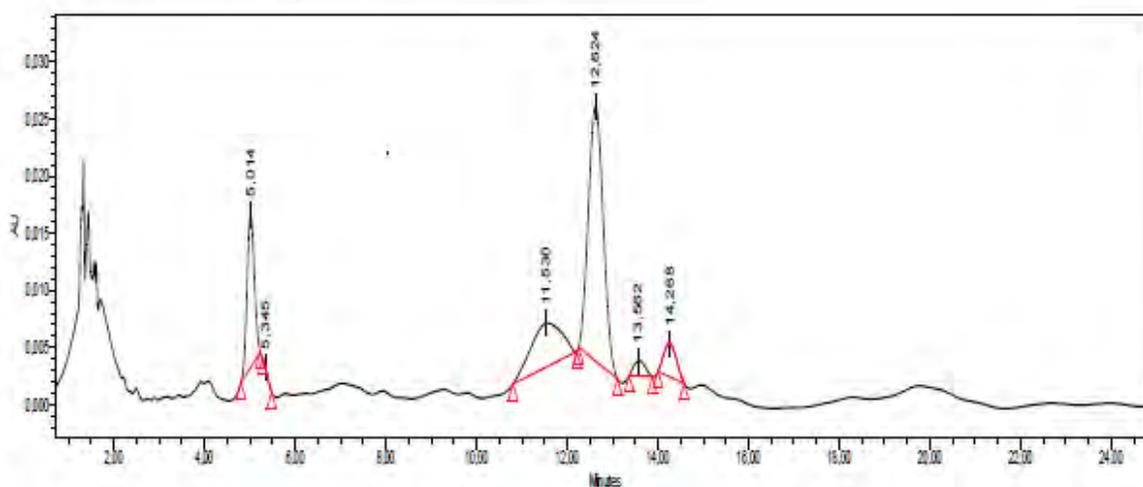
## Anexo 26. RESULTADOS DEL CONTENIDO $\beta$ -CAROTENO EN LA BEBIDA DURANTE EL ALMACENAMIENTO POR HPLC-PDA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
SECCIÓN DE LABORATORIOS  
LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA

Espectro UV-Vis Licopeno Pico No 2 tR = 11,4 min.



Cromatograma Muestra No 2 día 28



## Anexo 27. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=1)

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113.
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR61R - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 121
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	27 de Mayo de 2013	NIT/C.C.	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:		Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	20 de Mayo de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	25.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	350	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	< 10	< 10
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**Laboratorio Microbiología de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTÁNDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 28. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=2)

 Universidad del Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR61S - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 122
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	27 de Mayo de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:		Sito de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	20 de Mayo de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	25.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	400	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	< 10	< 10
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTÁNDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 29. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA MUESTRA CONTROL DE LA BEBIDA (n=3)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR61T - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 123
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	27 de Mayo de 2013	Nit/C.C:	1,085 280,948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:		Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	20 de Mayo de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	27,000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	350	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	< 10	< 10
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**LABORATORIO**  
**Microbiología**  
**de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTÁNDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 30. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO DE LA BEBIDA (n=1) DEL DÍA CERO DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra: 20 de Mayo de 2013	Reporte No: LMR62A - 13
Hora toma muestra: 07:00 a.m.	Código de la muestra: LMA13 - 124
Fecha de Recepción: 20 de Mayo de 2013	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 08:30 a.m.	Representante legal: Margareth Santander
Fecha de Reporte: 27 de Mayo de 2013	Nit/C.C: 1.085.280.948
Producto: Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel: Villa Campestre
Muestra tomada por: Margareth Santander	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones: Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis: Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico: 20 de Mayo de 2013	

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	1.200	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	< 10	< 10
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**Laboratorio Microbiología de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 31. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO DE LA BEBIDA (n=2) DEL DÍA CERO DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra: 20 de Mayo de 2013	Reporte No: LMR62B - 13
Hora toma muestra: 07:00 a.m.	Código de la muestra: LMA13 - 125
Fecha de Recepción: 20 de Mayo de 2013	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 08:30 a.m.	Representante legal: Margareth Santander
Fecha de Reporte: 27 de Mayo de 2013	Nit/C.C: 1.085.280.948
Producto: Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel: Villa Campestre
Muestra tomada por: Margareth Santander	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones: Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis: Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico: 20 de Mayo de 2013	

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	< 3	< 3
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	1.400	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	< 10	< 10
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**Laboratorio Microbiología**  
 Universidad de Nariño  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 32. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra: 20 de Mayo de 2013	Reporte No LMR62C - 13
Hora toma muestra: 07:00 a.m.	Código de la muestra: LMA13 - 126
Fecha de Recepción: 20 de Mayo de 2013	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 08:30 a.m.	Representante legal: Margareth Santander
Fecha de Reporte: 04 de Junio de 2013	Nit/C.C: 1.085.280.948
Producto: Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel: Villa Campestre
Muestra tomada por: Margareth Santander	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado: Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones: Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis: Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico: 27 de Mayo de 2013	

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	32.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**Laboratorio  
Microbiología  
de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 33. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62D - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 127
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	04 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	27 de Mayo de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	32.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 34. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62E - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 128
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	04 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	27 de Mayo de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	28.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**Laboratorio  
Microbiología  
de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 35. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra: 20 de Mayo de 2013	Reporte No: LMR62F - 13
Hora toma muestra: 07:00 a.m.	Código de la muestra: LMA13 - 129
Fecha de Recepción: 20 de Mayo de 2013	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 08:30 a.m.	Representante legal: Margareth Santander
Fecha de Reporte: 11 de Junio de 2013	Nit/C.C: 1.085.280.948
Producto: Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel: Villa Campestre
Muestra tomada por: Margareth Santander	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado: Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones: Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis: Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico: 04 de Junio 2013	

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	26.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
**Laboratorio  
Microbiología  
de Alimentos**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 36. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra: 20 de Mayo de 2013	Reporte No: LMR62G - 13
Hora toma muestra: 07:00 a.m.	Código de la muestra: LMA13 - 130
Fecha de Recepción: 20 de Mayo de 2013	Establecimiento: -
Hora de Recepción: 08:30 a.m.	Representante legal: Margareth Santander
Fecha de Reporte: 11 de Junio de 2013	Nit/C.C: 1.085.280.948
Producto: Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel: Villa Campestre
Muestra tomada por: Margareth Santander	Municipio - Depto: Pasto - Nariño
Análisis solicitado: Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma: Planta Piloto
Observaciones: Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis: Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico: 04 de Junio 2013	

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	29.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 37. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA SEGUNDA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62H - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 131
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	11 de Junio de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	04 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	30.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 38. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62I - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 132
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	17 de Junio de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	11 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	25.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**Laboratorio Microbiología**  
 Universidad de Nariño  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 39. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62J - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 133
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	17 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	11 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	30.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 40. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA TERCERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62K - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 134
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	17 de Junio de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	11 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	34.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 42. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62L - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 135
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	24 de Junio de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	17 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7952/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesófilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	26000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa Positiva	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	ASLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 43. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62M - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 136
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	24 de Junio de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	17 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	30.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	100	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**Laboratorio Microbiología**  
 Universidad de Nariño  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 44. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA CUARTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62N - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 137
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	24 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	17 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	31.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 45. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=1) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR620 - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 138
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	28 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	24 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	32.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 46. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=2) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62P - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 160
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	28 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	24 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	40.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 47. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA (n=3) DE LA QUINTA SEMANA DE ALMACENAMIENTO

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	20 de Mayo de 2013	Reporte No	LMR62Q - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 161
Fecha de Recepción:	20 de Mayo de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	28 de Junio de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 20 -05-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	24 de Junio 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	44.000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	< 10	100 - 200
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 48. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 0 (n=1)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR63V - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 193
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	6 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	5 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	1200	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**Laboratorio Microbiología**  
**Universidad de Nariño**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 49. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 0 (n=2)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR63VV- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 194
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	6 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	5 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	1400	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**Laboratorio Microbiología**  
 Universidad de Alimentos  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 50. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 1 (n=1)

 Universidad de Nariño	SECCION DE LABORATORIOS	Código: LBE-PRS-FR-113
	INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA	Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR63X - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 195
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	7 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campeste
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	5 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	1900	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 51. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 1 (n=2)

	SECCION DE LABORATORIOS	Código: LBE-PRS-FR-113
	INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA	Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR63Y - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 196
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	7 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	6 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	2000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 52. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 2 (n=1)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR63Z- 13
Hora toma muestra:	07.00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 197
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08.30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	8 de agosto de 2013	Nit/C. C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	7 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	2300	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 53. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 2 (n=2)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64A- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 198
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	8 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Árbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Útil	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	7 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	2600	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 54. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 3 (n=1)

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64B- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 199
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	9 de agosto de 2013	Nit/C C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	8 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7902/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	2900	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 55. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 3 (n=2)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64C- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 200
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	9 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	8. de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91.JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	3000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 56. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 4 (n=1)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No:	LMR64D- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 201
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	10 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	9 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	13000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUESTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUESTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-


  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 57. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 4 (n=2)

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64E - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 202
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	10 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel.:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto.:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	9- de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91,2005 Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	15000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	+
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 58. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 5 (n=1)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64F - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 203
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	12 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	10 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	18000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**Laboratorio Microbiologia**  
 Universidad de Nariño  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 59. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 5 (n=2)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64G- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 -204
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	12 de agosto de 2013	Nit/C C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	10 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	20000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECUENTO EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Céreus	INVIMA -1998	RECUENTO EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**Laboratorio Microbiología**  
**Universidad de Nariño**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 60. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 6 (n=1)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64H- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 205
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	13 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05-08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	12 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesófilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	27000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 61. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 6 (n=2)

 Universidad del Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR641- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 206
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	13 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campeste
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Util	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	12 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	25000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-



  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 62. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 7 (n=1)

	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No:	LMR64J- 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 207
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	14 de agosto de 2013	Nit/C.C.:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Útil	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	13 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	32000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
**Laboratorio Microbiología**  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125

## Anexo 63. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA DE LA PRIMERA SEMANA DE ALMACENAMIENTO: DÍA 7 (n=2)

 Universidad de Nariño	<b>SECCION DE LABORATORIOS</b> <b>INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLOGIA</b>	Código: LBE-PRS-FR-113
		Página: 1 de 1
		Versión: 3
		Vigente a partir de: 2013/05/15

### LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Fecha toma muestra:	5 de agosto de 2013	Reporte No	LMR64K - 13
Hora toma muestra:	07:00 a.m.	Código de la muestra:	LMA13 - 208
Fecha de Recepción:	5 de agosto de 2013	Establecimiento:	-
Hora de Recepción:	08:30 a.m.	Representante legal:	Margareth Santander
Fecha de Reporte:	14 de agosto de 2013	Nit/C.C:	1.085.280.948
Producto:	Bebida Tomate de Arbol y Leche	Dirección y Tel:	Villa Campestre
Muestra tomada por:	Margareth Santander	Municipio - Depto:	Pasto - Nariño
Análisis solicitado:	Seguimiento de Vida Útil	Sitio de toma:	Planta Piloto
Observaciones:	Fecha de Producción 05 -08-13	Motivo de Análisis:	Tesis Pregrado
Fecha de Análisis Microbiológico:	13 de agosto de 2013		

### RESULTADO VALIDO PARA LA MUESTRA EXAMINADA

PARAMETRO	METODO	TECNICA	UNIDADES	VALOR OBTENIDO	RESOLUCION 7992/91 JUGOS Y PULPAS DE FRUTAS PASTEURIZADAS
Coliformes Totales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Coliformes Fecales	INVIMA -1998	NMP	No Bacterias / ml	-	-
Mesofilos	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	35000	1000 - 3000
Recuento de Hongos y Levaduras	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Esporas Clostridium Sulfito	INVIMA -1998	RECuento EN TUBO	UFC	-	-
Recuento de Estafilococo Coagulasa	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Recuento de Bacillus Cereus	INVIMA -1998	RECuento EN PLACA	UFC	-	-
Salmonella	INVIMA -1998	AISLAMIENTO	Presencia / Ausencia	-	-

  
  
**LABORATORIO MICROBIOLOGIA**  
 Universidad de Nariño - Vicerrectoría de Alimentos  
**NANCY GALINDEZ SANTANDER**  
 Profesional de Laboratorio  
 Registro No 125