

Maestría en Gestión de la Seguridad Alimentaria

Trabajo Final de Maestría

Autor: Omar Alfredo Vallejos

DESARROLLO DE MERMELADAS DE FRUTAS Y HORTALIZAS REDUCIDAS EN CALORÍAS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ADICIONADAS DE PROPÓLEOS

2023

Directora: Dra. Natalia Sosa

Co-directora: Dra. Marina Laura Tomasotti

Cómo citar: Vallejos, O. A. (2023). Desarrollo de mermeladas de frutas y hortalizas reducidas en calorías con capacidad antioxidante adicionadas de propóleos. [Trabajo final de Maestría, Universidad ISALUD], Buenos Aires. RID ISALUD. <http://repositorio.isalud.edu.ar/xmlui/handle/123456789/751>



INDICE DE CONTENIDOS

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | Introducción | 12 |
| 1.1. | Presentación | 12 |
| 1.2. | Tema | 13 |
| 1.3. | Contexto..... | 14 |
| 1.3.1. | Situación actual de la producción de mermeladas en la Argentina | 16 |
| 1.3.2. | Situación actual de la producción de mermeladas en Latinoamérica | 17 |
| 1.3.3. | Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en Europa | 18 |
| 1.3.4. | Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en Alemania | 19 |
| 1.3.5. | Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en España..... | 19 |
| 1.4. | Relevancia y Justificación..... | 20 |
| 2. | Planteamiento del Problema | 21 |
| 3. | Hipótesis | 22 |
| 4. | Objetivos..... | 22 |
| 4.1. | Objetivo General..... | 22 |
| 4.2. | Objetivos Específicos | 22 |
| 5. | Marco Teórico..... | 23 |
| 5.1. | Confituras y Mermeladas..... | 23 |
| 5.1.1. | Marco regulatorio..... | 24 |
| 5.1.2. | Proceso general de elaboración de mermeladas | 25 |
| 5.1.3. | Diagrama de flujo general | 26 |
| 5.2. | Alimentos Funcionales (AF) | 28 |
| 5.2.1. | Selección de un vehículo funcional..... | 30 |
| 5.2.2. | Componentes de la formulación | 34 |
| 6. | Metodología | 75 |



| | | |
|--|---|----|
| 6.1. | Tipo de estudio | 75 |
| 6.2. | Dimensiones, escalas e indicadores..... | 76 |
| 6.3. | Universo y características de las muestras..... | 77 |
| 6.4. | Fuentes de información y técnicas de recolección de datos | 77 |
| 6. | Desarrollo | 78 |
| CAPÍTULO I: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS DE RESINA DE PROPÓLEOS A UTILIZAR COMO INGREDIENTE BIOFUNCIONAL DE LA MERMELADA..... | | |
| 78 | | |
| 6.1. | Obtención de las muestras de resina cruda de propóleos | 78 |
| 6.2. | Optimización del proceso de obtención de los extractos mediante diseños de superficies de respuestas..... | 79 |
| 6.2.1. | Diseño experimental..... | 79 |
| 6.2.2. | Obtención de los extractos etanólicos de propóleo (EEP) | 79 |
| 6.2.3. | Capacidad Antioxidante (CA) de EEP | 80 |
| 6.2.4. | Compuestos Polifenólicos Totales (CPT) | 82 |
| 6.2.5. | Extracto Seco (ES)..... | 83 |
| 6.2.6. | Análisis Estadístico..... | 83 |
| 6.1. | Encapsulación del propóleos para aplicarlo como ingrediente biofuncional de la mermelada..... | 83 |
| 6.1.1. | Elección de la matriz soporte para el extracto de la resina de propóleos.. | 83 |
| 6.1.2. | Características fisicoquímica, funcional e inhibitoria del propóleos encapsulado | 87 |
| 6.2. | Resultados de los extractos de resina de propóleos a utilizarse como ingrediente biofuncional de la mermelada | 92 |
| 6.2.1. | Resultados de la optimización del proceso de obtención de los extractos de propóleo..... | 93 |
| 6.2.2. | Elección de los polvos obtenidos para su aplicación como ingrediente en la formulación de la confitura | 99 |



| | |
|--|------------|
| 6.2.3. Resultados de la caracterización fisicoquímica, funcional e inhibitoria del propóleos encapsulado | 100 |
| CAPÍTULO II. OBTENCIÓN DE MERMELADAS DE FRUTAS Y HORTALIZAS REDUCIDAS EN CALORÍAS..... | 104 |
| 6.3. Formulación de mermeladas y optimización del proceso de elaboración..... | 105 |
| 6.3.1. Proceso de elaboración general de las mermeladas | 105 |
| 6.3.2. Flujograma del proceso de elaboración..... | 106 |
| 6.3.3. Determinación de los límites de gelificantes utilizados | 107 |
| 6.4. Obtención de mermeladas a partir del diseño de mezclas..... | 107 |
| 6.4.1. Diseño experimental de mezclas | 107 |
| 6.4.2. Análisis sensorial de los atributos respuestas | 108 |
| 6.4.3. Proceso de elaboración general de las mermeladas | 109 |
| 6.4.4. Determinación de las concentraciones extremas de los “gelificantes” | 110 |
| 6.5. Resultados del diseño y de análisis sensorial de las mermeladas reducida en calorías | 111 |
| 6.5.1. Obtención de las formulaciones ideales mediante diseño experimental . | 111 |
| 6.5.2. Ajuste para el mejor modelo..... | 114 |
| CAPÍTULO III. ADICIÓN DE PROPÓLEOS A LA MERMELADA REDUCIDA EN CALORÍAS Y CARACTERIZACIÓN SENSORIAL, FISICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DEL PRODUCTO FINAL..... | 122 |
| 6.6. Determinación de la concentración de propóleos mediante análisis sensorial..... | 123 |
| 6.6.1. Intensidad y satisfacción global de los atributos característicos | 123 |
| 6.6.2. Satisfacción global..... | 123 |
| 6.6.3. Análisis de penalidades de las mermeladas..... | 123 |
| 6.7. Caracterización fisicoquímica, funcional de la mermelada..... | 125 |
| 6.7.1. Caracterización fisicoquímica..... | 125 |



| | |
|--|-----|
| 6.7.2. Caracterización funcional | 126 |
| 6.8. Resultados de la caracterización fisicoquímica, sensorial y funcional de la mermelada reducida en calorías, adicionada de propóleos | 126 |
| 6.8.1. Resultado de la concentración de propóleo sensorialmente aceptable.. | 127 |
| 6.8.2. Características fisicoquímicas y funcionales de la mermelada | 141 |
| 7. Conclusiones | 143 |
| 8. Discusión – Propuestas..... | 145 |
| 9. Bibliografía | 147 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Diagrama general del proceso de elaboración de mermeladas. | 27 |
| Figura 2: Etapa vegetativa (izquierda), etapa reproductiva (derecha). | 34 |
| Figura 3: Colores de la zanahoria de acuerdo al contenido de pigmentos. | 36 |
| Figura 4: Ciruela amarilla, variedad Golden Japan. | 39 |
| Figura 5: Estructura lineal del ácido D-galacturónico. | 43 |
| Figura 6: Estructura molecular del Agar-agar | 47 |
| Figura 7: Estructura molecular de la maltodextrina. | 50 |
| Figura 8: Proceso de síntesis general de la isomalta | 52 |
| Figura 9: Glucósidos mayoritariamente encontrados en las hojas de stevia..... | 60 |
| Figura 10: Edulcorante comercial Splenda | 62 |
| Figura 11: Estructura molecular de la sucralosa | 63 |
| Figura 12: Utilización de la Sucralosa como endulzante en distintos alimentos. | 66 |
| Figura 13: Abejas trabajando el propóleos en el interior de una colmena..... | 67 |
| Figura 14: Abeja cargada con resina para elaborar propóleos..... | 68 |
| Figura 15: (A): Malla matrizada de recolección de propóleos; (B): Malla de tejido para recolección de propóleos. | 69 |
| Figura 16: Estructura química del ácido cítrico..... | 74 |
| Figura 17: (A, B y C), Superficie de respuesta para los factores temperatura, etanol y tiempo, en relación a la CPT. | 97 |



| | |
|---|-----|
| Figura 18: (A, B y C), Superficie de respuesta para los factores temperatura, etanol y tiempo, en relación a la CA. | 97 |
| Figura 19: Variación de los factores y respuestas estudiadas mediante análisis de componentes principales, EEP extraídos con 40% (*), 65% (*) y 90% (*). | 98 |
| Figura 20: Carbonato de calcio utilizado como soporte de la resina. | 100 |
| Figura 21: Polvo resultante de la mezcla de Carbonato de calcio y propóleos. | 101 |
| Figura 22: Concentración de polifenoles determinados por HPLC. | 102 |
| Figura 23: Cromatograma del perfil de polifenoles en la muestra de polvo. | 103 |
| Figura 24: Diagrama del proceso general para elaboración de mermeladas. | 106 |
| Figura 25: Fotos del avance de obtención de mermelada con propóleos. | 110 |
| Figura 26: Variables de respuesta del diseño de la mezcla MZD. Pectina (A); Isomalta (B), Agar-agar (C) y para una concentración de maltodextrina fija de 0,37. | 116 |
| Figura 27: Atributos sensoriales y variables de mezcla estudiadas a través del análisis de componentes principales. Las muestras arrojadas por el diseño de mezclas (●). ... | 117 |
| Figura 28: Variables de respuesta del diseño de la mezcla MZC. Pectina (A); Isomalta (B), Agar-agar (C) y para una concentración de maltodextrina fija de 0,37. | 119 |
| Figura 29: Atributos sensoriales y variables de mezcla estudiadas a través del análisis de componentes principales. Las muestras arrojadas por el diseño de mezclas (●). ... | 120 |
| Figura 30: Prueba sensorial de aceptación de la mermelada de zanahoria y ciruela amarilla. Facultad de Bromatología. | 127 |
| Figura 31: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo color. | 128 |
| Figura 32: Niveles de intensidad del color percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones. | 129 |
| Figura 33: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo textura. | 130 |
| Figura 34: Niveles de intensidad de la textura percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones. | 130 |
| Figura 35: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo dulzor. | 131 |
| Figura 36: Niveles de intensidad del dulzor percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones. | 132 |



| | |
|--|-----|
| Figura 37: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo amargor. | 133 |
| Figura 38: Niveles de intensidad del amargor percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones. | 133 |
| Figura 39: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo acidez. | 134 |
| Figura 40: Niveles de intensidad de la acidez percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones. | 135 |
| Figura 41: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo sabor afrutado. | 136 |
| Figura 42: Niveles de intensidad, del sabor afrutado percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones. | 137 |
| Figura 43: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo preferencia global. | 138 |
| Figura 44: Niveles de intensidad, del agrado global percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones. | 138 |
| Figura 45: Análisis de penalidades en la evaluación de la intensidad por atributos y la satisfacción global de los consumidores en mermeladas con 15% de resina. | 139 |
| Figura 46: Análisis de penalidades en la evaluación de la intensidad por atributos y la satisfacción global de los consumidores en mermeladas con 20% de resina. | 140 |
| Figura 47: Cromatograma del perfil de polifenoles en mermeladas sin agregado de propóleos y con agregado de propóleos. | 142 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Factores para la identificación de un vehículo funcional. | 31 |
| Tabla 2: Definiciones de alimentos funcionales. | 32 |
| Tabla 3: Ejemplos de alimentos funcionales. | 33 |
| Tabla 4: Composición química de la raíz de zanahoria. | 37 |
| Tabla 5: Composición Nutricional de la ciruela. | 41 |
| Tabla 6: Composición de la maltodextrina. | 49 |
| Tabla 7: Clasificación de los edulcorantes. | 57 |



| | |
|--|-----|
| Tabla 8: Propiedades físico químicas de la sucralosa..... | 64 |
| Tabla 9: Dimensiones, escalas e indicadores con sus descripciones..... | 76 |
| Tabla 10: Gradiente utilizado en la determinación del perfil de polifenoles del EEP..... | 90 |
| Tabla 11: Diseño de obtención de los diferentes EEP y respuestas obtenidas..... | 93 |
| Tabla 12: ANOVA de tres factores del modelo cuadrático | 95 |
| Tabla 13: Diferencias en las características fisicoquímicas y funcionales entre el carbonato de calcio y mezcla de carbonato de Ca + resina de propóleos. | 101 |
| Tabla 14: Criterios del diseño de experimentos para la obtención de las mermeladas de zanahoria y durazno (MZD), Mermelada de zanahoria y ciruela (MZC). Los signos (+) muestran cuánta consideración se asignó a los diferentes parámetros. | 108 |
| Tabla 15: Contenido de los ingredientes elegidos para el diseño de las mezclas de MZD y datos de los parámetros sensoriales tomados como respuesta. | 112 |
| Tabla 16: Contenido de los ingredientes elegidos para el diseño de las mezclas de MZC y datos de los parámetros sensoriales tomados como respuesta. | 113 |
| Tabla 17: ANOVA de los modelados para la formulación de zanahoria y durazno. Pectina (A), Agar-agar (B), Isomalta (C) y Maltodextrina (D). | 114 |
| Tabla 18: ANOVA de los modelados para la formulación de Zanahoria y ciruela. Pectina (A), Agar-agar (B), Isomalta (C) y Maltodextrina (D). | 115 |
| Tabla 19: Ingredientes porcentuales empleados para la preparación de las “mermeladas ideales” para cada formulación. | 121 |
| Tabla 20: Caracterización fisicoquímica de la mermelada de zanahoria y ciruela con y sin propóleo..... | 141 |



Resumen

En Argentina, los cambios en los patrones de consumo de alimentos acompañan la tendencia mundial, y se manifiestan en todo el entramado social.

La implementación de ingredientes bioactivos a las diferentes matrices alimentarias es un aspecto desafiante en el desarrollo de productos alimenticios funcionales, debido a que el alimento final debe presentar buenas características organolépticas (aparición, sabor, olor, color), tener sabor a un alimento natural y ser estable.

Este tipo de alimentos representan una estrategia valiosa como nuevas alternativas, que permitan incrementar el consumo de frutas y hortalizas y con un gran potencial en cuanto a las propiedades funcionales, para la prevención de estas patologías que suponen un serio problema para los sistemas de salud alrededor del mundo. Existen alimentos que son de consumo masivo, tal es el caso de las mermeladas, jaleas y dulces. Estos alimentos, en su formulación original, contienen una elevada concentración de azúcares simples, como la sacarosa refinada, la cual se encuentra restringida en muchos casos, debido a su influencia en la aparición de Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), como la diabetes y obesidad entre otras. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo se centró en la elaboración de dos formulaciones de una confitura tipo mermelada, una con durazno y zanahoria y otra con ciruela y zanahoria, con características funcionales conferida por el agregado de propóleos como fuente principal de sustancias bioactivas y calidad organoléptica aceptable. A las dos formulaciones de este alimento, se realizaron análisis de Capacidad Antioxidante (CA), determinado mediante el ensayo equivalente de Trolox (TEAC), y la composición de Polifenoles Totales (PT), utilizando el método de Folin Ciocalteu con algunas modificaciones y su posterior evaluación sensorial mediante una prueba de aceptación en consumidores. Los resultados mostraron a la segunda formulación (zanahoria y ciruela amarilla), con mayor nivel de aceptación y preferencia, indicando probablemente que la razón de este resultado estaba dado por los atributos de sabor dulce y la acidez, obtenidos de las pruebas sensoriales realizadas. Así mismo se vio que las confituras desarrolladas presentaron buena actividad antioxidante debido a la presencia del extracto de propóleos adicionado.

Palabras claves: Mermeladas, Propóleos, Capacidad antioxidante, Alimento funcional.



abstract

In Argentina, changes in food consumption patterns follow the global trend, and are manifested throughout the social fabric.

The implementation of bioactive ingredients to the different food matrices is a challenging aspect in the development of functional food products, because the final food must have good organoleptic characteristics (appearance, taste, smell, color), taste like natural food and be stable.

This type of food represents a valuable strategy as new alternatives, which allow increasing the consumption of fruits and vegetables and with great potential in terms of functional properties, for the prevention of these pathologies that represent a serious problem for health systems around the world.

There are foods that are widely consumed, such is the case of jams, jellies and sweets. These foods, in their original formulation, contain a high concentration of simple sugars, such as refined sucrose, which is restricted in many cases due to its influence on the appearance of Chronic Noncommunicable Diseases (ECNT), such as diabetes and obesity among others. For this reason, the objective of this work was focused on the elaboration of two formulations of a confiture jam type, one with peach and carrot and another with plum and carrot, with functional characteristics conferred by the addition of propolis as the main source of bioactive substances and acceptable organoleptic quality. To the two formulations of this food, Antioxidant Capacity (AC) analysis was carried out, determined by the Trolox equivalent assay (TEAC), and the composition of Total Polyphenols (PT), using the Folin Ciocalteu method with some modifications and its subsequent sensory evaluation through a consumer acceptance test. The results showed the second formulation (carrot and yellow plum) with a higher level of acceptance and preference, probably indicating that the reason for this result was given by the attributes of sweet taste and acidity, obtained from the sensory tests carried out. Likewise, it was seen that the jams developed presented good antioxidant activity due to the presence of the added propolis extract.

Keywords: jams, Propolis, Antioxidant capacity, Funcional food



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

1. Introducción

1.1. Presentación

En las últimas décadas, la Argentina ha experimentado importantes cambios en las conductas, estilos y hábitos en el consumo de alimentos, modificando el panorama nutricional de su población. En el Manual del nutricionista, ENNyS 2 (Ministerio de Salud y Desarrollo Social, 2019), surgieron datos alarmantes mostrando una elevada incidencia de Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), siendo la obesidad la forma más frecuente de malnutrición.

En agosto de 2018, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó una serie de sugerencias teniendo en cuenta que llevar una dieta sana a lo largo de la vida ayuda a prevenir la malnutrición en todas sus formas, así como diferentes ECNT y trastornos (OMS, 2018). Entre ellas, se recomienda: consumir al menos 400 g (cinco porciones) de frutas y hortalizas al día, exceptuando vegetales feculentos; que menos del 30% de la ingesta calórica diaria provenga de grasas; consumir menos de 5 g al día de sal; que menos del 10% de la ingesta calórica total provenga de azúcares libres.

Con respecto al consumo de azúcares, en el año 2015 la OMS presentó una directriz con el objeto de formular recomendaciones sobre su ingesta, a fin de reducir el riesgo de contraer ECNT en adultos y niños, centrándose en particular en la prevención y el control del aumento de peso malsano y las caries dentales (OMS, 2015). En este sentido la OMS estableció una recomendación firme y una recomendación condicional con una ingesta menor al 10% y al 5% de la ingesta calórica total, respectivamente.

En cuanto a las frutas y verduras, se observó que un bajo consumo está asociado a una mala salud y a un mayor riesgo de sufrir ECNT. Además, las frutas y las verduras son una fuente rica de vitaminas y minerales, fibra alimentaria y otras sustancias que si bien no son nutritivas cumplen otras funciones beneficiosas, como fitoesteroles, flavonoides y otros antioxidantes. El consumo variado de frutas y verduras ayuda a asegurar una ingesta adecuada de muchos de esos nutrientes esenciales (OMS, 2019).

En la formulación de esta confitura tipo mermelada, se propone el agregado de extracto de propóleos como un aporte significativo de sustancias bioactivas desde el alimento, debido al contenido natural de polifenoles con elevada capacidad antioxidante que posee este subproducto de la colmena.



De acuerdo a lo establecido en las Guías Alimentarias para la Población Argentina (GAPA) elaboradas por el Ministerio de Salud de la Nación en el año 2016 lo recomendable es un consumo diario de 700 g de frutas y verduras (400 g de hortalizas no feculentas y 300 g de frutas), sin embargo la última Encuesta Nacional de Gastos de los Hogares (ENGHo) realizada en el año 2012 indicó que el consumo promedio es de 135 g de hortalizas no feculentas y 93 g de frutas, es decir, un valor total de 228 g que sólo alcanzan a cubrir el 32,5% del consumo diario recomendado en nuestro país (Giacobone y col., 2018).

En las últimas décadas, Argentina ha experimentado importantes cambios en las conductas, estilos y hábitos en el consumo de alimentos, modificando el panorama nutricional de su población. En la Segunda Encuesta Nacional de Nutrición publicada en septiembre de 2019 (Ministerio de salud, 2019), surgieron datos alarmantes mostrando una elevada incidencia de sobrepeso y obesidad, siendo ésta última la forma más frecuente de malnutrición

Los alimentos funcionales son productos que contribuyen a reducir el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) tales como el cáncer, la diabetes, el sobrepeso y la obesidad, gracias a la acción de sus compuestos bioactivos o bien por la ausencia, sustitución o reducción de determinados ingredientes.

1.2. Tema

El presente trabajo está enfocado en el desarrollo de un alimento bajas calorías, ya que no contiene en su formulación azúcares refinados como la sacarosa, con alto contenido de sustancias bioactivas (antioxidantes), provenientes del extracto de propóleos adicionado, que le confieren propiedades funcionales, y cuyo propósito es ayudar, a través de su consumo, a la prevención de Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT), como las cardiovasculares, obesidad, diabetes, entre otras.

De acuerdo al plan de estudio de la Maestría en Gestión de la Seguridad Alimentaria (MaGeSA) de la Universidad ISALUD, el desarrollo de este alimento, estaría enmarcado principalmente en los siguientes campos disciplinarios:

- Calidad Nutricional de los Alimentos
- Investigación de Mercados y Tendencias de Consumo en Alimentos



- Diferenciación y Regulación en Alimentos
- Investigación, Desarrollo e Innovación de Productos

1.3. Contexto

A nivel mundial existe una creciente demanda por alimentos que brinden al consumidor una variedad de beneficios para su salud, debido a la atención a las nuevas exigencias sociales y en temas de salud, motivando la aparición de alimentos funcionales, además de brindar sus funciones nutritivas generales, proporcionan propiedades para el mantenimiento de la salud, pero sin que conlleve cambios sustanciales en su dieta habitual (Martirosyan et al., 2020).

En 2016, las ECNT fueron responsables del 71% (41 millones) de los 57 millones de muertes que ocurrieron en todo el mundo. Las principales ECNT responsables de estas muertes fueron las enfermedades cardiovasculares (31% de las muertes mundiales), cánceres (16% de las muertes mundiales), enfermedades crónicas respiratorias (7% de las muertes mundiales) y diabetes (3% de las muertes mundiales) (OMS, 2018).

Los alimentos funcionales por lo general aportan nutrientes que, junto con una dieta adecuada y ejercicio regular, pueden desempeñar un papel protector en la salud, Zapata (2020). Por tal razón es indispensable conocer los principios activos, sus propiedades y funciones en el organismo.

El consumo excesivo de azúcares, grasas y sodio es un problema de salud pública que se asocia a las enfermedades no transmisibles que más afectan a la población: sobrepeso u obesidad, diabetes, hipertensión arterial, enfermedades vasculares, cardíacas, cerebrales y renales. La mala alimentación guarda una estrecha relación con estos tres factores principales de riesgo en la región, debido en gran parte a la ingesta excesiva de azúcares, grasas totales, grasas saturadas, grasas trans y sodio, los denominados “nutrientes críticos” de preocupación para la salud pública. El etiquetado de advertencia en el frente del paquete es una herramienta simple, práctica y eficaz para informar al público sobre productos que pueden dañar la salud y ayudar a orientar las decisiones de compra (OPS, 2023).

En la actualidad tanto las ECNT como las Enfermedades Cardiovasculares (EC), obesidad y diabetes, entre otras, son cada vez más frecuentes en la población general. Muchas personas optan por consumir productos con bajo o sin contenido de azúcares



refinados, a su vez que contengan ingredientes naturales con propiedades funcionales (como compuestos con capacidad antioxidante o ricos en fibra).

Uno de los mayores retos a los que se enfrenta en la actualidad la industria alimentaria es ofrecer alimentos que cumplan con las necesidades nutricionales, de salud, bienestar y conveniencia de los consumidores. Una alimentación y nutrición adecuadas previenen el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), que son actualmente la principal causa de mortalidad en el mundo.

Los cambios en las conductas del consumidor que cada vez está más informado respecto al valor nutricional de los alimentos procesados, la inocuidad y la calidad de los alimentos, exigiendo un etiquetado más preciso en los valores nutricionales y a la vez sencillo de interpretarlo. En paralelo al desarrollo tecnológico y la necesidad de llegar a las diferentes partes del globo, con poblaciones en crecimiento ha potenciado el consumo de dietas saludables debido al aumento en la demanda de productos alimentarios funcionales (Maldonado, 2021).

Según las Estadísticas Sanitarias Mundiales 2019 de la OMS, 10 principales causas de muerte son ECNT, lo que constituye un aumento con respecto a 2000, año en que las enfermedades no transmisibles eran cuatro de las 10 principales causas de muerte (OMS, 2020).

Según la Organización Mundial de la Salud, para el año 2030 las cuatro causas principales de muerte a nivel mundial serán enfermedad cardíaca isquémica, enfermedad cerebrovascular (ACV), enfermedad pulmonar, obstrucción crónica e infecciones de las vías respiratorias inferiores, principalmente neumonía.

Se prevé que las muertes totales atribuibles al tabaco aumenten de 5,4 millones en 2004 a 8,3 millones. En nuestro continente aproximadamente el 77% de las muertes y el 69% de la carga de enfermedad se atribuye a las ECNT (OMS, 2008).

De los 38 millones de muertes por enfermedades no transmisibles registradas en 2012, más del 40% de ellas (16 millones) fueron muertes prematuras ocurridas antes de los 70 años de edad. La mayoría de las muertes por ENT son prevenibles (OMS, 2014).

Las estimaciones revelan las tendencias de las dos últimas décadas en mortalidad y morbilidad por enfermedades y traumatismos. Asimismo, subrayan claramente la necesidad de prestar una mayor atención en el ámbito mundial a la prevención y el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la diabetes y las neumopatías crónicas, y de reducir los traumatismos, en todas las regiones del mundo,



tal como se establece en la agenda para los Objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas (OMS, 2020).

En la Argentina desde el año 2021 rige la Ley 27642 Promoción de la Alimentación Saludable, a través del etiquetado frontal, aprobada por el Honorable Congreso de la Nación (Boletín Oficial de la República Argentina, 2021), en cuyo art. 1° se refiere a los objetivos de la presente ley y donde expresa:

- a) Garantizar el derecho a la salud y a una alimentación adecuada a través de la promoción de una alimentación saludable, brindando información nutricional simple y comprensible de los alimentos envasados y bebidas analcohólicas, para promover la toma de decisiones asertivas y activas, y resguardar los derechos de las consumidoras y los consumidores;
- b) Advertir a consumidoras y consumidores sobre los excesos de componentes como azúcares, sodio, grasas saturadas, grasas totales y calorías, a partir de información clara, oportuna y veraz en atención a los artículos 4° y 5° de la ley 24.240, de Defensa al Consumidor;
- c) Promover la prevención de la malnutrición en la población y la reducción de enfermedades crónicas no transmisibles.

1.3.1. Situación actual de la producción de mermeladas en la Argentina

En nuestro país, el consumo anual promedio per cápita desde los 90's hasta el 2005 ha sido de 1,8 a 1,5 kg en dulces -media 1,65- y de 1,7 a 1,2 -media 1,45- en mermeladas. El consumo de dulces en el 2019, cayó y afectó a grandes marcas en un 13,50 % en los últimos 5 años, e históricas empresas de dulces cerraron sus plantas en los últimos 3 años (Fonseca, 2022).

La caída de consumo de dulces generó que fábricas que llevaban trabajando en nuestro país más de 30 o 40 e incluso 100 años tuviera que cerrar plantas y parar líneas de producción. Por ejemplo, la empresa Arcor por la caída del consumo suspendió unos meses el trabajo de su planta de San Pedro en la provincia de Buenos Aires. También, la empresa Canalé quebró en enero de 2019 después de 143 años los empleados lograron que la justicia los avale para convertirla en cooperativa el último mes. La fábrica Tía



Maruca, llevo a pagar sus salarios en cuotas, a un paso del concurso por endeudamiento (Fonseca, 2022).

1.3.2. Situación actual de la producción de mermeladas en Latinoamérica

El mercado latinoamericano de mermeladas, jaleas y conservas está impulsado por una mayor preferencia por los productos listos para comer, los cambios en los estilos de vida y las preferencias alimentarias de los consumidores y la creciente popularidad de los materiales alimentarios de sabores versátiles. La industria también está experimentando una gran demanda, ya que estos productos son ampliamente disfrutados por los consumidores de todas las edades. Además, como estos productos también se utilizan para la fabricación de otros alimentos como galletas, pasteles, ensaladas, batidos, entre otros, tienen una gran demanda en la industria de alimentos y bebidas. (Arroyo y Sosa, 2021; Gongora Loza, Mendizabal Nieto y Zorrilla Morris, 2019).

Una tendencia reciente que se ha observado en el mercado es un rápido cambio del consumidor de mermeladas dulces, jaleas y conservas normales a otras variantes, como dulce y picante, dulce y ahumado, entre otros sabores. Esto tiene un impacto positivo sobre el mercado. Además, hoy en día, los consumidores buscan dietas fortificadas, más sabrosas, más saludables y bajas en grasas. Esto ha creado una lucrativa oportunidad de crecimiento para que los actores de la industria produzcan nuevas variantes de los productos con edulcorantes sin calorías o con alternativas de azúcar como agentes aromatizantes naturales y conservantes.

El mercado de mermeladas, jaleas y conservas en América Latina está experimentando un crecimiento sustancial debido a la creciente popularidad de los productos listos para comer y la amplia disponibilidad de estos productos alimenticios en diversos sabores.

La creciente aplicación de estos productos en la industria de alimentos y bebidas para fabricar galletas, pasteles y pasteles también es un factor clave para inducir el crecimiento del mercado. Además, cambiar los estilos de vida de los consumidores y las preferencias alimentarias también influye positivamente en el crecimiento del mercado objetivo. Además, dado que estos productos son ampliamente disfrutados por consumidores de todas las edades, la industria está experimentando un aumento significativo en la demanda de productos. Durante el período de pronóstico, se espera



que el aumento de las actividades de I+D y el desarrollo de nuevas variantes de productos, como edulcorantes orgánicos, naturales o sin calorías, impulsen el crecimiento de la industria. (EMR, 2022).

Las empresas principales del mercado latinoamericano de mermeladas, jaleas y conservas incluyen:

- Famesa
- La empresa Kraft Heinz
- Unilever plc
- Nestlé SA
- Arcor

1.3.3. Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en Europa

- Los recipientes de vidrio son la opción más popular y la tendencia se está moviendo hacia tamaños más pequeños que satisfacen las necesidades del consumidor, por ejemplo, hogares más pequeños.
- Los productos de origen local siguen siendo una tendencia, y esto también se aplica al mercado de las mermeladas de frutas.
- Los productos que ofrecen valor agregado están ganando adeptos. Ejemplos de estos productos incluyen pastas de frutas con un contenido de fruta particularmente alto, pero que no contienen semillas.
- Las ventas de alimentos en línea son especialmente relevantes en el segmento de "alimentos saludables".
- Los sabores más populares de Europa son las frutas rojas, especialmente las fresas. Otros sabores populares incluyen frutas cítricas, frambuesas, frutas tropicales (damascos) y cereza.
- En el año 2015, los sabores predilectos fueron naranja y limón mezclados con ingredientes poco usuales, como jerez o mojito.
- El consumo de productos gourmet se vuelve cada vez más generalizado y depende menos del nivel de poder adquisitivo de los clientes.
- La comercialización de productos orgánicos debe contar con la certificación comunitaria u otros sellos nacionales de los países integrantes de la UE.



1.3.4. Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en Alemania

Mintel, la agencia de inteligencia de mercado líder en el mundo, registró en el periodo enero 2010 – marzo 2017, 88 lanzamientos de mermeladas, de las cuales: 43,2% “orgánico/biológico”; 39,8% “sin aditivos/conservantes”; 14,8% “bajo en/sin azúcar”; 12,5% “ético/envase responsable con el medio ambiente”; 11,4% “bajo en/sin agentes alérgicos”; 9,1% “funcionales”; 35,2% se venden en supermercados; solo un 1,1% vía online. Un 23,9% corresponden a “marcas propias”; 4,5% de los productos proviene de Francia y más de 92% está envasado en frascos de vidrio liso donde frutilla, damasco y ciruelas son los principales sabores (ProChile, 2017).

Alemania es el mayor mercado de productos orgánicos en Europa. En 2014, el valor del mercado aumentó un 4,8% y representó el 6,7% de las ventas minoristas de frutas en relación al año anterior.

Las mermeladas y mieles son parte integral de la cocina y del espectro culinario alemán y no pueden ser etiquetados como "Mermelada", a menos que contenga por lo menos 20% de fruta cítrica. De lo contrario, debe ser rotulado como "Konfitüre".

El consumidor alemán requiere como parte de su cultura que los productos cumplan con certificaciones ambientales y que aseguren la trazabilidad del producto (HACCP, ISO, GLOBAL GAP, Comercio Justo, entre otros) y busca en la certificación que le garanticen calidad e inocuidad del producto (ProChile, 2017).

1.3.5. Mermeladas Orgánicas Principales. Tendencias en España

Mintel, la agencia de inteligencia de mercado líder en el mundo, registró en el periodo enero 2010 – marzo 2017, 229 lanzamientos de mermeladas de los cuales: 49% se rotulan como un producto “sin aditivos/conservantes”; 25,1% - “orgánico/biológico”; 22% - “bajo en/sin agentes alérgicos”; 21,9% - “sin aditivos/conservantes”; 21,9% - “bajo en/sin azúcar”; 46% se venden en supermercados; un 20% en grandes tiendas; Un 18,8% corresponden a marcas propias; Un 6% de los productos lanzados proviene de Argentina y un 3,3% de Brasil; Más de 90% está envasado en frascos de vidrio liso donde el durazno y frutilla son los sabores principales de los productos, seguido de frambuesa, ciruelas y damascos.



Según datos del año 2015, el área metropolitana de Madrid es la zona española donde más mermelada se consume, seguida del área metropolitana de Barcelona. Desayuno y merienda han sido tradicionalmente los dos momentos de consumo asociados a mermeladas y confituras. No obstante, se observa una baja en el consumo que ha permitido nuevos usos ligados a su utilización en la cocina: nuevos sabores, texturas y mezclas para ser usada en platos salados, gastrobares, etc. (ProChile, 2017).

1.4. Relevancia y Justificación

Según el Ministerio de Desarrollo Social de la Argentina (2020), una alimentación saludable, es la que nos aporta los nutrientes y la energía que necesitamos para mantenernos sanos. Por eso, es importante elegir alimentos variados, frescos y naturales como:

- **Frutas y verduras:** aportan fibra, vitaminas y minerales.
- **Carnes y huevos:** son fuente de hierro y proteínas.
- **Leche, yogur y quesos:** son ricos en calcio y proteínas.
- **Legumbres, cereales, papas y pastas:** tienen fibra, vitaminas y proteínas.
- **Aceites, frutas secas y semillas:** brindan grasas esenciales y vitaminas.
- **Tomar 8 vasos de agua segura por día.** No esperes a tener sed para hidratarte. (Argentina.gob.ar, s.f.).

Buena parte de la producción de frutas y vegetales argentinos tiene como destino la industria. La mayor proporción se destina a la industria conservera, donde se destacan los productos desecados y deshidratados, así como los dulces y las mermeladas. Estos tres sectores cuentan con décadas de historia, aunque en los últimos años, mediante su modernización, han crecido sostenidamente. (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, 2019).

En la provincia de Entre Ríos existen numerosos emprendimientos de carácter artesanal, destacándose la producción de confituras como los dulces, mermeladas, panificados y otros tipos de conservas. Estos productos son muy codiciados por las personas que



habitan la provincia y por el gran caudal turístico que la visita en cada temporada. Por tal motivo, se adjudica gran relevancia al presente trabajo, ya que el objetivo principal es poder ampliar la gama de ofertas de productos en conservas de la región, dentro de la variedad de confituras tipo mermeladas, apuntando al desarrollo de un alimento diferenciado con características funcionales y sin agregado de azúcares simples, para lograr una alimentación más sana y saludable dentro de la misma gama de productos (Ministerio de Desarrollo Social de Entre Ríos, 2023).

2. Planteamiento del Problema

El trabajo de investigación y desarrollo de este tipo de alimento, surge de la necesidad de encontrar una formulación que tenga propiedades de un alimento funcional y sin agregado de azúcares simples como la sacarosa, con beneficios para la salud y pueda ser destinado a personas que posean alguna Enfermedad Crónica No Transmisible, en adelante ECNT, como la diabetes, obesidad, enfermedad cardiovascular, etc. y para los consumidores en general.

El producto se encuadra dentro de las confituras y se basa en la elaboración de una mermelada bajas calorías en cuya formulación contiene una fruta como la ciruela amarilla y una hortaliza como la zanahoria, sin agregado de azúcares simples y con extracto de propóleos como fuente de sustancias bioactivas.

Es ampliamente sabido que el consumo excesivo de azúcares simples refinados es perjudicial para la salud, es por ello, que este trabajo se centró en la idea de sustituir este ingrediente procesado y refinado por edulcorantes no calóricos de origen natural y sintético como la stevia y sucralosa, respectivamente.

Por todo esto, para el presente trabajo de tesis se plantea el siguiente problema de investigación:

¿Cómo lograr una formulación de confitura tipo mermelada sin azúcares simples adicionados y con alto poder antioxidante, mediante el agregado de un subproducto de la colmena como el propóleos, destinado a personas con ECNT y para el consumidor en general, en la provincia de Entre Ríos?



3. Hipótesis

Considerando que el producto se alinea con la tendencia actual de los consumidores en disminuir o evitar el consumo de productos con alto contenido en azúcares simples, como la sacarosa, y con la búsqueda de alimentos con gran aporte de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, para una alimentación más saludable, el presente trabajo sostiene que *“es factible el desarrollo y elaboración de una confitura tipo mermelada con compuestos bioactivos proveniente del propóleo y sin azúcares simples agregados, que aporte alto valor nutritivo y tenga aceptación por las personas general y los consumidores habituales de mermeladas de tipo tradicionales”*.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

- Desarrollar un alimento tipo mermelada, sin el agregado de azúcares simples, con la adición de extracto de propóleo como fuente de compuestos bioactivos que aporten capacidad antioxidante y le confieran propiedad funcional al producto.

4.2. Objetivos Específicos

- Realizar una caracterización funcional del extracto de propóleo a utilizar como ingrediente, mediante la determinación de la capacidad antioxidante y los compuestos polifenólicos totales.
- Formular y optimizar el proceso de elaboración en todas las etapas de la confitura tipo mermelada.
- Efectuar la caracterización fisicoquímica, funcional y sensorial de las mermeladas finales obtenidas y seleccionar la que presente mejores propiedades.



5. Marco Teórico

5.1. Confituras y Mermeladas

En el mercado las confituras tipo mermeladas y jaleas comparten el momento de compra del consumidor, tienen una pauta sensorial similar, igual momento de consumo y también suelen exhibirse en los comercios en forma conjunta o muy cercana. Estos productos se consumen como un untable, vale decir, para acompañar alguna galletita de agua o de salvado, tostada, pan fresco, grisín, etc.; o bien utilizarse en repostería (elaboración de tortas, postres, galletitas dulces, pastelitos, y otros). Por lo general, mermeladas y jaleas se venden en potes de plástico o de vidrio.

También existen desarrollo de productos, donde se propone un alimento simbiótico, mediante la incorporación de fibra dietaria (prebiótico) y algún probiótico. Así, el objetivo del presente trabajo fue elaborar una jalea a base de corozo simbiótica, con adición de inulina como agente prebiótico y *Lactobacillus casei* como probiótico, con el fin de desarrollar un nuevo producto que podría ayudar a personas con problemas gastrointestinales. (Leiva Garcia y Lora Suarez, 2020).

Existen diversas presentaciones que varían en función de la fruta u hortaliza utilizada (durazno, naranja, frutillas, zanahorias, zapallos, etc.) así como también, clásicas o light. Respecto a las ventas, en las mermeladas cabe distinguir dos aspectos: en primer lugar, el papel que desarrolla la imposición de marcas en la percepción de los consumidores, cuyo correlato son las importantes diferencias de precio entre las distintas mermeladas, aun cuando se trate del mismo sabor y tipo (clásica o light); y, en segundo lugar, las significativas disparidades de precios existentes entre sabores o gustos dentro de una misma marca y tipo de producto. En cuanto a este segundo elemento, la oferta de sabores de cada línea de mermeladas no es igual en todas las marcas. Sin embargo, las principales firmas del negocio abarcan una oferta de gustos muy similares. Dentro de este abanico se registran importantes diferencias entre los precios de las mermeladas más tradicionales (durazno, ciruela, naranja, entre otros) y los elaborados en base a frutas de estación (frutilla, mora, frutos del bosque, entre otros). (Franco, 2021).

Las principales diferencias que existen entre los productos de primeras y segundas marcas radican en primer lugar en la calidad, seguida por la presentación del producto.



Las empresas productoras más importantes concentran su producción de pulpas (insumo) o mermeladas en Mendoza. Entre las mismas, BENVENUTO (La Campagnola), REDEPA (Canale) y MOLTO, producen mermeladas en la provincia mencionada, mientras que la cordobesa ARCOR también posee su planta de pulpas en dicha localización, hecho que podría explicarse por la importante producción frutícola de la jurisdicción. (Franco, 2021).

5.1.1. Marco regulatorio

En cuanto a la normativa vigente, se tuvieron en cuenta los siguientes puntos para la formulación de este proyecto:

La elaboración de mermeladas se encuentra reglamentada en:

- Código Alimentario Argentino (CAA), Capítulo X. Ley 18284 y sus decretos reglamentarios.
- Norma de referencia Norma del CODEX para las confituras, jaleas y mermeladas (CODEX STAN 296-2009)

Confituras

En el Código Alimentario Argentino (CAA), en el capítulo X, dentro del artículo 807 se especifica "Con la denominación genérica de Confituras, se entienden los productos obtenidos por cocción de frutas, hortalizas, o tubérculos (enteros o fraccionados), sus jugos y/o pulpas, con azúcares (Azúcar, dextrosa, Azúcar invertido, jarabe de glucosa o sus mezclas), los que podrán ser reemplazados parcial o totalmente por miel" (ANMAT, 2023).

Mermeladas

Con la denominación genérica de Mermelada, se entiende la confitura elaborada por cocción de frutas u hortalizas (enteras, en trozos, pulpa tamizada, jugo y pulpa normal o concentrada), con uno o más de los edulcorantes mencionados en el Artículo 807. Deberá cumplimentar las siguientes condiciones:

- a) El producto terminado tendrá consistencia untable y se presentará como una mezcla ínfima de componentes de frutas enteras o en trozos.
- b) Dicho producto tendrá sabor y aroma propios, sin olores ni sabores extraños.



c) La proporción de frutas y hortalizas no será inferior a 40,0 partes % del producto terminado.

d) Cuando la naturaleza de la materia prima lo exigiere, se admitirá la presencia de piel y/o semillas en la proporción en que naturalmente se encuentren en la fruta fresca (tomates, frutillas, frambuesas y semejantes) y en la parte proporcional que corresponde de acuerdo a la cantidad de fruta empleada.

e) El producto terminado deberá contener una cantidad de sólidos solubles no menor de 65,0% (determinados por refractometría según la Escala Internacional para sacarosa). Este producto se rotulará: Mermelada de: ..., llenando el espacio en blanco con el nombre de la fruta y hortaliza con caracteres de igual tamaño, realce y visibilidad. Cuando se elabora con mezcla de frutas u hortalizas, deberán declararse sus componentes en valor decreciente de sus proporciones. En el rótulo se consignará el peso neto del producto envasado

En el CAA, capítulo X, artículo 810, se especifica que, en cualquier caso, tanto las mermeladas como las confituras poseen una gran cantidad de azúcar en su composición, lo que hace que su consumo debe ser moderado, más todavía para quienes busquen o deban reducir la ingesta de azúcares simples añadidos, sea por alguna dieta específica indicada o por cuidado preventivo de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes suprimiendo o disminuyendo su consumo. Además, muchos fabricantes añaden a sus mermeladas y confituras otro tipo de aditivos, como los conservantes artificiales, para mantenerlos en buenas condiciones durante su vida en góndolas (ANMAT, 2023).

5.1.2. Proceso general de elaboración de mermeladas

El proceso de elaboración de mermeladas comprende tres etapas:

La primera es una preparación que incluye, dependiendo de la fruta, su lavado, selección, clasificación por tamaño, remoción de cáscara, carozos y/o semillas y el trozado o cubeteado. Se sugiere utilizar fruta fresca, aunque normalmente se utiliza una combinación de fruta madura con aquella que recién empezó su maduración. Si se emplea la fruta demasiado madura no se produce una correcta gelificación. Este acondicionamiento tiene como objetivo eliminar frutas no aptas, reducir la suciedad y obtener un producto homogéneo (Franco, 2012).



En la segunda etapa la fruta se mezcla con los otros ingredientes (principalmente azúcar) y se realiza la cocción y concentración. En esta parte el producto adquiere características sensoriales propias, al tiempo que la concentración y el agregado de azúcar permiten incrementar su vida útil.

Finalmente, en la última etapa el producto obtenido es envasado y rotulado.

5.1.3. Diagrama de flujo general

Figura 1: Diagrama general del proceso de elaboración de mermeladas tradicionales.



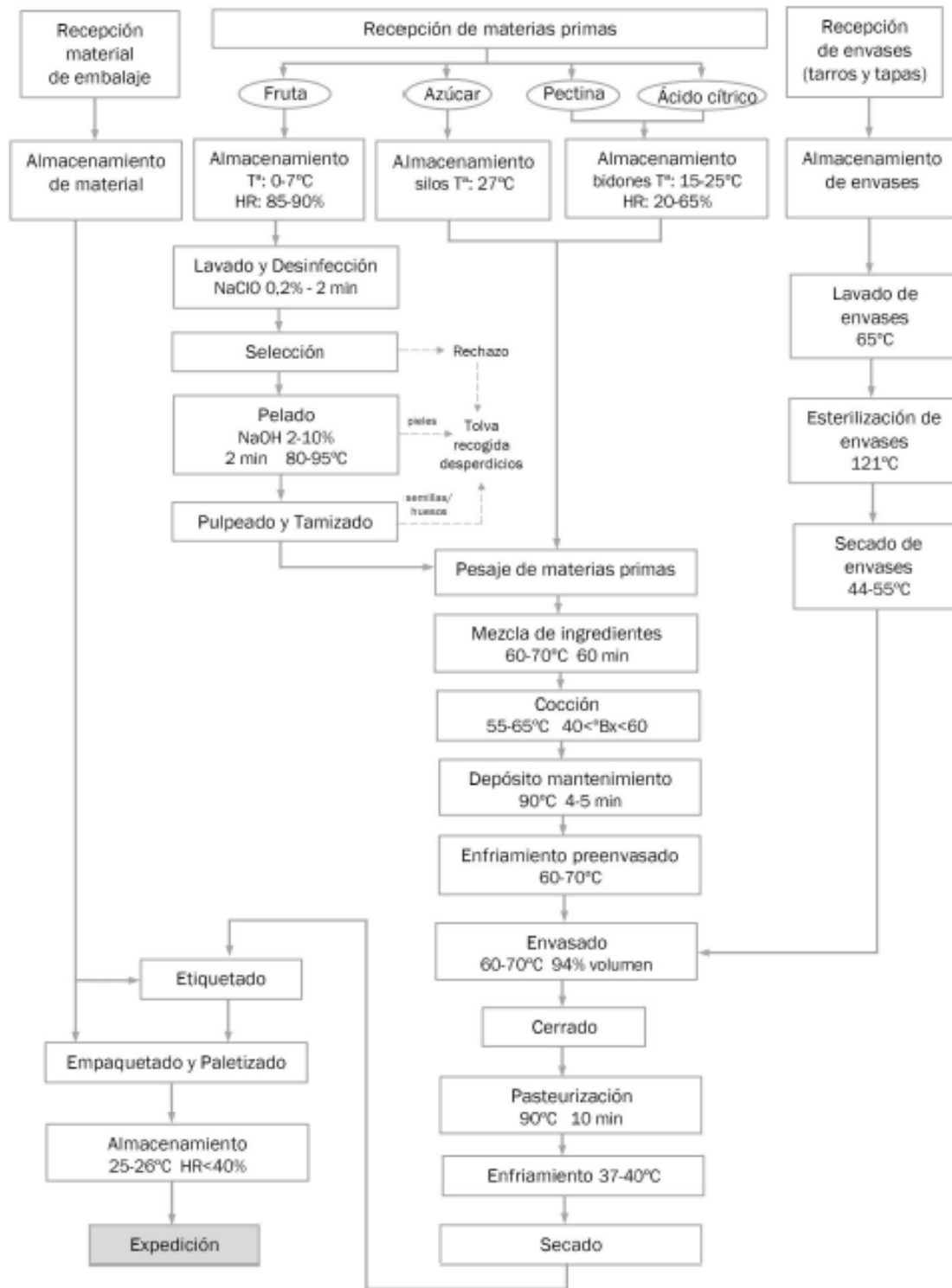


Figura 1: Diagrama general del proceso de elaboración de mermeladas.

Fuente: (Muñoz Alvarez, 2022).



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

5.2. Alimentos Funcionales (AF)

El concepto de alimentos funcionales surgió en los años '80 en Japón, cuando las autoridades sanitarias observaron que, para controlar los gastos sanitarios causados por la mayor esperanza de vida de la población anciana, había que garantizar también una mejor calidad de vida. Se consideran alimentos funcionales aquellos que, con independencia de aportar nutrientes, han demostrado científicamente que afectan 9 beneficiosamente a una o varias funciones del organismo, de manera que proporcionan un mejor estado de salud y bienestar. Estos alimentos, además, ejercen un papel preventivo ya que reducen los factores de riesgo que provocan la aparición de enfermedades (Aguirre, 2019).

Japón es quién más avanzado se encuentra en materia de definición y regulación, porque desde 1980 diseña alimentos FOSHU (*Food for Specified Health Use*) para mejorar la salud de su población longeva. Aunque sólo dos alcanzaron esta categoría por el rigor de las pruebas, muchos diseños se inscriben en categorías menores (Durán y Valenzuela, 2010).

Europa se referencia en el ILSI (*International Life Sciences Institute*), que exige estudios clínicos, pero en cambio en Estados Unidos la FDA (*Food and Drug Administration*), a través de una reglamentación inespecífica, permite hasta 15 alegaciones de salud. En Argentina el CAA (Código Alimentario Argentino) es el marco jurídico para los alimentos en el mercado interno, pero su definición ambigua, el carácter federal del proceso de autorización y la escasa fiscalización permitieron que durante 15 años se comercializarán sin inscripción prebióticos, probióticos y fitoquímicos (químicos que se encuentran naturalmente en los vegetales y tienen funciones beneficiosas aun sin tener función energética o nutricional), argumentando que, perteneciendo a multinacionales extranjeras, ya poseían el aval de países donde existen regulaciones más estrictas. Recién en 2015, la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) procedió a regular, no los alimentos, sino las alegaciones de salud que las empresas pueden usar para publicitarlos. (Aguirre, 2019).

Todos los días, numerosos avisos publicitarios, emitidos por diversos medios de comunicación, difunden las supuestas propiedades benéficas de algunos alimentos en la



prevención o tratamiento de determinadas enfermedades. Los consumidores suelen dividirse entre quienes confían en ellos, y quienes los rechazan. Entre estas posturas extremas, se encuentran quienes dudan acerca de la veracidad de los contenidos de los anuncios, pero carecen del acceso a la información que les permita responder a esas inquietudes. Al quedar sin respuesta surgen ciertos interrogantes tales como: ¿Es verdad que esta clase de leche posee propiedades terapéuticas? ¿Es cierto que puede prevenir determinados trastornos? (Rodríguez Muñoz, 2016).

Uno de los modos de aproximarse a esta cuestión es revisar las apreciaciones técnicas existentes en la materia. Los especialistas definen al alimento como *“toda sustancia natural o procesada que se ingiere con el fin de satisfacer la incorporación de los nutrientes para el mantenimiento de las funciones vitales del organismo”*.

Según esta concepción, entonces, no habría ningún vínculo entre alimentos y enfermedades. Sin embargo, en los últimos años se ha aceptado la existencia de un grupo particular de alimentos, los Alimentos Funcionales (AF), que son definidos por los especialistas como aquellos *“capaces de aportar sustancias con funciones fisiológicas definidas, brindando beneficios para la salud de quien los consume”*.

Para que un alimento pueda ser considerado funcional, debe demostrar que posee un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, que mejora el estado de salud y de bienestar, o bien que reduce el riesgo de una enfermedad (Foodtech, 2022).

Esto significa que estos alimentos deben contener, necesariamente, alguno de los llamados componentes o ingredientes funcionales, entre los cuales pueden mencionarse como ejemplos:

Vitaminas: son compuestos orgánicos nutricionalmente esenciales para el organismo, ya que regulan procesos metabólicos y no pueden ser sintetizadas por el cuerpo. Las más conocidas son A, C, D y B.

Antioxidantes: son componentes de los alimentos. Se encuentran en frutas, verduras y hortalizas y previenen el ataque de los radicales libres hacia las células. Ej.: vitaminas A (carotenos), C y E, selenio y coenzima Q 10, Flavonas, Flavonoides, antocianinas, etc.

Minerales: Calcio, hierro, fósforo, magnesio, selenio, boro, cromo, cobre, níquel y zinc.

Fibras dietarias: son partes de frutas, vegetales, granos, nueces y legumbres que no pueden ser digeridas por los seres humanos. Mejoran la absorción de nutrientes,



favorecen el tránsito gastrointestinal y pueden ayudar a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y otras.

Las fibras se clasifican en insolubles (proceden de vegetales y frutas, como los oligosacáridos) y solubles (proceden de cereales, harinas, semillas y otros alimentos, como el salvado de avena), (ANMAT, 2014; Leal, 2016).

Entre los productos que podrían considerarse como funcionales, por contener éstos u otros componentes, pueden mencionarse los lácteos enriquecidos con vitaminas, minerales, fitoesteroles u omega 3, y las barras de cereales con vitaminas y/o fibras. También, los yogures con probióticos, es decir, con microorganismos vivos que, al ser ingeridos en cantidades suficientes, ejercen un efecto positivo en la flora intestinal, como el *Lactobacillus acidophilus*, y los llamados alimentos ricos en fibras o prebióticos (sustancias no digeribles que pueden ser fermentadas por la flora bacteriana intestinal, y provocan un efecto favorable sobre ella). Los flavonoides son compuestos fenólicos con una alta capacidad antioxidante que están presentes en la mayoría de las plantas, especialmente en las frutas y las hortalizas. Debido a su capacidad biológica han atraído fuertemente la atención de las industrias de procesamiento de alimentos y de las compañías de pigmentos, cosméticas y farmacéuticas (Ochoa M. & Ayala A., 2004).

Los componentes alimentarios proporcionan diferentes beneficios al organismo que los consume, ayudando a disminuir el riesgo de enfermedades o contribuyendo en el manejo de sus síntomas. Existen varios productos en el mercado; la mayoría de estos productos se encuentran en el sector lácteo con leches enriquecidas con vitaminas, complejo B y minerales, también productos derivados de cereales y granos enteros incluyendo cereales de desayuno, galletas, barras de cereales, avenas, fibras, tortillas, granolas y harinas. Afirmando tener beneficios para la salud y son controlados por organismos reguladores, los mismos que buscan garantizar que los alimentos sean seguros para el consumo mediante un etiquetado adecuado (Martirosyan et al., 2021).

5.2.1. Selección de un vehículo funcional

El principio en el desarrollo de productos funcionales es fortalecer alimentos básicos, siendo de vital importancia la elección de una matriz alimentaria que fungirá como vehículo adecuado. Siendo un desafío en la industria alimentaria en países con grandes



poblaciones rurales, con múltiples etnias y culturas al igual que religiones (Al-Jawaldeh et al., 2020).

La selección del vehículo alimentario depende de diferentes factores como se muestra en la Tabla 1, teniendo suma importancia en la producción de alimentos funcionales y la efectividad en la entrega de beneficios al organismo mediante su consumo. (Otunola y Martirosyan, 2021).

Tabla 1: Factores para la identificación de un vehículo funcional.

| Factores | Características |
|----------------|---|
| Primero | La elección del vehículo alimenticio depende de la estabilidad, aceptabilidad y biodisponibilidad de los ingredientes bioactivos dentro del alimento. |
| Segundo | Debe contener cantidades adecuadas de fitonutrientes, las necesarias para producir las acciones fisiológicas deseadas en el cuerpo. |
| Tercero | Debe tener un efecto determinado dirigiéndose a las enfermedades crónicas específicas. |
| Cuarto | Los productos obtenidos deben ser estables en diferentes condiciones como envasado, almacenamiento, distribución y uso. |
| Quinto | Los fitonutrientes deben estar fácilmente disponibles en el vehículo alimenticio. |
| Sexto | La fortificación del alimento no debe impartir ningún tipo de sabor, color aroma o textura indeseables. |
| Séptimo | Los costos de los alimentos enriquecidos, deben ser accesibles para los consumidores. |

Fuente: Otunola & Martiryosan, 2021

En la investigación y desarrollo de este producto, se optó por un alimento de consumo masivo como es el caso de las mermeladas como matriz soporte de las sustancias bioactivas, aportadas por el extracto de propóleos y le confiera el carácter funcional. Esta confitura, se encuentra fácilmente asequible en las góndolas de los comercios de alimentos y puede ser consumida por una franja etaria muy amplia.

El trabajo de tesis se centró en el desarrollo de una confitura tipo mermelada, sin agregado de azúcares simples refinados como la sacarosa, el cual fue sustituido por edulcorantes no nutritivos como la Stevia y Sucralosa, y empleando ingredientes que aporten compuestos bioactivos como el extracto de propóleos, con el objetivo de ofrecer alimentos más saludables y con mayor carácter funcional, que los productos de similar características ofrecidos y disponibles en el mercado de la provincia de Entre Ríos.

A continuación, en la Tabla 2, se muestran algunas definiciones generales de alimentos funcionales empleadas en distintas instituciones. (Moreno y Páez, 2021).

Tabla 2: Definiciones de alimentos funcionales.

| Institución | Definición |
|--|---|
| International Life Science Institute -ILSI | “Un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado suficientemente que beneficia (más allá de proporcionar una nutrición adecuada desde el punto de vista tradicional) a una o varias funciones relevantes del organismo, de manera que proporciona un mejor estado de salud y bienestar y/o reduce el riesgo de padecer una enfermedad |
| Consejo de Nutrición y Alimentación de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos | “Alimentos modificados o que contengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene” |
| Centro de Información Internacional de Alimentos - IFIC | “Aquellos productos a los cuales intencionalmente se les adiciona un compuesto específico para incrementar sus propiedades saludables” |
| Functional Food Science in Europe –FUFOSE- ILSI EUROPA | “Un alimento puede ser considerado funcional si logra demostrar satisfactoriamente que posee efectos benéficos para la salud sobre una o más funciones del organismo – más allá de sus propiedades nutricionales habituales -, en forma relevante para la salud y el bienestar y/o que reduzca el riesgo de alguna enfermedad” |
| European Advisory Service - EAS | “Un alimento que proporciona un beneficio para la salud más allá de lo estrictamente nutricional y del que se puede hacer una declaración acerca de tales efectos” |



| | |
|---------------|---|
| Health Canada | “Un alimento funcional es similar en apariencia, o bien constituye, un alimento convencional que se consume como parte de una dieta habitual, y que ha demostrado tener efectos fisiológicos y/o disminuir el riesgo de enfermedades crónicas, más allá de sus funciones nutricionales básicas; es decir, contienen componentes bioactivos” |
|---------------|---|

Fuente: Leal, 2016

En la Tabla 3, se observan algunos ejemplos de alimentos funcionales más relevantes.

Tabla 3: Ejemplos de alimentos funcionales

| Alimento | Compuesto (s) Bioactivo (s) | Función en el organismo | Autores/ Fuentes |
|--|--|--|--|
| Nopal (Opuntia spp) | Antioxidantes | Disminuye los picos de glucosa y previene la oxidación de moléculas con importancia fisiológica. | INECOL, s.f.; Zamora 2007 |
| Bebidas fermentadas (ej.: pozol y tepache) | Microorganismos fermentadores y prebióticos | Previenen enfermedades gastrointestinales y otro tipo de patologías. | INECOL, s.f.; Martínez-Cervantes et al., 2019 |
| Fine Rice | Hidrólisis de proteínas alergénicas | Disminuye el riesgo de sufrir reacciones alérgicas por el arroz. | Aral, 2002 |
| Leches infantiles y leche de vaca | Hierro, yodo, ácido fólico, ácidos grasos y vit. A y D. | Ayudan a mantener la salud ósea e interviene en el crecimiento y desarrollo de infantes | Beltrán de Heredia, 2016. Hernández Echeverría y Iglesias, 2011. |
| Barritas energéticas, bebidas y productos para deportistas | Omega-3, ácido oleico y fibra | Regulan el metabolismo | Beltrán de Heredia, 2016 |
| Jugos de frutas y bebidas lácteas | Polifenoles, zinc, selenio, carotenoides, cultivos probióticos y vit. E y C. | Actúan como defensa contra el estrés oxidativo y ayudan en el cuidado de la microbiota intestinal. | Beltrán de Heredia, 2016; Martínez-Cervantes et al., 2019 |
| Probióticos y prebióticos | Pectinas y diferentes hidratos de carbono. | Previenen enfermedades intestinales, favorece la | Olveira y Gonzalez Molero, 2007. |



| | | | |
|--|---|--|--|
| | Bacterias como bifidobacterium y lactobacilus | absorción de ciertos compuestos y reducen el riesgo de cáncer colorrectal. | |
|--|---|--|--|

5.2.2. Componentes de la formulación

5.2.2.1. Zanahoria

Familia: *Umbelliferae*.

Nombre científico: *Daucus carota* L.

Es una planta bienal de estación fría con un crecimiento óptimo entre los 15 °C y los 25 °C de temperatura. El hecho de que sea bienal no significa estrictamente que su cultivo comercial dure dos años, sino que tiene dos etapas de crecimiento: una etapa vegetativa y una etapa reproductiva, (ver Figura 2). Durante el primer período de crecimiento, o etapa vegetativa, la planta produce un tallo muy comprimido al ras de suelo y una roseta de hojas, acumulando reservas carbonadas en su raíz hipertrofiada (Renna, 2022).



Figura 2: Etapa vegetativa (izquierda), etapa reproductiva (derecha).

Fuente: (Renna, 2022).



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

Luego de un período de vernalización o exposición a bajas temperaturas (entre 0 y 10 °C), hecho que generalmente ocurre durante el invierno, comienza la etapa reproductiva. En la misma se produce la elongación del tallo y la floración, para lo cual la planta utiliza las reservas acumuladas en la raíz, provocando una lignificación y pérdida del valor comercial de la misma (Renna, 2022).

Calidad Nutricional

La calidad nutricional de las raíces es tan importante como el rendimiento. El color de las raíces, causado por diversos pigmentos, es una de las principales características que determinan la calidad. Las zanahorias naranjas, las más difundidas en Argentina, contienen pigmentos carotenoides, α y β -caroteno, que funcionan como antioxidantes y además son precursores de la vitamina A (retinol). Cuanto más intensa es la coloración naranja, mayor contenido de carotenos tiene la raíz. La variabilidad existente entre variedades de zanahoria va desde 80 ppm hasta 400 ppm de carotenos. En evaluaciones realizadas en la Estación Experimental Agropecuaria, INTA y en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo, se determinó que las variedades más utilizadas en Argentina (de polinización abierta tipo Flakkee) tienen contenidos de carotenos entre 107 y 234 ppm. Existen otros caracteres determinantes de la calidad de la raíz como el contenido de sólidos y de azúcares. Estas características son de interés especialmente cuando la zanahoria se procesa industrialmente por sus efectos sobre el rendimiento y la calidad del producto final. Además, el contenido de azúcares influye en el sabor de la zanahoria, por lo tanto es deseable un alto contenido para el mercado en fresco. El floema (parte externa de la raíz) de la zanahoria es más rico en sólidos y azúcares que el xilema (corazón) y acumula potencialmente más carotenos. Una zanahoria de buena calidad es aquella que tiene un corazón pequeño, y color naranja intenso uniforme en floema y xilema (Wohlfeiler Altavilla, 2021; Vasco, 2022).

El caroteno tiene relación directa con el color anaranjado que se convierte en vitamina A en la mucosa del intestino delgado después de la ingestión y se almacena en el hígado en forma de retinol. La vitamina A es fundamental para el funcionamiento normal de la visión principalmente la visión nocturna, ayuda en el crecimiento, además es de gran importancia para mantener el sistema inmunológico, mejora la calidad de la piel y los protege de los rayos UV, mantiene las mucosas normales. Asimismo, ayuda a prevenir



algunos tipos de cáncer, disminuye el riesgo de accidentes vasculares (Lorenzana Rodríguez, 2020; Silva Perez, 2022) (Saavedra G. & Mellado E. n.d.; Cuaran N. 2009; Cevallos B. 2020).

La zanahoria contiene minerales importantes como el potasio que posee funciones favorables en el organismo como regulación de la excitabilidad de tejidos neuromuscular, cardiovascular ajustada por la relación potasio intra y extracelular, regulación de enzimas intracelulares (síntesis de glucógeno y proteínas) etc. Otro componente nutricional de la zanahoria es la presencia de vitamina C que confiere acción antioxidante que protege a las células de los radicales libres. La zanahoria no es una fuente significativa de calorías en la dieta humana, sin embargo, es una fuente importante de nutrientes por su contenido de vitaminas y minerales (Górriz J. 2019; Silva Pérez, 2022).

Dependiendo del color de la zanahoria, puede indicar contenidos diferentes de pigmentos, entre los que se incluyen carotenoides, antocianinas y otros flavonoides, (ver Figura 3). Entre los beneficios para la salud de estos compuestos se pueden citar la protección contra ciertas formas de cáncer, la reducción de riesgos cardiovasculares y la eliminación de radicales libres (Meléndez-Martínez y col., 2004).

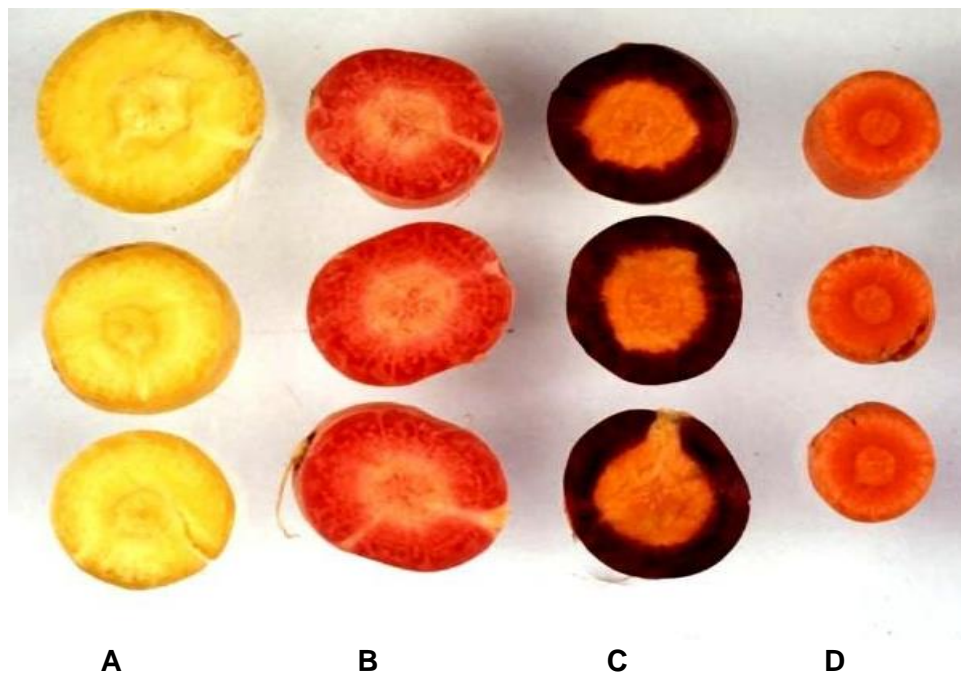


Figura 3: Colores de la zanahoria de acuerdo al contenido de pigmentos.

Fuente: Corporación del Mercado Central de Buenos Aires, 2018

En la figura mencionada, se observa cómo influye el contenido de pigmentos en la coloración de las zanahorias: A) Zanahorias amarillas con xantofilas. B) Zanahorias rojas con licopenos. C) Zanahorias púrpuras y naranjas con antocianinas y betacarotenos. D) Zanahoria naranjas con betacarotenos. En las zanahorias naranjas encontramos principalmente α y β carotenos que son precursores de la vitamina A. Los carotenos tienen propiedades antimutagénicas, fotoprotectoras y de realce del sistema inmune, debido a sus propiedades antioxidantes (Corporación del Mercado Central de Buenos Aires, 2018).

El β caroteno, en particular, colabora con la salud de la piel y reduce el riesgo de la formación de cataratas oculares. En la Tabla 4, se muestra la composición química de la zanahoria (Corporación del Mercado Central de Buenos Aires, 2018).

Tabla 4: Composición química de la raíz de zanahoria

| | | Unidad | Valor/100g |
|-----------|------------------------|--------|------------|
| Agua | | g | 88 |
| Energía | | kcal | 140 |
| Azúcares | | g | 7 |
| Fibra | | g | 1 |
| Proteínas | | g | 1 |
| Grasas | | g | 0,2 |
| Cenizas | | g | 1 |
| Vitaminas | Vitamina A (Carotenos) | mg | 6 - 54 |
| | Vitamina C | mg | 9 |
| | Vitamina B1 | mg | 0,35 |
| | Vitamina B2 | mg | 0,06 |
| | Niacina | mg | 0,8 |



| | | | |
|-----------|----|----|-----|
| Minerales | Ca | mg | 35 |
| | P | mg | 40 |
| | K | mg | 332 |
| | Na | mg | 41 |
| | Mg | mg | 19 |
| | Fe | mg | 0,6 |

Fuente: Boletín de Frutas y Hortalizas / Convenio INTA- CMCBA N° 83 - Corporación del Mercado Central de Buenos Aires. Septiembre 2018.

5.2.2.2. Ciruela amarilla

Morfología y Taxonomía

Familia: *Rosáceas*.

Género: *Prunus*.

Especie: *Prunus domestica* L:

Nombres populares: *Ciruelo*

Origen: *Caúcaso, Anatolia y Persia*.

Variedad utilizada: *Golden Japan*

Fruto: Produce una ciruela de color amarillo grueso, amarillo, piel brillante gruesa y resistente, carne muy jugosa y agradable. Fruto resistente al transporte. Árbol vigoroso y de gran fertilidad. Recolección a mediados de junio, (ver Figura 4).

Características de la variedad: El ciruelo Golden Japan es un árbol vigoroso, de porte abierto y de buena producción de frutos. Pertenece al grupo de ciruelos japoneses y es también una de las variedades más cultivadas en España.

Polinización: El ciruelo Golden Japan es autofértil. En todo caso, a partir de la polinización con ciruelo Santa Rosa, puede mejorar la producción, aunque para su autoconsumo no es necesario (Naranjo y Rodríguez 2003; Petri y col., 2018).



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar



Figura 4: Ciruela amarilla, variedad Golden Japan.

Fuente: Elaboración propia

Floración: Florece entre finales del invierno y principios de la primavera.

Flores: aparecen en pequeños ramos cortos de un año de edad. Son blancas, solitarias, con pedúnculos más cortos que los de las flores del cerezo, pubescentes, aplastados y con pequeñas yemas de escamas ásperas. Tienen un tálamo en copa, en cuyo borde se insertan los sépalos, los pétalos y los estambres, mientras que en el fondo se inserta el ovario. Los sépalos son 5 y los pétalos se alternan con aquéllos también en número de 5, están libres, estrechados en la base y presentan el borde ondulado. Los estambres son numerosos y presentan anteras bilobuladas. El ovario es de forma oval y encierra en una sola cavidad dos óvulos.

Suelo: El suelo debe ser fértil y estar drenado para asegurar un buen desarrollo del árbol. Para ello es recomendable utilizar abono orgánico y minerales.

Planta: árbol de tamaño mediano que alcanza una altura máxima de 5-6 m. Tronco de corteza pardo-azulada, brillante, lisa o agrietada longitudinalmente. Produce ramas alternas, pequeñas, delgadas, unas veces lisas, glabras y otras pubescentes y vellosas.

Sistema radicular: raíces largas, fuertes, plegables, tortuosas, poco ramificadas y poco profundas, que emiten con frecuencia vástagos.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

Hojas: árbol caducifolio de hojas oblongas, aserradas, de color verde, lisas por el haz y pubescentes por el envés.

Fruto: drupa redonda u oval recubierta por una cera blanquecina (pruina), de color amarillo, rojo o violáceo, con pedúnculo mediano, peloso, con hueso oblongo, comprimido, algo áspero y que por un lado presenta una sola costilla. Dentro del hueso se encuentran dos semillas o más frecuentemente una sola, por aborto de la otra. Las semillas pierden después de un mes la facultad germinativa (Parra-Coronado y col., 2008; Petri y col., 2018).

Requerimientos Edafoclimáticos

Es uno de los frutales más rústicos y fáciles de cultivar. Resiste bien las bajas temperaturas. Dado lo temprano de su floración, en algunas exposiciones puede sufrir con las heladas primaverales; sin embargo, las flores son bastante resistentes a la misma. Prefiere los climas templados, pero se desarrolla bien en climas relativamente fríos, con tal de cultivarlo en sitios bien abrigados. Las variedades europeas son bastante resistentes a las heladas primaverales, pero las japonesas y americanas son más exigentes en temperatura y humedad, cultivándose en las exposiciones sur y este. Sufre la escasez hídrica en verano. Los frutos y las ramas finas son sensibles a los vientos. Puede cultivarse hasta altitudes de 700 m. En cuanto al suelo, aguanta bien la caliza, la humedad y los terrenos compactos. Debido a su sistema radicular superficial, tolera la humedad y puede vivir en terrenos poco profundos mejor que otros frutales, pero es necesario que el subsuelo sea fresco, pero sin humedad en exceso (Rojas Rojas, 2017; Petri y col., 2018).

Propiedades y valor nutricional

Conocidas por evitar el estreñimiento y facilitar el tránsito intestinal, las ciruelas además de contener mucha fibra poseen muchas más propiedades nutricionales que cuidan y protegen la salud de nuestro organismo porque **aportan calcio, potasio, cobre, zinc y vitamina A, C y K**. Además, son **poco calóricas**, 100 gramos de ciruelas nos aportan 240 calorías, Ministerio de Salud de la Nación (2022b).

Los valores de la composición nutricional se muestran en la Tabla 5.



Tabla 5: Composición Nutricional de la ciruela

| ALIMENTO: CIRUELA | | |
|------------------------------------|------|-------|
| Valor Nutricional por 100 g | | |
| Valor energético | Kcal | 51,0 |
| Agua | g | 85,7 |
| Proteínas | g | 0,7 |
| Lípidos totales | g | 0,2 |
| Colesterol | mg | 0,0 |
| Carbohidratos disponibles | g | 11,5 |
| Carbohidratos totales | g | 12,9 |
| Azúcar total | g | 9,9 |
| Azúcar agregado | g | 0,0 |
| Fibra alimentaria | g | 1,4 |
| Alcohol | g | 0,0 |
| Sodio | mg | 2,0 |
| Potasio | mg | 190,0 |

Fuente: Ministerio de Salud de la Nación (2022b). SARA 2: tabla de composición química de alimentos para Argentina: compilación para ENNyS 2 / 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Con respecto a la actividad antioxidante, Valero y colaboradores (2012) efectuaron una comparación entre la variedad roja y la amarilla de ciruelas encontrando que la variedad amarilla presenta mayor capacidad antioxidante, lo que podría estar relacionado con el mayor contenido de polifenoles. La ciruela amarilla contiene un gran número de compuestos polifenólicos, que pueden englobarse en el grupo de los derivados del ácido cinámico, clorogénico y neo clorogénico, antocianos, derivados de la cianidina y peonidina, flavonoles glicosilados derivados de la quercetina y flavan-3-oles derivados de la catequina.

5.2.2.3. Pectina

Las pectinas son macromoléculas de tipo heteropolisacárido que se encuentra presente en la naturaleza como elementos contribuyentes de las paredes celulares de las plantas superiores, donde su principal función es como material cementante intercelular (Herbstreith & Fox 2001; Van Buren 1991). Químicamente se clasifican como polímeros



que están principalmente formados por ácido galacturónico y su precursor es la protopectina definida como la sustancia péctica insoluble en agua que origina pectina soluble por despolimerización parcial (Chasquibol-Silva et al., 2008; Van Buren, 1991).

Las pectinas se encuentran principalmente en la pared primaria de las células, la lámina media y en menor medida en los tejidos mesenquimáticos y parenquimáticos; lo que les permite aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio del agua dentro del sistema y constituyen una parte significativa de los componentes de los frutos cítricos (Willats et al., 2001; Herbstreith & Fox 2001). La obtención de estas se da en material vegetal con alto contenido, tales como guayaba dulce, tomate de árbol, remolachas, frutas cítricas, piña, maracuyá, limón entre otras (Gonzalez y col., 2022).

En la industria alimentaria tienen una alta demanda como agente espesante, emulsificante, estabilizante y por su capacidad de gelificación, es ampliamente utilizada en productos como gelatinas, mermeladas, jaleas y conservas vegetales (Dubey et al., 2020; Paredes et al., 2015).

Los geles de pectina son importantes como agente gelificante para crear o modificar la textura de compotas, jaleas, mermeladas, productos lácteos bajos en grasas, etc.; y en productos como helados se utiliza como agente estabilizante de emulsiones y suspensiones (Chacín et al., 2010; Guzmán, 1990; Muhammad et al., 2014). Además, contribuye en la salud humana ya que se ha demostrado que ayuda a la disminución de los niveles de glucosa y colesterol; también poseen propiedades anticancerígenas (Glinsky & Raz, 2009; Theuwissen & Mensink, 2008).

Para la obtención de pectinas se realiza la aplicación de procesos fisicoquímicos, microbiológicos o enzimáticos, donde principalmente la extracción se lleva a cabo mediante hidrólisis ácida o enzimática (Contreras et al., 1997; Liu et al., 2001).

Las pectinas son heteropolisacáridos de alto peso molecular que se presentan en la naturaleza como elementos estructurales del sistema celular de las plantas, que se encuentran en la lámina media y en las paredes celulares primarias y secundarias de todos los tejidos vegetales (Voragen et al., 2009). Su componente principal es el ácido poligalacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol (Herbstreith y Fox 2023).

Estructuralmente las pectinas forman polímeros de las unidades de ácido D-galacturónico (AGA) unidos entre sí por enlaces glucosídicos α -1,4 (ver Figura 5), el cual se encuentra parcialmente esterificado el grupo carboxilo con metanol, así pues, se le denomina



Homogalacturonano (HG); las propiedades funcionales de las pectinas dependen entre otros factores como lo es su grado de esterificación (Van Buren, 1991).

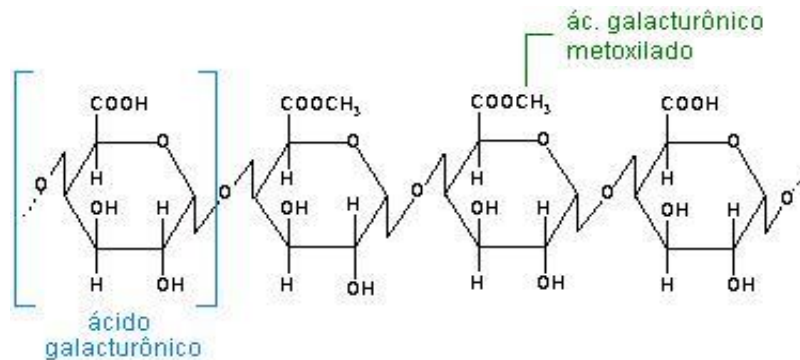


Figura 5: Estructura lineal del ácido D-galacturónico.

Fuente: Van Buren, 1991

Las pectinas según su grado de esterificación se pueden clasificar así: pectinas de alto grado de metoxilación (HM), pectinas de bajo grado de metoxilación (LM) y en otras sustancias pécticas como las pectinas desmetiladas o moléculas amidadas (Vandamme et al., 2002). Las pectinas HM presentan valores de metoxilación comprendida entre el 60% – 75% ya que el metanol puede perderse con relativa facilidad por hidrólisis ácida o enzimática, dejando el grupo ácido libre, por esto se clasifica en función del porcentaje de restos de ácido galacturónico, y cuando este porcentaje disminuye hasta un 20% - 40% se habla de pectinas LM (Chasquibol-Silva et al., 2008).

La capacidad formadora de geles de pectina se ve influenciada de manera directa por los grados de metoxilación (Crispín et al., 2012). De esta forma, las pectinas HM necesitan un intervalo de pH cercano a 3 para crear geles, que son generalmente solubles en agua caliente y tienen que contener un agente dispersante, como la dextrosa, para que no formen grumos a lo largo del desarrollo de gelificación; a diferencia de las pectinas LM que independientemente del pH del medio genera geles, pero necesitan la existencia de una cantidad dominada de iones calcio u otro catión divalente (Sriamornsak, 2003).

Existen algunos componentes estructurales que le dan a la pectina enorme rigidez, convirtiéndola en una composición insoluble llamada protopectina; algunos de estos componentes son los puentes de Ca²⁺ entre grupos carboxílicos libres y la unión de las cadenas de azúcares laterales a la celulosa (Sakai et al., 1993).

Por lo anterior, las pectinas son excelentes coloides, que poseen la propiedad de absorber una cantidad enorme de agua, (Páez et al., 2005), poseen grupos carboxílicos del ácido poligalacturónico medianamente esterificado con metanol y tienen la capacidad de formar geles en condiciones apropiadas. Por tanto, las pectinas tienen gran importancia en la industria alimenticia y farmacéutica por sus propiedades gelificantes, espesantes, curativas, nutritivas, estabilizantes y como sustitutos de grasa en alimentos de bajo aporte calórico.

Su aplicación más común es en productos como la mermelada, jaleas y salsas; todo esto gracias a que la pectina tiene regiones polares y apolares dentro de su molécula, lo que permite incorporarla a diferentes sistemas alimenticios (Pagani, 1990; Thakur et al., 1997).

Las pectinas están presentes en diferentes alimentos de contenido vegetal como pulpas de fruta y verduras o de subproductos de la industria alimentaria; su obtención se da principalmente de materias primas como cáscaras o cortezas de cítricos como limón, naranja, toronja, lima y de la pomaza y/o residuos de manzana, donde estos contienen cantidades elevadas de pectinas; su extracción comercial se da principalmente de cáscaras de cítricos en un 85%, el orujo de manzana en un 14% y en menor proporción de la pulpa de remolacha azucarera (Ramos et al., 2016).

Propiedades

Dispersabilidad-Solubilidad: Para el caso de la mermelada, la pectina no gelifica si la solubilización fue incompleta. Por lo tanto, la pectina en polvo debe mezclarse con una parte de sacarosa que actúa como agente dispersante y luego disolver en agua con agitación durante un tiempo más o menos largo para favorecer el hinchamiento y obtener una solución homogénea.

Poder de gelificación: El poder gelificante de la pectina depende directamente de la longitud de la cadena y se expresa como grados SAG. Estos grados se definen como "el número de gramos de sacarosa que en una solución acuosa de 65 ° Brix y un valor de pH 3,2 aproximadamente, son gelificados por un gramo de pectina, obteniéndose un gel de una consistencia determinada".



Métodos de extracción de pectina

Existen muchos procesos patentados para obtener pectinas; en cada uno de ellos, se obtienen productos de diferente calidad; así sus aplicaciones dependen mucho del método de obtención. Esto es entendible considerando la complejidad estructural y la variación natural de estos polisacáridos de las plantas, que dependen por ejemplo de la especie, condiciones de maduración y del tipo de almacenamiento (Guidi y Arandia Quiroga, 2010). La extracción de pectina del tejido vegetal y su solubilización, es un proceso físico-químico que depende de diversos factores, como temperatura, pH, tipo de ácido y tiempo de extracción. Puesto que las pectinas generalmente se emplean en alimentos, es necesario extraerlas del tejido vegetal mediante el uso de reactivos, disolventes y equipos que no dejen residuos tóxicos en el producto final. Por ello, el proceso de extracción debe cumplir con estas necesidades; además, las propiedades fisicoquímicas de la pectina extraída, tales como contenido de AG, grado de gelificación y grado de esterificación, porcentaje de cenizas, entre otros, deben estar dentro del rango apropiado para que las cualidades de la pectina puedan aprovecharse (Danovich, 2019).

Las sustancias pécticas, presentes en la mayoría de las frutas y vegetales, pero en mayor proporción en el albedo de frutas cítricas y bagazo de manzana, pueden ser extraídas empleando ácidos o álcalis. Otros métodos de extracción de polisacáridos involucran el uso de procesos físicos, microbiológicos o enzimáticos. Con la finalidad de obtener un mayor rendimiento durante la extracción de sustancias pécticas, comúnmente se realizan pretratamientos al material vegetal para facilitar la extracción. Es imposible extraer pectina libre del tejido vegetal, porque existe en una forma insoluble conocida como protopectina (Danovich, 2019).

Los métodos más comunes de extracción son:

- Extracción de pectina por el método convencional
- Extracción de pectina por métodos biológicos: Microbiológica y Enzimática
- Extracción de pectina por métodos fisicoquímicos
- Extracción de pectina asistida por microondas
- Otros métodos de extracción físico-química de pectinas: Técnica de extrusión



5.2.2.4. Agar-agar

Es un polisacárido compuesto por cadenas de agarosa y agarpectina que en la naturaleza se encuentra como una estructura de soporte en las paredes celulares de algas específicas pertenecientes al grupo de las rodófitas. (Berríos y col., 2020; Diaz, 2010).

Agar o agar-agar, (ver Figura 6), es el nombre comercial aplicado al extracto gelatinoso, seco, parcialmente blanqueado, de ciertas especies de algas rojas.

Las algas rojas son especies que crecen en el fondo del mar, las cuales pertenecen a la división Rodophyta, dentro del reino Plantae. Existen alrededor de 7,300 especies, lo que constituye la diversidad más alta de todos los grandes grupos de macroalgas. (Cisneros Rosete y col., 2022).

Aunque este tipo de algas se desarrolla en todas las latitudes, se encuentran en mayor cantidad en regiones templadas y tropicales, superando por mucho a los grupos de macroalgas restantes. (Mateo-Cid y col., 2020).

Entre sus propiedades y reacciones es insoluble en agua fría, pero se hincha hasta 20 veces su tamaño al absorber agua. Su disolución sólo se realiza con agua en estado de ebullición (95 °C), cuando se enfría se convierte en un gel firme (40 °C). 0,5% de agar es suficiente para la formación de un gel. No está exento del fenómeno de sinéresis, el cual cuando se encuentra en reposo, se encoge y exuda líquido en su superficie, esta propiedad varía según su procedencia

La principal producción es proveniente de países como Japón, China, California, Nueva Zelanda, Australia, Sudáfrica, Carolina del Norte y Florida. El tipo de alga es el alga roja (Gelidium). Crecen de manera abundante en superficies rocosas de entre 3 a 12 metros de profundidad, por lo que su extracción requiere de actividad de buceo y extracción a mano. Respecto a su morfología, se puede distinguir dos tipos: Grupo-Lessonii (angostas), y grupoChauvinnii (anchas). En estas últimas son de un mm (milímetro) de ancho y de 6 hasta 45 cm (centímetros) de altura. Sus colores van desde el verde oscuro hasta el marrón rojizo y negro. (Acha de la Cruz, 1995).



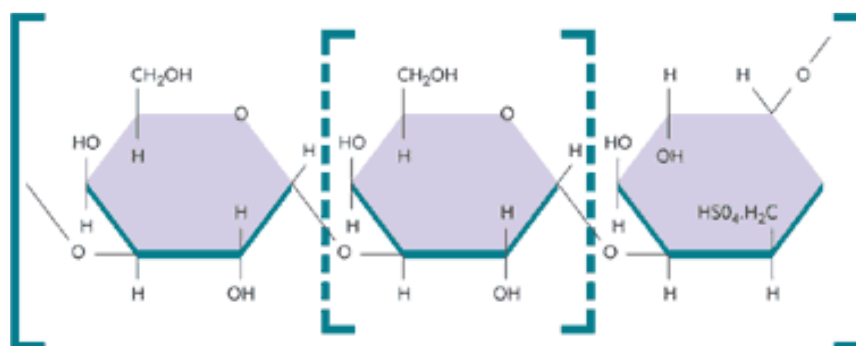


Figura 6: Estructura molecular del Agar-agar

Fuente: (AGARGEL, 2020)

Principales características del Agar- Agar

- **Solubilidad:** Insoluble en agua fría, pero expansible en agua hirviendo, con la propiedad de crecer hasta en 20 veces su propio peso.
- **Gelificación:** Se puede obtener en soluciones muy diluidas con concentración entre 0,5% y 1,0%. Esta propiedad se presenta a temperaturas inferiores a las de fusión. El gel puede conformarse a una temperatura entre 32°C a 45°C y la fusión se da en temperaturas superiores a los 85°C. La fuerza del gel está definida por la capacidad que tiene de mantener unidas las moléculas y este a su vez es influenciado por la concentración, tiempo, pH y contenido de azúcar.
- **Viscosidad:** Su viscosidad depende fundamentalmente del Alga Roja. En cuanto se inicia el proceso de gelificación mediante una temperatura constante, su viscosidad se incrementa con el tiempo.
- **Estabilidad:** Su carga es ligeramente negativa. Esta característica depende de su hidratación y su vez, de su carga eléctrica. Cuando el gel es expuesto a temperaturas elevadas, luego de estar a temperaturas bajas, el gel pierde fuerza

Proceso productivo del Agar-Agar

Existe una diversidad de métodos para la extracción de agar. De las técnicas más sencillas de extracción se tiene el siguiente método presentado por Acha de la Cruz, (1995), detallado a continuación el más satisfactorio de los dos que se realizaron:

- Pesar 25 gramos de alga deshidrata y molida.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

- Colocarlos en un beaker de 1 000 ml (mililitros).
- Adicionar 800 ml de acetato de sodio (0,5 M) acidulada en ácido acético glacial a pH 7.0.
- Calentar entre 90 - 95 °C por una hora.
- Dejar enfriar entre 50° a 60° C y mantener esa temperatura durante 3 horas.
- Dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Centrifugar a 3 000 rpm (revoluciones por minuto) por 10 minutos
- Colocar el sobrenadante en bolsas plásticas con cierre
- Congelar a -30°C por 10 horas o más.

Usos del Agar-Agar

En su mayoría pertenecen a la división de Rhodophyta, el estudio demostró que la especie estudiada (*G. fortissima* Dawson) contiene una fuente de minerales como es: Cu (5 ppm), Zn (5 ppm), Mn (9 ppm), Ca (100 ppm) y Mg (116 ppm) y por estudios, no alcanzan niveles de toxicidad dañinos para el ser humano, lo cual puede ser utilizado en alimentos. (Sanchez & Corella, 2008)

En cuanto al agar, el cual es “una sustancia seca, amorfa, gelatinosa y no nitrogenada el cual es insoluble en agua fría, pero soluble en agua caliente” (Sanchez & Corella, 2008). Todas las especies de *Gracilaria* sp son insumos para la formación de geles de muy buena calidad, siendo estas en su mayoría las especies agarofitas. Es conocido en el mercado como un producto gelificante y utilizado en fármacos, pastelería, confituras, helados, quesos y usos médicos como en las cirugías, así como en la microbiología para la preparación de medios de cultivo microbiológico “el cual mantiene en suspensión y de manera homogénea el medio nutritivo adicionado al agar” (Sanchez & Corella, 2008).



5.2.2.5. Maltodextrinas

Las dextrinas se forman por calentamiento del almidón, en presencia de ácido o base, o por vía enzimática formando polímeros de glucosa con alto grado de ramificación. Los polímeros de glucosa producidos pueden variar en longitud y en peso molecular. Comparadas con almidones no modificados, tienen mejores características de solubilidad y viscosidad. Sus viscosidades son inferiores a las de la goma arábica y no presentan grupos lipofílicos, por lo que sus propiedades emulsificantes son pobres (Kenyon y Anderson, 1988; Shahidi y Han, 1993). Sus ventajas incluyen sabor tenue, es posible su uso a altas concentraciones de sólidos y mejoran la vida de almacenamiento de aceites esenciales de cítricos (Madene, 2006).

La maltodextrina es un polisacárido moderadamente dulce (carbohidrato), sin relación con la malta de cebada, de fórmula $C_6nH(10n+2)O(5n+1)$ que se obtiene por hidrólisis del almidón en proceso enzimático, por lo que es un aditivo que aunque se ha procesado, es de origen natural. Es fácilmente digerible, siendo absorbida tan rápidamente como la glucosa. Generalmente se obtiene del maíz, sobre todo en Estados Unidos, mientras que en Europa es más habitual que se produzca a partir del trigo o la cebada, aunque también hay maltodextrina obtenida del almidón de la patata y de la tapioca (Kearsley y Dziedzic, 2012). En la Tabla 6, se muestra la composición general de la maltodextrina por cada 100g.

Tabla 6: Composición de la maltodextrina

| Composición | Valor (%) |
|--------------------------------|------------------|
| Dextrosa | 1 % |
| Maltosa | 3 % |
| Triosas y Polisacáridos | 96 % |
| Estado | Sólido |
| Color | Blanco |

Fuente: Alimentos Argentinos (2020)



Como se puede observar, este aditivo está compuesto por una mezcla de varios carbohidratos con diferentes grados de polimerización que en conjunto proporcionan un equivalente de dextrosa (DE) menor al 20%. La composición de los jarabes de maltodextrina se asocia comúnmente al DE, de tal forma que un DE inferior a 20 se denomina dextrina y un DE superior a 20, y menor de 100, se denomina glucosa.

$$DE(\%) = \frac{\text{glucosa}}{\text{Peso Total Seco}} \cdot 100$$

La estructura molecular de la maltodextrina se observa en la Figura 7.

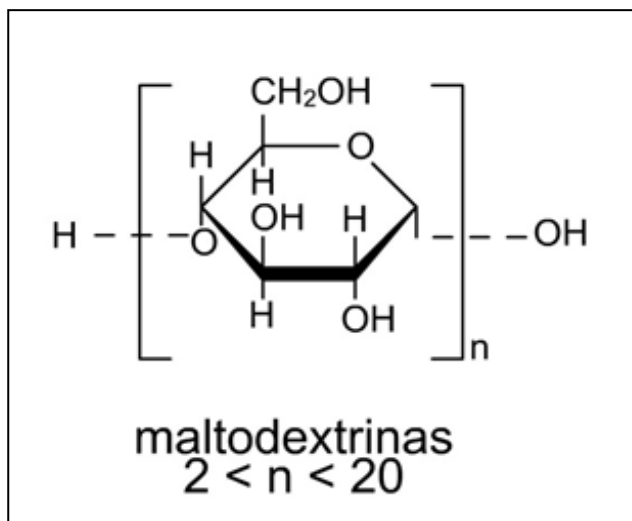


Figura 7: Estructura molecular de la maltodextrina.

Fuente: Sabogal, y col., 2015.

La maltodextrina se utiliza en la industria como aditivo alimentario, humectante y espesante, para estabilizar alimentos con muchas grasas, dispersar ingredientes secos, favorecer el secado por aspersión de sabores de jugos de frutas u otros productos difíciles de secar, y como fuente de carbohidratos en bebidas energéticas ya que proporciona

tantas calorías como el azúcar actuando como agente aglomerante, ayudan a crear los cristales de azúcar que es luego agregado a los envases.

Sus cualidades están referidas a su baja higroscopicidad, buena solubilidad y bajo poder edulcorante. Aunque la maltodextrina no tiene un marcado sabor dulce, es un sacárido, lo que significa que tiene propiedades químicas similares al azúcar y crea volumen en los alimentos líquidos o gelatinosos. Cuando se agrega a aderezos o postres instantáneos, ayuda a reducir la viscosidad, haciéndolos más espesos.

Otros alimentos que pueden contener maltodextrina con este fin son las frutas enlatadas, postres, batidos de proteínas y salsas. (Foodtech, 2020).

5.2.2.6. Isomalta

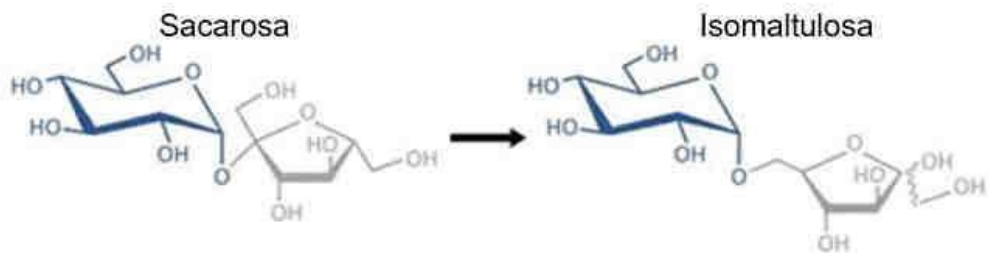
La isomalta es un azúcar alcohol constituido por la mezcla de los diasterómeros α - D-glucopiranosil-1-6-manitol (GPM) y α -D-glucopiranosil-1-6-sorbitol (GPS), descubierto en la década de 1960 (Grembecka, 2015). Este producto se obtiene como un material cristalino a partir de la sacarosa. La Figura 8 muestra el proceso de síntesis de la isomalta.

Proceso de síntesis de isomalta a partir de sacarosa.

En primer lugar, la sacarosa se transforma en isomaltulosa mediante transglicosilación enzimática y posteriormente mediante una hidrogenación catalítica, en medio acuoso y con níquel como catalizador, se obtiene una mezcla equimolar de GMP y GPS (Cammenga y Zielasko, 1996).



Paso 1: Transglucosilación enzimática



Paso 2: Hidrogenación catalítica

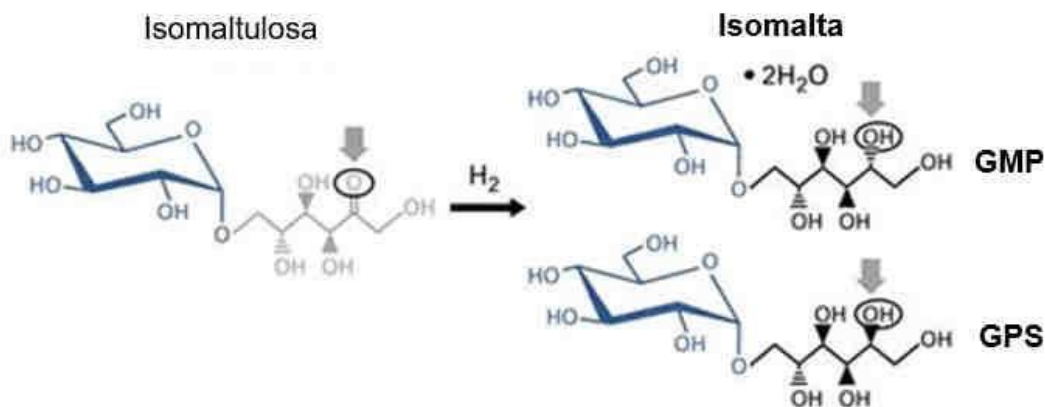


Figura 8: Proceso de síntesis general de la isomalta.

Fuente: Cammenga y Zielasko, 1996

Metabolismo

La isomalta se caracteriza por presentar una baja cariogenicidad, no incrementar la glucosa en sangre ni los niveles de insulina (índice glucémico= 2), y ser sustrato para un colon saludable. Estas propiedades, características de todos los polialcoholes, están vinculadas a su lenta metabolización, pero relativamente fácil fermentación en el colon (Livesey, 2003).

Durante el tiempo que la isomalta se encuentra en la boca resiste la fermentación y acidogénesis provocada por las bacterias de la placa dental, no siendo absorbida vía estomacal en un grado significativo.

La absorción de isomalta es muy baja y se produce por difusión pasiva de los monosacáridos polioles formados, mientras que solo un 2% de los di, oligo y polisacáridos polioles llega a difundirse desde el intestino a la circulación por ser de mayor tamaño. Si



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

bien algunos di, oligo y polisacáridos pueden liberar glucosa su digestión es lenta e incompleta, por lo que esto no resulta en un aumento sustancial de glucosa en sangre. En cuanto a los monosacáridos absorbidos, estos se oxidan directamente o son convertidos en glucógeno o glucosa en el hígado; mientras que los polisacáridos son fermentados completamente por la microflora colónica dando como resultados ácidos grasos de cadena corta (Grembecka, 2015; Livesey, 2003).

Es interesante destacar que la baja digestibilidad y/o lenta liberación de glucosa hepática son los factores determinantes de la baja respuesta glucémica e insulínica que presenta la isomalta (Grembecka, 2015; Livesey, 2003).

De acuerdo con lo establecido por el comité experto en aditivos alimenticios de la Organización de Alimentos y Agricultura (JECFA-FAO), cuando la isomalta es consumida en grandes cantidades puede provocar un efecto laxante, aún mayor cuando se trata de alimentos líquidos. Para evitar sufrir estos efectos secundarios de la isomalta, se recomienda limitar su consumo diario a 50 g para adultos y 25 g para niños (Mäkinen, 2016). De todos modos, Grembecka (2015) postula que esta intolerancia depende de varios factores como la sensibilidad de cada persona, el momento y la frecuencia de consumo.

El uso del isomalta está aprobado en más de 80 países en todo el mundo, que incluyen los Estados Unidos, Japón, Australia, Nueva Zelanda, los países de Europa del este y muchos países asiáticos y sudamericanos, entre ellos Argentina.

Aplicaciones de la isomalta

La principal característica de la isomalta es su lenta cristalización en comparación con la sacarosa, por lo cual puede ser utilizada en la elaboración de esculturas de azúcar y otros productos decorativos (Sentko y Willibald-Ettle, 2012). Además, puede combinarse con otros edulcorantes no nutritivos ayudando a enmascarar el regusto amargo de los mismos, y puede actuar como agente de carga mejorando la textura de algunos productos alimenticios, como agente antiaglomerante y como agente de glaseado (Grembecka, 2015).

En Europa, la isomalta se encuentra disponible desde principios de 1980. De acuerdo a lo establecido por la Asociación Europea de Polioles (EPA), debido a sus propiedades fisicoquímicas y técnicas, la isomalta puede ser utilizada en la industria de las golosinas en una amplia gama de productos tales como caramelos y chicles, entre otros:



Caramelos duros: la isomalta es un ingrediente muy utilizado, debido a que se disuelve más lentamente que el azúcar, por lo tanto, el caramelo persiste más tiempo en la boca. Además, su baja higroscopicidad minimiza los problemas de pegajosidad.

Chicles: la isomalta permite obtener chicles uniformes y además genera un recubrimiento que lo protege y permite mantener la humedad del núcleo del chicle.

En el mercado nacional también se encuentran disponibles diferentes productos tales como polvos o pre mezclas para repostería conteniendo isomalta, elaborados por las empresas Pastelar y El Nuevo Emporio, entre otros. También existen chupetines de isomalta producidos por la Pastelería Pruto, The Clean Teeth Pops. También se están comercializando chicles con isomalta en reemplazo del azúcar, como es el caso de los producidos por Beneo. Otro ejemplo son las obleas con chocolate producidas por New Garden, en todos los casos la implementación de la isomalta es para promocionar los productos como reducidos en azúcar, sin azúcar o incluso aptos para diabéticos.

Respecto al campo científico, Silva y col. (2016) desarrollaron un caramelo masticable a partir de la fruta açai, reemplazando la sacarosa por manitol, isomalta, xilitol y eritritol. Estos autores demostraron que los caramelos presentaron buenas características texturales y sensoriales, siendo una opción más saludable y natural para aquellos consumidores que deseen incorporar las golosinas a su dieta.

Para el desarrollo de esta confitura, mermelada de zanahoria y ciruela, se prevé la incorporación de este poliol como uno de los ingredientes de la formulación, en conjunto con los edulcorantes no nutritivos como la sucralosa y la stevia.

5.2.2.7. Edulcorantes

En general, el azúcar es un componente inseparable de los alimentos que consumimos, sin embargo, en la actualidad se ha puesto suma atención sobre su consumo y los efectos que produce sobre la salud humana.

Se pueden distinguir entre “azúcares intrínsecos” que son propios de frutas y verduras enteras frescas y “azúcares libres”, los cuales generalmente incluyen monosacáridos y disacáridos añadidos a los alimentos por los fabricantes, cocineros y/o consumidores como así también aquellos presentes en forma natural en la miel, jarabes, jugos de fruta y concentrados de jugo de fruta. Numerosos estudios demuestran que las enfermedades



no transmisibles han crecido de forma alarmante. En este sentido la OMS, advirtiendo sobre el excesivo consumo de azúcar, ha fijado una recomendación máxima de consumo de 50 g diarios incluyendo tanto los azúcares intrínsecos como los libres (OMS, 2014).

Así, Tandel (2011) y Vreman y col. (2017), sugieren que el consumo de azúcares libres en exceso podría estar asociado con una mayor ocurrencia de obesidad, diabetes tipo 2, afecciones dentales, ciertas enfermedades coronarias y enfermedades del hígado graso. Por su parte Sheiham y James (2013), observaron un aumento en la ocurrencia de caries en todos los tipos de dientes en personas entre 1 y 8 años expuestas a niveles entre 1 - 5 Kg de azúcar/año. Con respecto a las enfermedades del hígado graso, se ha establecido un vínculo con el excesivo consumo de azúcares libres suministrados con los alimentos. La fructosa se metaboliza en el hígado, y a través de la vía glucolítica se transforma en acetil-CoA. A partir de allí, el exceso de acetil-CoA se convierte en citrato, que a su vez se convierte en ácidos grasos mediante el proceso de lipogénesis (Vreman y col., 2017).

En Estados Unidos el consumo de azúcar agregado ha aumentado notablemente en los últimos años. Más del 55% de los adultos americanos consumen más de 50 g de azúcar por día, valores altamente superiores a los niveles máximos recomendados por la Asociación Americana del Corazón (25 - 37,5 g) y en el límite de los valores recomendados por la Organización Mundial de la Salud. Esto ha llevado a que un gran sector de la población sufra de sobrepeso y obesidad mórbica. Además, la prevalencia de diabetes tipo 2 es de 9,3%, y la ocurrencia de enfermedades coronarias en la población ha aumentado de 13 a 15,5 millones en los últimos 10 años (Vreman y col., 2017).

Dado que América Latina no escapa a los problemas relacionados al consumo excesivo de azúcares, Fisberg y col. (2018) en su trabajo denominado "Estudio Latinoamericano de Nutrición y Salud (ELANS) realizaron un reporte acerca de esta problemática en países tales como Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Perú y Venezuela. Es preocupante y alarmante mencionar que Argentina fue posicionado como el país con el mayor consumo de azúcares de la región seguido por Colombia, con 115,2 y 109,8 gramos diarios de los cuales 91,4 y 59,5 g corresponden a azúcares agregados, respectivamente. Los países con menor consumo fueron Brasil y Chile con 86,2 y 84,9 gramos diarios de los cuales 57,6 y 52,3 g corresponden a azúcares agregados, respectivamente. Los autores establecen que Argentina es el país con mayor afinidad por el sabor dulce y posiblemente las causas se deban a factores culturales que se han



transmitido de generación en generación. Otro aspecto interesante que destacan los autores es que, si bien los varones mostraron un mayor consumo de azúcares, en términos relativos fue mayor para las mujeres; indicando que esto se debe al mayor consumo energético por parte de los varones inherente a su constitución.

En este sentido, alrededor del mundo, ha surgido un notable interés por reducir el consumo de azúcares libres a lo largo del ciclo de vida de manera tal que no sea superior al 10% de la ingesta calórica total basado en una dieta tipo de 2000 Kcal/día (OMS, 2014). Es sabido que el potencial uso de edulcorantes como sustitutos en la industria alimentaria ha surgido ante la necesidad de encontrar una solución a la problemática ocasionada por el excesivo consumo de azúcares. Así, el empleo de edulcorantes tiene como fin disminuir el valor calórico total de la dieta, promover el descenso del peso corporal y/o prevenir el desarrollo de enfermedades metabólicas crónicas. Sin embargo, en muchos casos existen dudas sobre los riesgos que estos compuestos puedan tener sobre la salud humana (Fitch y Keim, 2012; García-Almeida y col., 2013).

Respecto a los aspectos legales, existen comités científicos de expertos encargados de regular todo aquello que concierne a la utilización, seguridad e ingesta diaria media de los edulcorantes. Entre las entidades regulatorias más importantes se encuentran el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en el ámbito internacional, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el ámbito europeo, y diferentes agencias nacionales tales como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos (García-Almeida y col., 2013). Particularmente en el caso de Argentina y los países miembros del Mercosur, no poseen un comité científico propio, por lo cual se rigen sobre las reglamentaciones establecidas por el JECFA y la FDA (Torresani y col., 1999).

De acuerdo a lo reportado por García-Almeida (2013), la clasificación actual de los principales edulcorantes se basa en su contenido calórico y en su origen (ver Tabla 7).



Tabla 7: Clasificación de los edulcorantes

| | | |
|---------------------|---------------------|-------------------------------------|
| Calóricos | <i>Naturales</i> | Azúcares |
| | | Edulcorantes naturales calóricos |
| | <i>Artificiales</i> | Azúcares modificados |
| | | Alcoholes del azúcar |
| No calóricos | <i>Naturales</i> | Edulcorantes naturales no calóricos |
| | <i>Artificiales</i> | Edulcorantes artificiales |

Fuente: Clasificación de los edulcorantes, Fuente: Garcia-Almeida (2013)

A continuación, se describen los aspectos distintivos de los edulcorantes que se utilizan en la industria alimentaria como sustitutos del azúcar tomando como referencia el trabajo realizado por García-Almeida y col. (2013): “Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación”.

5.2.2.8. Edulcorantes calóricos

- ***De origen natural***

Azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa, lactosa, maltosa, dextrosa, galactosa): se encuentran naturalmente en alimentos como frutas, verduras, cereales y leche. Son hidratos de carbono por lo cual contienen 4 calorías por gramo y además pueden ser perjudiciales para los dientes.

Educorantes naturales calóricos (miel, jarabe de arce, azúcar de coco, jarábe de sorgo): estos edulcorantes también contienen azúcar, sin embargo, se diferencian de los anteriores por presentar cualidades nutritivas y un índice glucémico menor que el azúcar. Dentro del grupo de los educorantes calóricos naturales los mayormente utilizados son la sacarosa, la glucosa y la fructosa. La glucosa presenta un índice glucémico de 100 y un



poder edulcorante relativo a la sacarosa entre 0,6 – 0,7; mientras que la fructosa presenta un índice glucémico de 23 y un poder edulcorante relativo a la sacarosa entre 1,3 – 1,8 por lo cual ha sido utilizada en la sustitución de la sacarosa en pacientes diabéticos.

- ***De origen artificial***

Azúcares modificados (jarabe de maíz de alta fructosa, caramelo, azúcar invertido): son una mezcla de hidratos de carbono de bajo índice glucémico que se obtienen por distintos procesamientos térmicos y/o enzimáticos del almidón.

Alcoholes del azúcar o polialcoholes (sorbitol, xilitol, manitol, eritritol, maltitol, isomaltulosa, isomalta, lactitol, glicerol): estos edulcorantes son hidratos de carbono que se producen de forma natural en las plantas y cereales, aunque en pequeñas proporciones. Industrialmente se producen por hidrogenación catalítica de los azúcares reductores de los que provienen. A pesar de ser hidratos de carbono, el organismo no puede metabolizarlos completamente, y en consecuencia tienen menos calorías por gramo que el azúcar y un índice glucémico muy bajo. Además, no se han asociado al desarrollo de caries dentales.

5.2.2.9. Edulcorantes no calóricos

- ***De origen natural***

Edulcorantes naturales no calóricos (estevia, taumatina, pentadina, monelina, brazzeína, Luo Han Guo): estos edulcorantes no son hidratos de carbono, por tanto, no tienen índice glucémico.

Sin duda alguna la stevia es el principal referente dentro del grupo de los edulcorantes naturales no calóricos. Su poder edulcorante es entre 300 y 400 veces mayor que el de la sacarosa, presenta un sabor lento al comienzo y una duración prolongada y en altas concentraciones puede tener un sabor amargo. Este edulcorante se describe en detalle en el ítem 1.1.3.3.

También existe un edulcorante 300 veces más dulce que el azúcar denominado Luo Han Guo, el cual se obtiene a partir de una fruta llamada Monk procedente de China. Su poder edulcorante está atribuido a una sustancia llamada mogrosido proveniente de la pulpa de la fruta. Su índice glucémico es 0 y tiene como ventaja respecto a la stevia que no deja regusto amargo. El año 2010 el Luo Han Guo ha sido aprobado como GRAS para el uso en algunos alimentos.



Finalmente, se han identificado al menos siete proteínas dulces (taumatina, monelina, mabinlina, pentadina, brazzeína, curculina y miraculina), todas con perfiles de gusto lentos en relación al del azúcar, que se extraen de plantas que crecen en bosques tropicales. De todas ellas las únicas que se han comercializado son la taumatina y la brazzeína, siendo la primera la que presenta mayores avances en relación a su desarrollo y situación ante las autoridades reguladoras.

Stevia

La stevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) es una hierba natural dulce nativa del nordeste de Paraguay donde crece en suelos arenosos cerca de arroyos.

Generalmente el sabor dulce de la stevia se debe a la presencia de varios glucósidos de diterpeno acumulados en las hojas de la planta, las cuales se secan a la sombra y se procesan para obtener los glucósidos purificados (Rayaguru y Khan, 2008; Savita y col., 2004).

Existen 8 glucósidos conocidos presentes en la planta que poseen un alto poder edulcorante (300 – 400 veces más dulce que el azúcar). Entre los glucósidos mayoritariamente encontrados en las hojas se pueden nombrar (ver Figura 9): esteviósido (9,1%), rebaudiósido A (3,8%), rebaudiósido C (0,6%) y dulcósido A (0,3%).

La stevia es un buen edulcorante para ser incorporado en la dieta humana. Posee múltiples ventajas entre las que se pueden mencionar: no aporta calorías, es apta para personas con diabetes y fenilcetonuria, posee propiedades vasodilatadoras y además ayuda a reducir el colesterol LDL (Gupta y col., 2013).

Este edulcorante se utiliza como sustituto del azúcar en el desarrollo de una amplia variedad de alimentos tales como jugos, bebidas carbonatadas, mermeladas, productos lácteos, entre otros. Sin embargo, posee una desventaja, en altas concentraciones el esteviósido y el rebaudiósido A pueden impartir sabor astringente y amargo dejando un regusto persistente, lo cual limita su utilización. Una faceta positiva de la stevia es que posee un efecto sinérgico con otros edulcorantes, lo cual permite su inclusión en mezclas de manera muy satisfactoria (Gupta y col., 2013).

Desde el año 2008 la FDA clasificó a la stevia como un edulcorante GRAS y se encuentra aprobada para la utilización en alimentos y bebidas en países tales como Japón, Corea, Australia, Rusia, Malasia, Indonesia Suiza, Francia, México, Brasil y Estados Unidos.



La JECFA estableció en el año 2009 una ingesta diaria admisible (IDA) de 4,0 mg/Kg

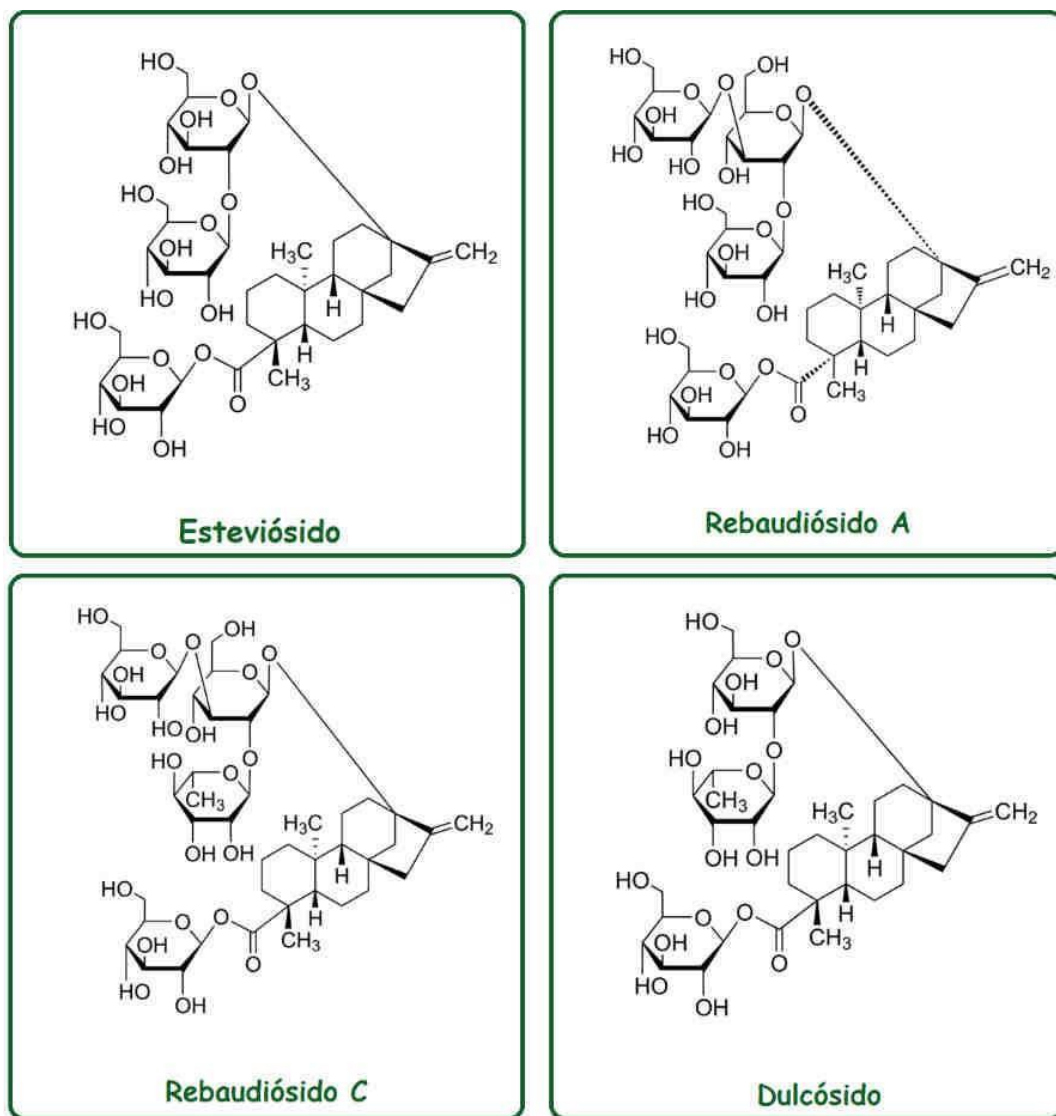


Figura 9: Glucósidos mayoritariamente encontrados en las hojas de stevia

Fuente: JECFA, 2017

Respecto a nuestro país, la stevia se encuentra incorporada en el capítulo XVIII: Aditivos Alimentarios del CAA. En el artículo 1398, a través de la Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 7-E/2018, queda autorizado el uso de stevia como edulcorante en forma de un polvo blanco obtenido a partir de las hojas de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) mediante extracción acuosa, purificación con resinas de intercambio iónico y secado por aspersion



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

y con un contenido no inferior al 95% del total de glicósidos de esteviol en peso seco. El contenido total de glicósidos de esteviol debe ser determinado por HPLC (ANMAT, 2023).

Propiedades

Las moléculas que componen la stevia son altamente estables, sin embargo, presentan baja solubilidad en agua (Brandle y Telmer, 2007). De acuerdo a lo establecido por Chang y Cook, (1983), el esteviósido y el rebaudiósido A presentan una alta estabilidad a amplios rangos de pH y temperatura, como así también son estables en bebidas carbonatadas. Sin embargo, un calentamiento prolongado puede llevar a un decrecimiento en la concentración del esteviósido.

Aplicaciones de la stevia

En Argentina, el uso de stevia como endulzante se encuentra muy diversificado. Es posible encontrarla como edulcorante en polvo o líquido (Hileret y Dulcevia) para emplear en infusiones; como edulcorante de jugos de frutos rojos Libbýs; también Terma posee una línea de productos con este endulzante. Además, se utiliza en golosinas entre las que se encuentran los caramelos blandos elaborados por Geriovit y Trini S.A.; caramelos duros de sabores frutales, reducidos en calorías y endulzados con stevia comercializados por la empresa ARCOR y las gominolas de frutos rojos Mogul.

En el ámbito científico, se han realizado numerosos estudios acerca del empleo de stevia como edulcorante. Aranda-González y col. (2015), desarrollaron caramelos de goma para niños con el agregado de stevia, y lograron reemplazar el 60% de la sacarosa sin alterar la aceptación sensorial del producto. Silva y col. (2019) estudiaron las características sensoriales de una barra de cereal endulzada con hojas de stevia pre-tratadas con etanol, teniendo el doble de aceptación que una barra patrón. Maitreedech y col. (2020) estudiaron la aceptabilidad sensorial de caramelos de goma con una cubierta crujiente reemplazando parcialmente el azúcar con stevia, y encontraron que la formulación más aceptada sensorialmente fue la que se suplementó con un 25% de stevia. Chupeerach y col., (2018) desarrollaron una gelatina de coco con stevia y evaluaron las respuestas de glucosa, insulina y péptido C en sangre, en doce sujetos sanos, y observaron que los niveles de glucosa en sangre posprandial tendieron a disminuir sin inducir la secreción de insulina.

- ***De origen artificial***



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

Edulcorantes artificiales (sacarina, ciclamato, sucralosa, neoesperidina, aspartamo, neotamo, acesulfame K, alitamo): estos edulcorantes se caracterizan por ser no calóricos, no poseer efecto glucémico y presentar una alta intensidad. Este grupo es el que mayor interés despierta en el área de investigación, con el objetivo de demostrar su seguridad y aportar datos firmes sobre los posibles efectos en pacientes con diabetes o con otros problemas específicos de salud.

La sacarina es el edulcorante que lidera el mercado mundial, siendo Asia el mayor consumidor. Es 300 veces más dulce que el azúcar, pero tiene un sabor final metálico ligeramente desagradable. Se mezcla muy bien con otros edulcorantes, sin embargo, no soporta altas temperaturas por lo que no es apto para productos que requieren cocción. El ciclamato es el segundo edulcorante más antiguo en uso, siendo también muy utilizado en Asia. Es el representante menos potente dentro del grupo de los edulcorantes intensivos (sólo 40 veces más dulce que el azúcar), por lo cual generalmente se lo utiliza mezclado con otros edulcorantes. Es ampliamente utilizado en la cocina y en la industria de los alimentos por su estabilidad al calor y su larga vida de almacenamiento.

Sucralosa

Es un edulcorante descubierto en 1976, conocido como Splenda, mostrada en la Figura 10, ha sido desarrollado en común por acuerdo entre McNeil Specialty Products, una subsidiaria de Johnson y Johnson, y Tate y Lyle Speciality Sweeteners. En la Unión Europea, es también conocida bajo el código E955.

La estructura molecular de la sucralosa, se muestra en la Figura 11.



Figura 10: Edulcorante comercial Splenda

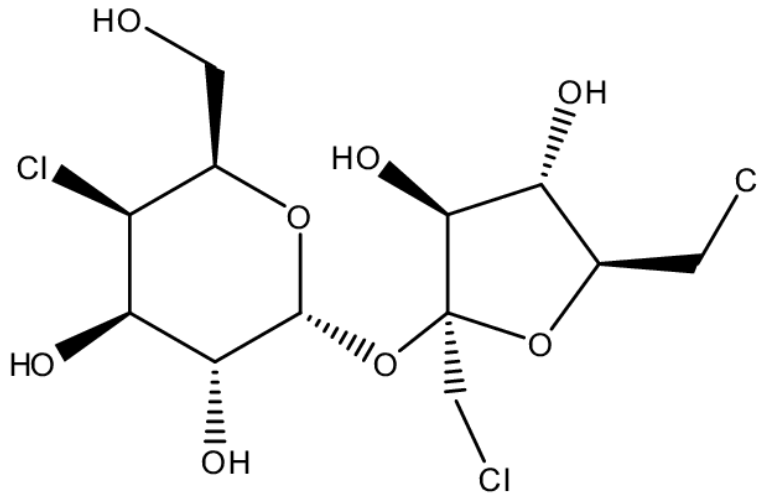


Figura 11: Estructura molecular de la sucralosa

Es un edulcorante natural que se obtiene a partir del azúcar, pero es 600 veces más dulce que esta. Es un producto que no tiene calorías y se suele utilizar en la preparación de muchos alimentos procesados, su gran ventaja es que el organismo no la reconoce como hidrato de carbono, por lo que es eliminada del organismo sin haber sido metabolizada. Es muy utilizada a nivel mundial, sola o con otros edulcorantes, y se puede encontrar en más de 4.500 alimentos y bebidas (Garcia Almeida, 2013).

Edulcorante semisintético obtenido en 1976 en Inglaterra, tiene 400 a 600 veces más poder endulzante que el azúcar, su aporte calórico es nulo, es soluble en el agua y destaca su estabilidad al calentamiento, por lo que es apropiado para su uso en la cocina incluso en procesos de cocción. Se aprobó para su consumo en Estados Unidos en 2004, algunos estudios destacan que no es una molécula inerte en términos metabólicos y que podría modificar la composición de la microbiota. Los alcances y la significación de lo anterior se discutirán más adelante (Adrete et al., 2017).

De consenso al Codex Alimentarius, la dosis recomendada para la utilización de la sucralosa en la situación de frutas en conserva, enlatados, confituras, jaleas, mermeladas, alimentos dietéticos para usos doctores especiales o cualquier tipo de alimento dietético y productos para untar a base de fruta mermeladas se posibilita hasta un máximo de 400 miligramo por kilogramo de producto. En la situación de preparados dietéticos para adelgazamiento y mantener el control del peso se posibilita hasta un máximo de 320

miligramo por kilogramo de producto (Codex Alimentarius, 2019).

Propiedades físicos - químicos de la sucralosa

Más de cien estudios realizados en 18 años demuestran la seguridad al emplearse la sucralosa para elaborar alimentos, a continuación en la Tabla 8, se muestra las propiedades físico – químicas de la sucralosa.

Tabla 8: Propiedades físico químicas de la sucralosa

| | |
|-------------------------------|--|
| Nomenclatura IUPAC | 1,6-Dichloro-1,6-dideoxy-β-D-fructofuranosyl-4-chloro-4-deoxy-α-D-galactopyranoside |
| Otros nombres | 1,4,6-Triclorogalactosucrosa |
| Fórmula semidesarrollada | C ₁₂ H ₁₉ Cl ₃ O ₈ |
| Estado de agregación | Sólido |
| Masa molecular | 397.64 uma |
| Análisis | Contenido no inferior a 100% y no superior al 102% de C ₁₂ H ₁₉ Cl ₃ O ₈ calculado en masa anhidra |
| Solubilidad | Soluble en agua, metanol y etanol, apenas soluble en acetato de etilo. |
| Descripción | Polvo cristalino, prácticamente inodoro de color blanco o blanquecino |
| Punto de fusión | 403°K (130°C) |
| Absorción ultravioleta máxima | 243 ± 2nm |

Fuente: (Cuellar y Funes, 2013, p.31)

Propiedades y usos

Para conocer de mejor manera las propiedades y usos de la sucralosa vamos a replicar lo dicho por (Cuellar y Funes, 2013, p.30) en su trabajo de titulación:

- La ingesta diaria admisible (IDA) de sucralosa está fijada en 15mg/kg peso corporal.
- No es toxica



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

- No causa cambios genéticos
- No afecta la reproducción masculina o femenina
- No causa defectos congénitos
- No afecta el sistema nervioso central
- No afecta la secreción normal de insulina ni el metabolismo de los hidratos de carbono en personas con diabetes.
- Se absorbe en pequeñas cantidades y se excreta rápidamente sin causar efectos secundarios gastrointestinales indeseables.
- No fomenta el desarrollo de caries dentales.
- No se hidroliza ni pierde moléculas de cloro durante el metabolismo

Sucralosa en la industria alimentaria

- Por todo ello, la sucralosa se usa para llevar a cabo productos como: Productos horneados, helados, productos lácteos, dulces y confituras, goma de mascar, bebidas no alcohólicas gasificadas, bebidas sin gas, frutas y vegetales en conserva, cereales para desayuno, salsas y jaleas (Echeverría, 2020).
- En la Figura 12, se muestran algunos ejemplos de alimentos donde se utiliza la sucralosa como reemplazo de la sacarosa, azúcar refinado muy utilizado en la industria de las confituras.



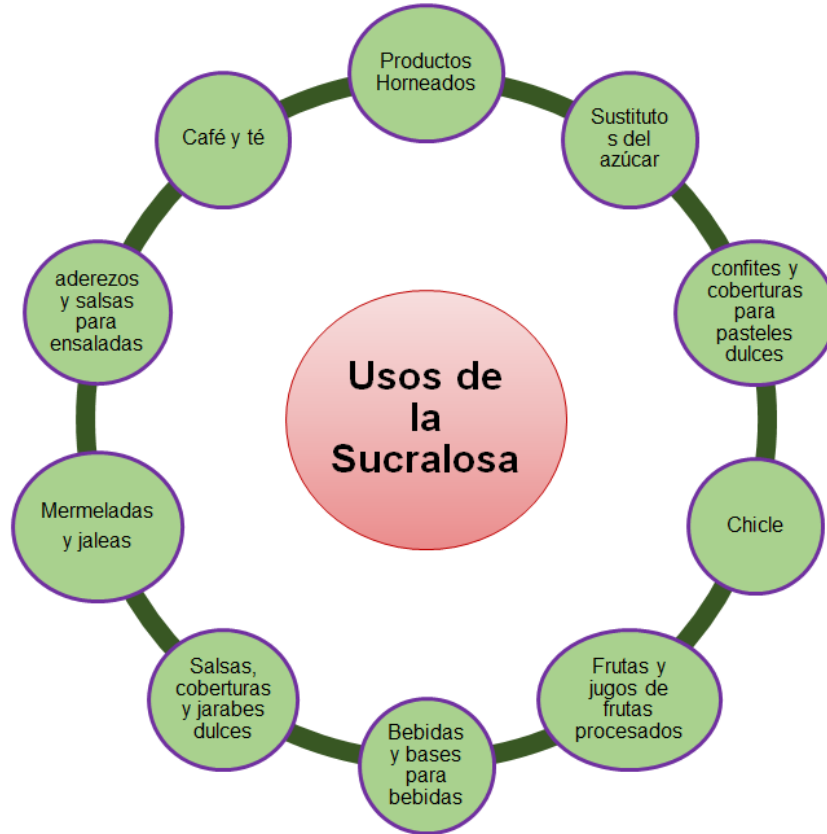


Figura 12: Utilización de la Sucralosa como endulzante en distintos alimentos.

Fuente: Elaboración Propia.

Absorción, metabolismo y excreción

Se absorbe en el tubo digestivo, el 85% es excretado intacto por vía renal, (Barrios, 2020, p.15). La mayoría (85%) no se absorbe, el 15% se absorbe como molécula intacta. No se metaboliza y se elimina vía renal, (Cavagnari, 2019, p.e2). Se metaboliza en el tubo digestivo el 15% se absorbe como molécula intacta y el 85% de los que se ingiere se excreta vía renal (9- 22%) y en heces (70 – 90%). El proceso se da hasta en 5 días posteriores al consumo, (Brown et al., 2010). Pasa a través del tracto gastrointestinal y se elimina en las heces sin cambios, (Whitehouse, et al, 2008, p.256).

5.2.2.10. Propóleos

En el CAA Capítulo XVI “Correctivos y coadyuvantes”, Artículo 1308 bis define los propóleos de la siguiente manera: “Se entiende por propóleos el producto compuesto de



sustancias resinosas, gomosas y balsámicas, ceras, aceites esenciales y polen, de consistencia viscosa, elaborado por las abejas a partir de ciertas especies vegetales, que son transportadas al interior de la colmena y modificadas parcialmente con sus secreciones salivares. La composición de los propóleos varía dependiendo de las especies vegetales de origen y de la función de los propóleos dentro de la colmena” (ANMAT, 2023)..

Este material resinoso que las abejas juntan de árboles, especialmente de los brotes de sauces, álamos, coníferas y robles, lo enriquecen con sus propias secreciones y lo transforman en un producto con propiedades defensivas para su colmena, (ver Figura 13).



Figura 13: Abejas trabajando el propóleos en el interior de una colmena

Fuente: INTA

El nombre de propóleo proviene del griego propolis (pro: en la entrada y polis: ciudad), lo cual indicaría que este producto natural se emplea como defensa de la colmena (Wagh,



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

2013). En español es denominado propóleo y también propóleos, ambos términos son aceptados y ampliamente utilizados.

El propóleo es un material resinoso colectado por las abejas obreras de la especie *Apis mellífera*, a partir de los exudados de las cortezas y diversos tejidos de las plantas. El mecanismo de recolección del propóleo comienza en el momento en que la abeja reconoce la resina vegetal ideal (la que tiene actividad biológica), y luego desprende el bálsamo resinoso valiéndose de sus mandíbulas y patas. Los materiales colectados por las abejas, son triturados utilizando sus glándulas mandibulares, humedecidos con saliva y secreciones enzimáticas, mezclados con la cera producida por las glándulas ceras y finalmente transportados hacia la colmena (Crane, 2009).

Para ello, luego de triturar la resina, con una de las patas transfiere a la cestilla de la pata posterior, cuando se llenan las cestillas la transportan a la colmena como se ve en la Figura 14.



Figura 14: Abeja cargada con resina para elaborar propóleos.

Fuente: Campo Galego, 2018.

El propóleo se utiliza en la colmena con fines múltiples, para cerrar grietas, impedir la entrada de enemigos como otros insectos, embalsamar cadáveres de enemigos que pudieran entrar y que por su tamaño no pueden sacarse de la colmena. Además, aprovechando su efecto bactericida, se emplea para barnizar la colmena con fines desinfectantes protegiéndola contra bacterias hongos y virus (Toreti y col., 2013).



Este producto se puede extraer de la colmena de dos maneras:

Método artesanal o de raspado: se retiran las alzas y los cuadros al preparar las colmenas para la etapa de invernada, ya que se aprovecha este momento para confinar la colonia de abejas al menor espacio posible y el material excedente se transporta al taller del apicultor. Se utiliza una espátula de acero inoxidable para raspar el propóleo adherido a las partes de la colmena, la herramienta no debe tener mucho filo para reducir el riesgo de arrastrar virutas de maderas (Isla y col., 2009).

Método técnico o método de proceso: Dentro de los métodos técnicos, los más utilizados consisten en el empleo de mallas que se colocan en la colmena, y las abejas recubren los huecos de las mallas con propóleo. Se utilizan las mallas matrizadas, (ver Figura 15A) y las mallas de tejido mosquitero plástico (ver Figura 15B). Las mallas metálicas no se utilizan en estos procesos porque contaminan el propóleo y las de fibra de vidrio tienden a romperse fácilmente durante la manipulación (Cuenca, 2015).

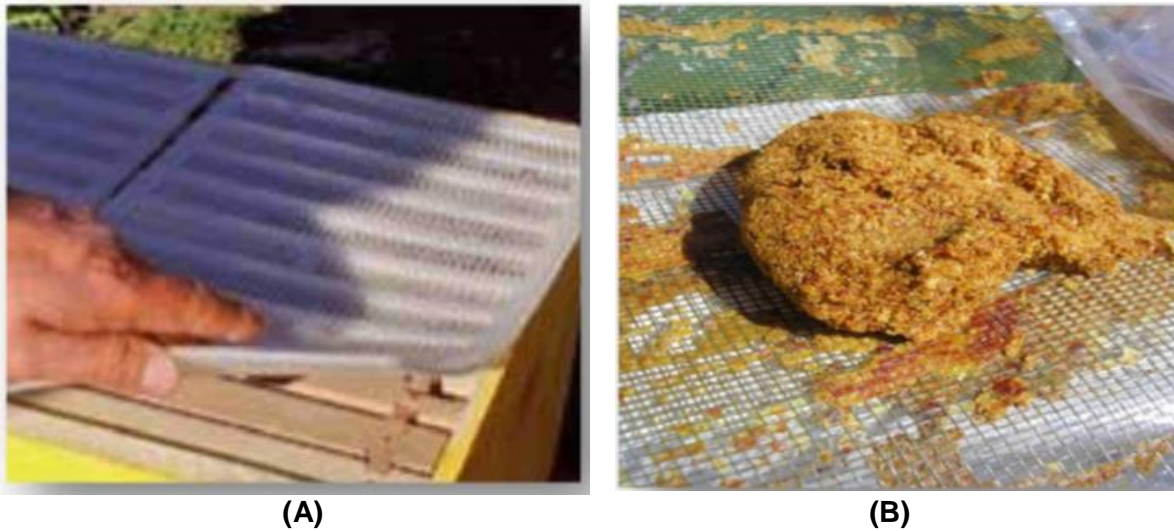


Figura 15: (A): Malla matrizada de recolección de propóleos; (B): Malla de tejido para recolección de propóleos.

Fuente: (Cuenca, 2015)

La composición química del propóleos es muy heterogénea y depende de la vegetación que predomina alrededor de la colmena (aproximadamente en un radio de 2 Km), la estación del año en que se lo recolecta, así como de su origen geográfico. En Argentina, la Provincia de Buenos Aires concentra actualmente más del 50% de la producción



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

apícola, pero resulta apreciable destacar que la apicultura se ha extendido en los últimos años a otras provincias como Santiago del Estero, Misiones, Entre Ríos, Tucumán y Neuquén.

El propóleo se compone básicamente de un 50 - 55% de resinas y bálsamos, 30 - 40% de cera de abeja, 5 - 10% de aceites esenciales o volátiles, 5% de polen y 5% de materiales diversos (orgánicos y minerales). Se destaca que en el propóleo se han identificado más de 160 compuestos, de los cuales un 50% son compuestos polifenólicos. Entre estos compuestos se encuentran:

- ✓ Flavonoides: acacetina, crisina amarilla, pectolinarigenina, tectocricina, galangina, pinocembrina, izalquinina, quercetina, pinostrobina y sakuranetina.
- ✓ Ácidos orgánicos: ácido benzoico y ácido gálico.
- ✓ Ácidos fenoles: ácidos cafeico, cinámico, fenílicoinsufenílico, ácido p- cumarínico, ácido ferúlico.
- ✓ Aldehídos aromáticos: vainillina, isovainillina. Cumarinas: esculetol, escopoletol.
- ✓ Ácidos grasos: ácidos undecanoico, neurónido y ácidos insaturados.
- ✓ Minerales: Aluminio, plata, bario, boro, cobalto, cobre, estaño, hierro, magnesio, manganeso, níquel, plomo, selenio, silicio, titanio, vanadio, molibdeno y zinc.
- ✓ Vitaminas: se han encontrado cantidades variables de vitamina A, B1, B2, B6, C, E, ácido nicotínico y ácido pantoténico.

Usos del propóleos: Aplicaciones en salud

Existen numerosos estudios acerca de las funciones terapéuticas del propóleo sobre diferentes afecciones del cuerpo humano (Wagh, 2013; Banskota y col., 2001) algunos se mencionan a continuación:

Funciones digestivas: el propóleo es digestivo y efectivo en el tratamiento de la giardiasis, la diverticulitis, la enfermedad de Crohn, la diarrea por candidiasis intestinal, y los dolores estomacales.

Funciones circulatorias: el propóleo contiene ácidos grasos polinsaturados, entre ellos el ácido linoleico, los cuales cumplen un papel en la prevención de la arteriosclerosis, y en la disminución de los riesgos de trombosis.



Funciones inmunológicas: el propóleo puede ser tanto inmunoestimulante como inmunosupresor, estos aspectos de la acción del propóleo son importantes en el tratamiento de las lesiones orgánicas del sistema nervioso central, como meningitis, encefalitis, traumatismo cerebral y sus secuelas. Aumenta la formación de anticuerpos y ejerce función citostática porque combate las fibrinas (cáncer) por la acción de las amilasas, lipasas y tripsina

Teniendo en cuenta todas las propiedades del propóleo, hoy en día existen en el mercado numerosos productos farmacéuticos que lo contienen, algunos ejemplos son: la empresa *APITER* que presenta diversos productos que aprovechan las propiedades del propóleo, su línea de productos *Propóleo-D®* tiene como principio activo propóleo estabilizado, dentro de la cual hay productos para tratamientos de quemaduras (*Propóleo-d ungüento; Propol-z polvo y Propóleo-d crema*), productos que favorecen la cicatrización y evitan la contaminación de heridas (*Propóleo-D Apósito y Propóleo-D Loción*), también elaboran productos cosméticos (jabones de propóleo) y nutracéuticos (Propóleo bebible y caramelos) que se comercializan como complementos alimenticios que favorecen el sistema inmunitario. Otro caso es el de *Beekeeper's Naturals Inc.*, empresa que ofrece un spray de propóleo para el apoyo inmunitario diario en padecimientos de la garganta y aftas bucales. Por otro lado, la empresa *Codonyer & March* ofrece una línea de cosmética de propóleo en la cual se destacan las cremas regeneradoras, como son la crema facial, de pies y manos, y la loción corporal, además incorporaron un champú regenerador, un gel de baño y un ungüento apto para ser utilizado en las pieles más sensibles. La empresa *JUANOLA* desarrolló el jarabe de propóleo, miel, tomillo y altea para ayudar al tratamiento de la afonía al mitigar la irritación de garganta, faringe y cuerdas vocales. Otro ejemplo es el producto desarrollado por *Promo Pharma*, una solución con un 10% de propóleo apto para dolores de garganta.

Aplicaciones en alimentos

Si bien la aplicación del propóleo se centra en los productos farmacéuticos, también existen estudios sobre aplicaciones en alimentos, empleándolo como conservante o antioxidante: se ha utilizado para el desarrollo de películas comestibles (Gonçalves Borges y col., 2013); se aplicó como antioxidante en varios productos alimenticios, como pescado, salchichas, carne de ave, jugo de manzana, leche y miel, diferentes frutas y verduras, encontrando una buena aceptación sensorial (Alvarez y col., 2017; Alvarez y



col., 2015; Gutiérrez-Cortés y Suarez Mahecha, 2014; Jafari y col., 2018; Kročko y col., 2014; Osés y col., 2016; Thamnopoulos y col., 2018; Villaroya y col., 2015).

Sin embargo, debido a la dificultad de ocultar el sabor amargo característico del propóleo, es escasa la aplicación directa en alimentos. Algunos ejemplos de sus aplicaciones en la industria alimenticia/nutracéutica son: los productos elaborados por *Natufarma*, quienes se centran especialmente en productos nutracéuticos dentro de los cuales hay suplementos, jarabes y caramelos a base de propóleo, junto con otros productos naturales. La empresa *Trepap diet* dentro de sus múltiples productos nutracéuticos recientemente comenzó a comercializar pastillas masticables para niños con forma de osito bajo la denominación “*ESI Propolaid Propolbaby*” con el fin de aumentar sus defensas naturales inmunológicas, en particular contra las enfermedades de enfriamiento en la estación invernal. *Car y Mer* posee una jalea a base de propóleo, miel y frutas en la que se promocionan sus características funcionales derivadas de los compuestos aportados por el propóleo, tales como, la provitamina A, vitaminas del grupo B (especialmente B3), aminoácidos, minerales y bioflavonoides. *Monacal* es otra empresa que se centra en productos orientados a los niños como es el caso de la solución bebible de propóleo y miel que se suministra con el fin de potenciar las funciones digestivas, además también elaboran caramelos duros de propóleo y miel.

Hasta el momento no hay una incorporación oficial de alimentos con propóleos al Código Alimentario Argentino.

A continuación, se muestra los productos a los que pueden ser incorporados el propóleos y ser factible de ser comercializados.

Marco regulatorio del Propóleos

CAPÍTULO XVII: Alimentos de régimen o dietéticos

Artículo 1384 - (Resolución Conjunta SPReI N°94/2008 y SAGPyA N° 357/2008) “Se autorizarán los propóleos definidos en el Artículo 1308 bis como ingrediente únicamente de los siguientes productos:

1. Caramelos con propóleos.
2. Mielles con propóleos, las que podrán contener además polen y/o jalea real.
3. Propóleos en solución hidroalcohólica de etanol o propilenglicol.
4. Suplementos dietarios.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

A los efectos de la aprobación deberá presentarse el análisis del producto final, que avale la cantidad de propóleos presente en el mismo, mediante una titulación de flavonoides según Normas IRAM 15935-1- PROPÓLEOS BRUTO y 15935-2- EXTRACTO DE PROPOLEOS. El consumo diario de propóleos de acuerdo al modo de uso no podrá superar 300 mg/día para adultos y 150 mg/día para niños menores de 12 años.

En el rótulo de estos productos alimenticios se deberá consignar, además de las exigencias generales de rotulado y la denominación asignada por la Autoridad Sanitaria, lo siguiente: a) El contenido porcentual de propóleos que aporta el producto.

b) La leyenda: 'MANTENER EN LUGAR FRESCO, SECO Y PROTEGIDO DE LA LUZ'.

c) La ingesta diaria máxima de propóleos para adultos: 300 mg.

d) La ingesta diaria máxima de propóleos para niños menores de 12 años: 150 mg.

e) El modo de uso en el que se deberá indicar en forma clara que la porción consumida por día no debe superar lo establecido en c) y d).

f) Las leyendas: 'CONTIENE PROPOLEOS. PERSONAS ALERGICAS O SENSIBLES. NIÑOS MENORES DE 4 AÑOS, MUJERES EMBARAZADAS O EN PERIODO DE LACTANCIA: NO CONSUMIRLO'.

No se podrán mencionar propiedades de prevención ni tratamiento de enfermedades en el rótulo ni en la publicidad de los productos que contienen propóleos. Estos productos se denominarán:

1. 'Caramelos con... % propóleos' llenando el espacio con el dato de acuerdo al porcentaje de propóleos que contengan. Los caramelos no podrán expendirse sueltos sino en envases secundarios con la rotulación correspondiente. De acuerdo con el artículo 1341 del Código Alimentario Argentino no podrán fraccionarse para ser expendidos individualmente.

2. 'Miel con... % propóleos', llenando el espacio con el dato de acuerdo al contenido de propóleos y/o 'Miel con... % propóleos, polen y/o jalea real'.

3. 'Propóleos al...% en solución hidroalcohólica de etanol o de propilenglicol' según corresponda, llenando el espacio con el dato de acuerdo al contenido de propóleos.

4. Para el caso de los suplementos dietarios se rotularán con la denominación de venta correspondiente, indicando además que contiene... % de propóleos, llenando el espacio con el dato de acuerdo al contenido de propóleos." Artículo 1385 - (Resolución Conjunta SPReI N°95/20



5.2.2.11. Ácido Cítrico

La incorporación de ácido cítrico obedeció a mejorar el balance ácido/dulce en los caramelos y también contribuyó a aumentar la estabilidad microbiológica de los mismos. El uso de compuestos acidulantes en la conservación y mejora de propiedades organolépticas en alimentos es extenso, en particular, los ácidos que contienen uno o más carboxilos son aditivos alimentarios de amplio uso. El ácido cítrico (ácido 2- hidroxipropanoicocarboxílico), es un ácido orgánico que se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales, pero también puede obtenerse por síntesis, (ver Figura 16). Es considerado un ácido carboxílico versátil y ampliamente utilizado en el campo de la alimentación, de los productos farmacéuticos y cosméticos, entre otros (Ramesh y Kalaiselvam, 2011). Físicamente es un polvo cristalino blanco que puede presentarse de manera anhidra o como monohidrato. El ácido cítrico se utiliza principalmente en la industria alimentaria debido a su agradable sabor ácido y su alta solubilidad en agua.

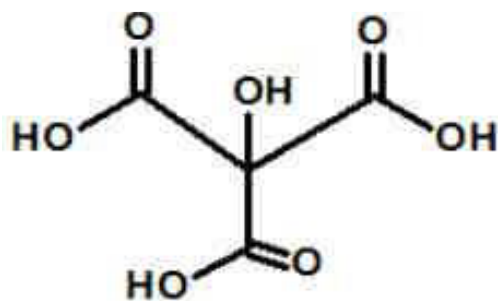


Figura 16: Estructura química del ácido cítrico.

La incorporación de ácidos en alimentos cumple diversas funciones dependiendo de la aplicación particular. Tales aplicaciones se inscriben en la explotación de una o varias de las siguientes propiedades de los ácidos orgánicos, o sus sales:

- 1) Poder acidulante.
- 2) Capacidad amortiguadora o reguladora del pH.
- 3) Agente quelante de iones metálicos.



4) Emulsificante.

5) Efectos organolépticos.

El principal uso es la acidificación y control del pH en el producto final. Un pH bajo, retarda el crecimiento de microorganismos indeseables y aumenta la efectividad de conservadores como benzoatos y sorbatos. Asimismo, promueve la inactivación de enzimas indeseables como polifenoloxidasas (Papagianni, 2007).

Por otro lado, el ácido cítrico puede agregarse como un ingrediente para mejorar aspectos organolépticos como por ejemplo el balance ácido/dulce de alimentos con sabores frutales.

6. Metodología

6.1. Tipo de estudio

El enfoque cuantitativo representa un conjunto de procesos secuencial y probatorio. Cada etapa precede a la siguiente y no podemos “brincar o eludir” pasos, el orden es riguroso, aunque, desde luego, podemos redefinir alguna fase. Parte de una idea, que va acotándose y, una vez delimitada, se derivan objetivos y preguntas de investigación, se revisa la literatura y se construye un marco o una perspectiva teórica. De las preguntas se establecen hipótesis y determinan variables; se desarrolla un plan para probarlas (diseño); se miden las variables en un determinado contexto; se analizan las mediciones obtenidas (con frecuencia utilizando métodos estadísticos), y se establece una serie de conclusiones respecto de la(s) hipótesis (Hernández y Baptista, 2010).

Para el diseño utilizado en este Trabajo Final de Maestría se utilizó este tipo de metodología, ya que en el mismo se desarrolló una formulación de confitura tipo mermelada, a las cuales se les realizaron determinaciones analíticas de laboratorio que incluían parámetros físico-químicos y sensoriales.

Se trabajó en forma objetiva, ya que los datos obtenidos fueron concretos y estaban basados en los parámetros estudiados en cada formulación desarrollada.

Se siguió un modelo prospectivo, vale decir, los resultados obtenidos durante la investigación y el desarrollo de los productos fueron volcados y registrados para posteriormente procesarlos y analizarlos estadísticamente.



En forma general, fue un estudio analítico y experimental. Se realizaron formulaciones basadas en diseños experimentales y se analizaron los resultados a través de ensayos de laboratorio y análisis sensorial.

6.2. Dimensiones, escalas e indicadores.

A continuación, en la Tabla 9, se presentan las variables a analizar con sus respectivos valores e indicadores.

Tabla 9: Dimensiones, escalas e indicadores con sus descripciones

| DIMENSIÓN | VALOR | ESCALA DE MEDICIÓN | INDICADORES |
|------------------------------|--|--|---|
| Color | CIELAB (L*, a* y b*) | L*: Luminosidad (Varía del blanco (100%) a negro (0%), pasando por una escala de grises a* y b*: indican cromaticidad (-a* verde; +a* rojo; -b* azul; +b* amarillo) | Expresados en valores de L*, a* y b* en fotocolorímetro portátil |
| pH | No mayor a 4,5 | Escala entre 0 y 14 Ácido: < de 7.0 Neutro: = 7.0 Alcalino: > de 7.0 | Medidos a través de pHmetro portátil digital. |
| °Bx | Contenido en 100 g de muestra: Entre 20 y 30% | Escala de 0 a 100 % | Medidos con refractómetros portátil y/o digital. |
| Actividad de agua | Entre 0,7 y 0,8 | Escala de 0 a 1 | A través de medidores de aw (higrómetros). |
| Humedad | Contenido en 100 g de muestra: A determinar. | Escala de 0 a 100 % | Por gravimetría en estufa de secado |
| Capacidad antioxidante | Contenido en 100 g de muestra: A determinar. | mmol de trolox/100 g de muestra | Analizado por espectrofotometría UV. |
| Polifenoles Totales | Contenido en 100ml de EEP | mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 ml de EEP | Folin Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi |
| Grado de satisfacción global | 1: Me disgusta mucho 2: Me disgusta bastante | Escala hedónica de 7 puntos | Análisis con panel sensorial de consumidores con escala hedónica. |



| | | | |
|--|--|--|--|
| | 3: Me disgusta ligeramente 4: No me gusta ni me disgusta 5: Me gusta ligeramente 6: Me gusta bastante 7: Me gusta mucho | | |
|--|--|--|--|

Fuente: Elaboración Propia.

6.3. Universo y características de las muestras

Universo: Todas las muestras que fueron obtenidas posteriormente al envasado, conteniendo la mermelada con sus diferentes formulaciones.

Unidad de análisis: Confitura tipo mermelada envasadas en envases de vidrio de 50g de cierre hermético, a base de ciruela amarilla y zanahoria y sus demás ingredientes de la formulación, elaborados en la Facultad de Bromatología de la Universidad Nacional de Entre Ríos.

6.4. Fuentes de información y técnicas de recolección de datos

Los datos recolectados fueron tabulados de forma manual y electrónica. El procesamiento electrónico se realizará por medio del programa Microsoft Excel 2007.

Para los diseños se trabajó con el programa Design Expert 11.0 donde se aplicó un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken con 3 factores y 3 respuestas. En el análisis fisicoquímico, funcional se determinaron las diferencias significativas entre las propiedades de las formulaciones n mediante análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó un nivel de significación alfa de 0,05 ($p < 0,05$).

Para el análisis sensorial se realizó un análisis de componentes principales (ACP), mediante el programa InfoStat-Statistical versión 2018e para establecer la relación entre los factores y las respuestas.



6. Desarrollo

CAPÍTULO I: OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE EXTRACTOS DE RESINA DE PROPÓLEOS A UTILIZAR COMO INGREDIENTE BIOFUNCIONAL DE LA MERMELADA

Considerando que el propóleo no puede utilizarse tal cual se cosecha de las colmenas, se efectuó, una extracción de las resinas crudas que contienen las sustancias bioactivas como los polifenoles, que le confieren alta capacidad antioxidante y que formarán parte de la formulación desarrollada. Por lo tanto, que es importante, efectuar la caracterización funcional del extracto de propóleo obtenido, para luego incorporar el mismo a la mermelada.

6.1. Obtención de las muestras de resina cruda de propóleos

Se recolectaron muestras de propóleos provenientes de diferentes zonas de la Provincia de Entre Ríos, las cuales se encuentran acopiadas en la Cooperativa Apícola Gualeguaychú.

Los métodos usados en la recolección de propóleos fueron: por raspado y con mallas.

Para la recolección mediante raspado, se utilizó una espátula de acero inoxidable con el objetivo de remover el propóleo adherido en las caras laterales, tapas y entretapas de la colmena.

En cuanto al método de recolección mediante mallas, se utilizaron mallas plásticas de matrizado que se colocaron en áreas específicas de la colmena hasta que quedaron recubiertas del material. Luego, se retiraron las mallas y se almacenaron las muestras en un congelador a -20°C para facilitar la remoción del producto.

Finalmente, se mezclaron todas las muestras para obtener una muestra representativa de la zona y se redujo su tamaño por molturación hasta lograr una consistencia en polvo.

Es importante destacar que es imprescindible procesar este material para extraer las resinas que contienen los polifenoles necesarios para luego ser agregado al producto



final. Para dicha extracción, se utilizó una combinación de soluciones hidroalcohólicas, tiempos de maceración y temperaturas de tratamiento, cuyos detalles se describen en los siguientes apartados de este trabajo.

6.2. Optimización del proceso de obtención de los extractos mediante diseños de superficies de respuestas

6.2.1. Diseño experimental

Para realizar el modelo de optimización se aplicó un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken con 3 factores y 3 respuestas (*Design Expert 11.0*). Los factores elegidos fueron: tiempo (10 a 40 min), temperatura (30 a 70°C) y concentración de etanol (40 a 90%); y las respuestas: capacidad antioxidante (CA), compuestos polifenólicos totales (CPT) y extracto sólido (ES). Del diseño resultaron quince puntos experimentales que incluyeron tres réplicas de puntos centrales en dos bloques.

6.2.2. Obtención de los extractos etanólicos de propóleo (EEP)

El proceso de extracción constó de 6 etapas:

Etapla 1: Las muestras de propóleo (congeladas) se molieron con el objetivo de disminuir su granulometría. Esto aumenta la superficie de contacto de la muestra para mejorar la eficiencia del proceso de extracción.

Etapla 2: Se tomaron 5 g de la muestra de propóleo molido y se colocaron en un recipiente cerrado con 50 ml de la solución de extracción en constante agitación, variando el contenido de etanol, tiempo y temperatura.

Etapla 3: Las suspensiones obtenidas se centrifugaron a 2500 rpm durante 5 minutos, separando la fracción líquida (sobrenadante) de la fracción sólida. Se recolectó el sobrenadante en un frasco color caramelo, mientras que la porción sólida se colocó nuevamente en el recipiente de extracción repitiendo la operación tres veces más hasta obtener un volumen de 200 ml.



Etapa 4: Los sobrenadantes obtenidos se colocaron en frascos color caramelo y se refrigeraron (4°C) durante un periodo de 72 horas para permitir una correcta solidificación de las ceras que pudieron solubilizarse durante la extracción.

Etapa 5: Las ceras solidificadas se separaron por centrifugación a 2500 rpm y se descartaron. Los líquidos sobrenadantes constituyeron los correspondientes EEP.

Etapa 6: Los EEP obtenidos se colocaron en frascos color caramelo y se almacenaron en condiciones de refrigeración para mejor su conservación hasta ser utilizados.

6.2.3. Capacidad Antioxidante (CA) de EEP

La CA se determinó mediante el ensayo de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC), método aplicado por Archaina, y col., (2015). Para la medición se utilizó el ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), el cual se convierte en su catión radical (ABTS•+) mediante la adición de persulfato de sodio. El ABTS•+ es de color azul y frente a la mayoría de los antioxidantes se convierte de nuevo a su forma neutra incolora. Esta reacción se cuantifica espectrofotométricamente midiendo la absorbancia con una longitud de onda de 734 nm. La curva de calibración de ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) se confeccionó con 6 puntos cuyas concentraciones se encontraron entre 0 y 6 ppm ($r^2=0,993$). Para la curva y las muestras se descontó el blanco de reactivo. Los resultados fueron expresados en mmol de Trolox/100 ml de EEP.

Se empleó el método TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) propuesto por (Re y col., 1999). El ensayo TEAC o ensayo del ABTS es una técnica que se emplea para medir la capacidad antioxidante de materiales biológicos, compuestos puros o extractos de plantas de naturaleza hidrofílica o lipofílica. Involucra un compuesto coloreado de naturaleza radical, con el fin de simular especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Por este motivo el agregado de sustancias antioxidantes que reaccionen con el radical producirá una decoloración de la solución que se puede medir espectrofotométricamente.

• Reactivos

- Buffer fosfato (PBS) 0,01M de pH 7,4: Se pesaron 4,0 g de NaCl; 0,10 g de KCl; 0,72 g de Na₂HPO₄ y 0,1200 g de K₂HPO₄ y se disolvieron en 400 mL de agua



bidestilada, ajustando el pH a 7,4 con HCl o NaOH, según fuera necesario. Se enrasó a 500 mL con agua bidestilada.

• **Solución de ABTS•+:**

- Solución madre de ABTS•+: Se pesaron 0,0194 g (7 mM) de ABTS (ácido 2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolina]-6-sulfónico) y 0,0033 g (2,45 mM) de persulfato de potasio en un matraz aforado de 5,0 mL y se llevó a volumen con agua bidestilada. Se dejó reposar durante 16 hs a temperatura ambiente y protegido de la luz para favorecer la completa formación del radical catiónico ABTS•+.
- Solución de ABTS•+ de trabajo: Se diluyó el radical coloreado ABTS•+ en buffer fosfato pH 7,4 hasta llegar a una absorbancia propicia para la medición de la muestra (1,000-1,200) midiendo a 734 nm, y se almacenó refrigerado (4 °C) y protegido de la luz.
- Solución madre de Trolox 4 mM (1 mg/mL): Se pesó con exactitud 100 mg de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico) y se enrasó a 100 mL con metanol. Se almacenó la solución a -20°C para asegurar su estabilidad (6 meses). La curva estándar se preparó con concentraciones de Trolox que fueron de 0,02 mg/mL hasta 0,12 mg/mL, para ello se tomaron alícuotas de la solución madre y realizaron las diluciones con metanol.

• **Curva de calibración**

- Se colocó en un tubo de ensayo 1,90 mL de solución de trabajo de ABTS•+ y se midió la absorbancia a 734 nm para obtener el valor de lectura a tiempo 0. Luego se adicionaron 0,10 mL de las distintas diluciones de la curva estándar en sendos tubos, agitando en cada caso y se colocaron en un baño termostático a 25°C durante 30 minutos para favorecer la reacción de decoloración. Luego se midió la absorbancia a 734 nm del blanco y de las diluciones para obtener la lectura a tiempo 30.

El blanco de la curva se midió antes y después del tratamiento térmico para determinar la reducción del color que se produce por factores distintos al estándar y contemplar este valor para evitar errores por exceso en la capacidad antioxidante. Los resultados fueron el promedio de tres mediciones.

Luego de terminar las mediciones se calculó el porcentaje de disminución de la absorbancia de la curva utilizando la siguiente fórmula:

$\% \text{ Dism Muestra} =$

$\frac{\text{AbsM30} \times 100}{\text{AbsB0}}$

$-\% \text{ Dism Blanco}$

Donde:

El % disminución del blanco es el porcentaje de disminución de absorbancia que sufre el blanco por factores distintos a la muestra, o en este caso a la cantidad de Trolox presente y que resulta del promedio de los tres blancos medidos, según la siguiente fórmula:

$\% \text{ Dism Blanco} = 100 -$

$\frac{\text{AbsB30} \times 100}{\text{AbsB0}}$

Donde:

Donde:

AbsB0: es el promedio de las mediciones del blanco a tiempo 0.

AbsB30: es el promedio de las mediciones del blanco a los 30 min.

AbsM30: es la absorbancia de la muestra una vez transcurrido los 30 min de reacción.

Es muy importante determinar el porcentaje de disminución del blanco, porque la reacción es dependiente de la temperatura y como se trabaja a 25°C cualquier factor externo (oxígeno, luz, etc.) puede producir contundentes variaciones de absorbancia.

- **Medición de las muestras**

Se realizaron diluciones 1/50 de la miel con agua destilada, se tomaron alícuotas de 0,10 mL y se agregaron 1,9 mL de ABTS, luego las muestras se incubaron durante 30 minutos a 25°C y se midieron las absorbancias a 734 nm. Los resultados se informaron como el promedio (triplicado) \pm la desviación estándar, expresados como mmol Trolox/100 g muestra.

6.2.4. Compuestos Polifenólicos Totales (CPT)

Se utilizó el método de Folin Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi, (1965) con algunas modificaciones. La curva de calibración de ácido gálico se confeccionó con 6 puntos cuyas concentraciones se encontraron entre 0 y 0,3 mg/ml ($r^2=0,999$). Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 ml de EEP.



6.2.5. Extracto Seco (ES)

Para determinar el ES se tomaron alícuotas de 10,0 ml de cada uno de los EEP y fueron colocados en cristalizadores previamente tarados. Se secaron en estufa a 100°C hasta peso constante. El ES presente en los extractos se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$ES\% = \frac{(PCre - PCv)}{VEEP} \times 100$$

Donde:

PCre: Peso del cristalizador con residuo.

PCv: Peso del cristalizador vacío.

VEEP: volumen de EEP utilizado.

6.2.6. Análisis Estadístico

Los resultados se expresaron como el promedio \pm desviación estándar de 3 repeticiones. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas, utilizando la prueba de LSD Fisher con un nivel de significancia de 5% ($p < 0,05$). Todos los resultados fueron analizados utilizando el software Infostat v.2008 (Di Rienzo y col., 2008). Además, para establecer la relación entre los factores y las respuestas se realizó un análisis de componentes principales (ACP), mediante el programa InfoStat-Statistical versión 2018e.

6.1. Encapsulación del propóleo para aplicarlo como ingrediente biofuncional de la mermelada.

6.1.1. Elección de la matriz soporte para el extracto de la resina de propóleos



6.1.1.1. Procesos de retención de la resina de propóleos en diferentes matrices y elección del polvo para utilización como ingrediente

Para lograr la retención de la resina de propóleos y poder utilizarla en forma de polvo, se realizaron estudios en cuatro (4) matrices de soporte distintas:

- Gelatina
- Maltodextrina
- Carbonato de calcio
- Sacarosa

Los procesos se dividieron en etapas para una mejor visualización.

Proceso de retención de resina de propóleos en gelatina

En este proceso se utilizó gelatina sin sabor comercial de marca Royal, envasadas en sobres conteniendo 14 g.

Etapas 1: Dilución de la gelatina en agua

En esta etapa se diluye 10g de la gelatina en 100 ml de agua para prepararla como soporte para la resina.

Etapas 2: Dilución del extracto en la gelatina

Se agrega el EEP a la gelatina diluida para lograr la retención de la misma. Se mantiene la mezcla a baño maría durante 45 minutos para eliminar el etanol. El contenido de EEP que se agrega es el necesario para lograr que el sólido final tenga un 7.5% de resina

Etapas 3: Gelificación

La mezcla se deja reposar hasta que llega a temperatura ambiente y posteriormente se lleva a temperatura de refrigeración (entre 4 y 8°C) durante 12 horas para lograr su gelificación.



Etapa 4: Liofilización

Una vez gelificada la mezcla, se lleva a -25°C durante 24 horas para congelar completamente el agua, luego se procede a liofilizar la mezcla congelada a una presión de 0,040 mbar y -50°C de temperatura durante 48 horas.

Etapa 5: Molienda y envasado

Finalmente, la mezcla liofilizada se somete a una reducción de tamaño por molturación hasta lograr la granulometría deseada para obtener el polvo y se envasa en bolsas de polipropileno de cierre fácil (tipo ziploc), en un lugar fresco, seco y protegido de la luz.

Proceso de retención de resina de propóleos en carbonato de Calcio

Etapa 1: Preparación de la mezcla

En esta etapa, se realiza la mezcla del extracto etanólico de propóleo y el carbonato de calcio en un recipiente de boca ancha. La concentración de resina en el producto final se fija en un 7,5%.

Etapa 2: Eliminación de etanol y agua.

El siguiente paso es eliminar el etanol y el agua del extracto mediante calor a una temperatura de 45°C a presión reducida (vacío). Para ello se utilizó una estufa de vacío para facilitar dicha evaporación. Para acelerar y mejorar el proceso de evaporación, la mezcla debe removerse cada dos horas aproximadamente.

Etapa 3: Obtención del polvo.

Después de 12 horas de calentamiento y evaporación, se obtiene un producto sólido a partir de la mezcla. Este último se somete a una reducción de tamaño por molturación hasta la granulometría deseada para obtener el polvo.

Etapa 4: Envasado.

El producto obtenido en forma de polvo, se envasa en bolsas de polipropileno de cierre fácil (tipo ziploc).

Etapa 5: Almacenamiento.



Por último, las bolsas de producto se almacenan en un lugar fresco, seco y protegido de la luz para mantener su calidad durante el tiempo de almacenamiento.

Proceso de retención de resina de propóleos en maltodextrina

Etapa 1: Preparación de la mezcla.

En esta etapa, se prepara la mezcla del extracto etanólico de propóleo y la maltodextrina en un recipiente de boca ancha. La concentración de resina en la mezcla final se fija en un 7,5%.

Etapa 2: Eliminación de etanol y agua.

El siguiente paso es eliminar el etanol y el agua del extracto mediante calor a una temperatura de 45°C a presión reducida (vacío). Para ello se utilizó una estufa de vacío para facilitar dicha evaporación. Para acelerar y mejorar el proceso de evaporación, la mezcla debe removerse cada dos horas aproximadamente.

Etapa 3: Obtención del polvo.

Después de 12 horas de calentamiento y evaporación, se obtiene un sólido a partir de la mezcla. Este último se somete a una reducción de tamaño por molturación hasta la granulometría deseada para obtener el polvo.

Etapa 4: Envasado.

El producto en forma de polvo se envasa en bolsas de polipropileno de “cierre fácil” para su almacenamiento.

Etapa 5: Almacenamiento.

Por último, las bolsas de producto se almacenan en un lugar fresco, seco y protegido de la luz para mantener su calidad durante el tiempo de almacenamiento.

Proceso de retención de resina de propóleos en sacarosa

Etapa 1: Dilución de la sacarosa en agua



En esta etapa se diluye 10 g de sacarosa en 100 ml de agua para prepararla como soporte para la resina.

Etapa 2: Dilución del extracto en la sacarosa:

Se agrega el EEP a la solución de sacarosa. Se mantiene la mezcla a Baño María durante 45 minutos para eliminar el etanol. El contenido de EEP que se agrega es el necesario para lograr que el sólido final tenga un 7.5% de resina

Etapa 3: Liofilización

Una vez atemperada la mezcla se lleva a -25°C durante 24 horas para lograr congelar completamente el agua, luego se procede a liofilizar la mezcla congelada a una presión de 0,040 mbar y -50°C de temperatura durante 48 horas.

Etapa 4: Molienda y envasado

Finalmente, la mezcla liofilizada se somete a una reducción de tamaño por molturación hasta lograr la granulometría deseada para obtener el polvo y se envasa en bolsas de polipropileno de cierre fácil (tipo ziploc), en un lugar fresco, seco y protegido de la luz.

6.1.2. Características fisicoquímica, funcional e inhibitoria del propóleo encapsulado

6.1.2.1. Actividad de agua

Para la medición de la actividad de agua se utilizó un higrómetro marca Rotronic modelo Hygrolab 3 (E.E.U.U.). Las muestras se colocaron en la celda correspondiente y se registró el valor obtenido luego de un periodo de estabilización que osciló entre 40 y 50 min. Las mediciones se realizaron por quintuplicado y se informaron como el promedio \pm la desviación estándar.



6.1.2.2. Determinación de humedad

La humedad total se cuantificó siguiendo el método gravimétrico indirecto (AOAC, 2000), con modificaciones. Se pesaron 10 g de muestra en cristalizadores previamente tarados. Posteriormente se llevaron a una estufa a 105°C hasta peso constante. Las determinaciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como g de agua/100 g de muestra, presentando el valor promedio \pm la desviación estándar.

6.1.2.3. Medición de los parámetros de color (L, a* y b*)

El color superficial se determinó mediante fotocolorimetría utilizando un colorímetro portátil *HunterLab MiniScan EZ* (Murnau, Alemania). Se calcularon las funciones de color para el iluminante C con un observador estándar de 2° y en el espacio de color uniforme CIELAB. Se analizaron diez replicados de cada muestra.

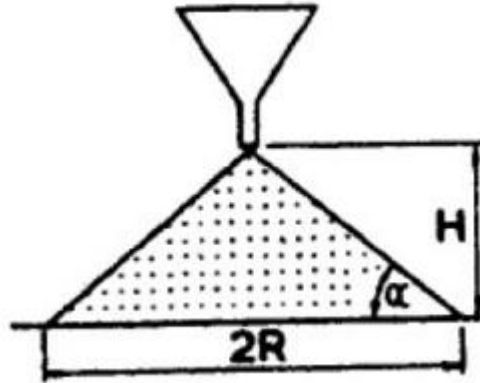
6.1.2.4. Ángulo de reposo

Para determinar el ángulo de reposo del material, se utilizó un embudo con una salida de diámetro de 2 mm, colocado a una altura de 2 cm (H) sobre la superficie de la mesada. El material fue vertido cuidadosamente en el embudo para formar una pila cónica. La construcción de la pila se detuvo cuando alcanzó el orificio de salida del embudo. A continuación, se midió el diámetro de la base de la pila (R). El ángulo de reposo se determinó mediante el cálculo trigonométrico del ángulo formado entre la base de la pila y la horizontal utilizando la siguiente fórmula:

$$\tan \varphi_{rep} = \tan \alpha = \frac{H}{R}$$

Donde θ representa el ángulo de reposo, H es la altura del embudo y R es el diámetro de la base de la pila. Según la Farmacopea Estadounidense (USP 37), el ángulo de 25° a 40° indican una fluidez de excelente a adecuada, de 41° a 55° de aceptable a pobre y de 56° a mayor 66° de muy pobre a extremadamente pobre.





6.1.2.5. Fluidez y cohesividad obtenida de la densidad aparente y compactada.

Fluidez (Índice de Carr) y cohesión (Relación de Hausner). Las densidades aparentes (δ_B y δ_T) se determinaron siguiendo a Archaina, Vasile, Jiménez-Guzmán, Alamilla-Beltrán y Schebor (2019) y los resultados se expresaron en g/mL. La fluidez (ecuación (4)) se puede definir por el Índice de Carr (CI) considerando la siguiente escala: (a) <15%: muy buena, (b) 15-20%: buena, (c) 20-35%: regular, (d) 35-45%: mala, (e) >45%: muy mala. Por otro lado, la Relación de Hausner (HR) describe la cohesión del polvo (ecuación (5)): (a) <1.2: baja, (b) 1.2-1.4: intermedia, (c) >1.5: alta (Archaina et al., 2018).

$$C_I = \frac{(\delta_T - \delta_B) \times 100}{\delta_T}$$

$$H_R = \frac{\delta_T}{\delta_B}$$

Donde δ_B y δ_T son las densidades aparentes y compactadas, CI se refiere al Índice de Carr y HR es la Relación de Hausner.

6.1.2.6. Capacidad Antioxidante

Se realizó de la misma manera que en el ítem 6.2.3., con algunas modificaciones. La preparación de las muestras y la determinación de su contenido de antioxidantes. Se utilizó una solución de etanol al 70% para diluir 0,1 g de cada muestra, enrasando en un matraz de 10 ml. A continuación, se tomó una alícuota de 1 ml de estas soluciones y se diluyó para ajustarse a la curva de calibración de trolox. Para la solución de carbonato de calcio, se realizó una dilución al medio, mientras que para el polvo con resina de propóleos se utilizó una dilución 1 en 8.

Posteriormente, se llevó a cabo la determinación del porcentaje de disminución y se calculó la concentración equivalente de trolox utilizando la ecuación de la curva de calibración, que fue $y=9E^{-05}x+0,0002$ ($r^2=0.9937$).

6.1.2.7. Perfil de polifenoles por HPLC

La determinación del perfil de polifenoles se realizó para caracterizar el EEP seleccionado en base a varios criterios que se describen en la sección de Resultados. Se empleó la técnica de HPLC informada por Spáčil y col. (2008), con modificaciones. Brevemente, se tomó 1 mL del EEP y se enrasó en 100 mL con metanol, luego se tomó una alícuota y se filtró usando un filtro de membrana de nylon de 0,22 μm y se inyectó (20 μL) en el sistema de HPLC nombrado en el ítem. 6.3.2.7. El rango de longitud de onda de detección fue de 200-450 nm. Se utilizó una fase móvil en gradiente (ver Tabla 10) con un caudal de 1 mL/min, a 30°C y con un tiempo de corrida de 70 minutos.

seleccionado.

Tabla 10: Gradiente utilizado en la determinación del perfil de polifenoles del EEP

| Tiempo (min) | Bomba A: Metanol (%) | Bomba B: Agua con 1% de ác. fosfórico (%) |
|--------------|-------------------------|--|
| 0 | 30 | 70 |
| 15 | 30 | 70 |
| 20 | 40 | 60 |
| 30 | 45 | 55 |
| 50 | 60 | 40 |
| 60 | 80 | 20 |
| 65 | 100 | 0 |
| 70 | 30 | 70 |

Fuente: Elaboración Propia.



Para identificar y cuantificar los diferentes constituyentes presentes en el EEP se utilizaron los siguientes estándares (Sigma-Aldrich®): ácido caféico, ácido benzoico, ácido ferúlico, ácido cinámico, ácido cumárico, ácido vainillínico, ácido protocatéquico, ácido sinápico, crisina, ácido elágico, quercetina, pinocembrina, ácido gálico, ácido clorogénico, galangina, kaempferol y apigenina. Las soluciones metanólicas de los estándares se prepararon en una concentración de 200 ppm y se filtraron utilizando un filtro de jeringa de 0,22 m antes de la inyección. La cuantificación de estos compuestos se realizó mediante la técnica de estándar externo. Para ello se determinó el área bajo cada pico identificado en el cromatograma, se la comparó con la del estándar correspondiente y conociendo la dilución realizada a la muestra se determinó la concentración de polifenoles del EEP expresada en mg por gramo de residuo seco usando la siguiente fórmula:

$$CF_{EEP} = \frac{A_m}{A_p} \times CE \times \frac{fd}{resinas}$$

Donde:

CF_{EEP} : concentración de polifenoles en mg/g de residuo seco del EEP.

CE: concentración del estándar en mg/mL de solución.

A_m : área del pico correspondiente a la muestra.

A_p : área del pico correspondiente al estándar.

fd: factor de dilución (250). resinas: gramos de resinas en 100 g de EEP sobre base seca.

6.1.2.8. Capacidad inhibitoria

La evaluación antimicrobiana se realizó empleando los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans* y *Aspergillus spp.* La suspensión de los microorganismos se realizó de la siguiente manera. Se tomó una ansada de las colonias a evaluar y se sumergió en caldo Mueller-Hinton (MH) para las



bacterias y caldo Sabouraud para levaduras y mohos. Las muestras se incubaron a 37 °C por 24 h para las bacterias y a 37 °C por 48 h para mohos y levaduras. Se estandarizó al tubo 0.5 de MacFarland: (1-2) x 10⁸ UFC/ML.

La microdilución en caldo se realizó mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración bactericida mínima (CBM) y la concentración fungicida mínima (CFM) utilizando la técnica de microdilución en caldo. Para lograr lo anterior, se realizaron diluciones seriadas entre el 10 al 0,25% del extracto en caldo MH, teniendo en cuenta que la mermelada se utiliza una concentración del 3%.

Como testigo positivo se empleó caldo MH con microorganismo y un testigo negativo con caldo MH sin el microorganismo. Para detectar la actividad respiratoria del microorganismo, se utilizó una solución al 0.08% de sal de tetrazolio oxidada (TTC) que genera un pigmento rojo (formazán) en presencia del microorganismo.

Este procedimiento se realizó de la siguiente manera: 50 µL de TTC se añadieron a cada pozo inoculado, se mezcló utilizando un agitador vortex y se incubó a 37 °C por 30 min.

Transcurrido este tiempo, se observó la formación de un precipitado de color rojo que representó crecimiento de microorganismos. Donde no existió desarrollo, la solución permaneció de color claro, indicando la CBM o CFM.

Para confirmar los resultados, se determinó si el efecto era bactericida o fungicida, al tomar una muestra del cultivo con un asa y sembrarla en una placa de agar MH que se mantuvo en incubación durante 37 °C por 24 h para las bacterias y por 48 h para el caso de la levadura.

Se consideró que el crecimiento en la placa era indicativo de un efecto bacteriostático o fungistático, en tanto que la ausencia del mismo correspondía a un efecto bactericida o fungicida. En los pozos donde hay microorganismos, se observa disminución en el color y la formación de un botón rojo en el fondo de la concavidad representando la CMI y, donde no hay desarrollo, la solución permanece de color amarillo y representa la CMB.

6.2. Resultados de los extractos de resina de propóleos a utilizarse como ingrediente biofuncional de la mermelada



6.2.1. Resultados de la optimización del proceso de obtención de los extractos de propóleo

Para la obtención de los extractos de propóleos, se aplicó un modelo de optimización según se indica en ítems 6.2.1. A continuación en la Tabla 11, muestra el diseño experimental completo realizado para optimizar las condiciones de extracción de compuestos funcionales del propóleos e investigar el efecto de las tres variables independientes sobre los valores de las respuestas estudiadas.

Tabla 11: Diseño de obtención de los diferentes EEP y respuestas obtenidas

| Bloque-Extracto | Temp, (°C) | Etanol (%) | Tiempo (min) | CA (mmol/100 ml) | CPT (mg EAG /100 ml) | ES (%) |
|-----------------|------------|------------|--------------|------------------|----------------------|-------------|
| B1-1 | 50 | 40 | 10 | 4,80±0,10b | 530,15±6,29b | 0,51±0,02n |
| B1-2 | 70 | 90 | 25 | 1,24±0,03l | 70,76±1,73o | 3,53±0,03d |
| B1-3 | 30 | 90 | 25 | 5,22±0,18a | 560,55±2,15a | 3,55±0,03d |
| B1-4 | 70 | 40 | 25 | 1,06±0,03m | 92,65±2,72m | 0,58±0,01e |
| B1-5 | 70 | 65 | 10 | 4,06±0,07e | 379,93±9,25hi | 2,18±0,03e |
| B1-6 | 50 | 90 | 10 | 4,93±0,07b | 428,93±16,70e | 3,81±0,01a |
| B1-7 | 30 | 40 | 25 | 0,50±0,01o | 46,37±1,67p | 0,21±0,01q |
| B1-8 | 30 | 65 | 40 | 3,47±0,03i | 334,87±8,74k | 1,69±0,01j |
| B1-9 | 30 | 65 | 10 | 3,63±0,11h i | 281,58±4,92 l | 1,53<0,01l |
| B1-10 | 50 | 40 | 40 | 1,03±0,05m | 82,71±1,21mno | 0,38±0,01p |
| B1-11 | 50 | 90 | 40 | 4,55±0,03c | 520,85±18,21b | 3,81±0,07a |
| B1-12 | 70 | 65 | 40 | 2,61±0,05k | 480,07±22,76d | 2,11±0,01f |
| B1-13 | 50 | 65 | 25 | 3,87±0,27fg | 370,63±6,07ij | 1,84±0,02hi |
| B1-14 | 50 | 65 | 25 | 3,83±0,06g | 385,12±3,79ghi | 1,52<0,01l |
| B1-15 | 50 | 65 | 25 | 2,72±0,10j k | 391,02±7,74gh | 1,90±0,04g |
| B2-1 | 50 | 40 | 10 | 5,25±0,05a | 499,39±33,52c | 0,43±0,01o |
| B2-2 | 70 | 90 | 25 | 1,25±0,03l | 85,82±0,46mno | 3,52±0,01d |
| B2-3 | 30 | 90 | 25 | 5,22±0,06a | 400,67±5,97fg | 3,62±0,02c |



| | | | | | | |
|-------|----|----|----|--------------|-----------------|-------------|
| B2-4 | 70 | 40 | 25 | 1,03±0,02m | 88,07±0,94mn | 0,44±0,01o |
| B2-5 | 70 | 65 | 10 | 4,61±0,06c | 374,57±0,62hij | 2,22±0,01e |
| B2-6 | 50 | 90 | 10 | 5,25±0,09a | 412,48±3,22ef | 3,75±0,01b |
| B2-7 | 30 | 40 | 25 | 0,48±0,01o | 33,85±0,66p | 0,16±0,01r |
| B2-8 | 30 | 65 | 40 | 3,91±0,15efg | 327,36±4,34k | 1,68±0,02j |
| B2-9 | 30 | 65 | 10 | 2,89±0,20j | 329,50±0,62k | 1,61±0,01k |
| B2-10 | 50 | 40 | 40 | 0,83±0,02n | 74,56±0,86no | 0,45±0,01o |
| B2-11 | 50 | 90 | 40 | 4,23±0,17d | 461,83±9,10d | 3,83±0,07a |
| B2-12 | 70 | 65 | 40 | 4,30±0,07d | 384,04±3,79ghi | 1,87±0,01gh |
| B2-13 | 50 | 65 | 25 | 4,05±0,18e | 475,42±5,91d | 1,82±0,08i |
| B2-14 | 50 | 65 | 25 | 3,74±0,10g h | 357,76±15,17j | 1,56±0,03kl |
| B2-15 | 50 | 65 | 25 | 4,02±0,07e f | 384,58±17,57ghi | 2,08±0,01f |

*Letras diferentes dentro de una misma columna, representan diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$). Fuente: Elaboración Propia.

En la Tabla 12, se presenta el análisis de varianza (ANOVA) del diseño de superficie de respuesta Box-Behnken de tres factores para el DOE, donde se entrega el valor P para cada factor. En ella se observa la significancia del modelo, la no significancia de la carencia de ajuste que indica un buen manejo, independencia y homogeneidad de las variables. También se aprecia que los R^2 presentan valores altos ($R^2 > 0,962$), por lo que los puntos se ajustan a las curvas modeladas.



Tabla 12: ANOVA de tres factores del modelo cuadrático

| Modelo Cuadrático | Valores de p | | |
|-------------------------------|--------------|--------|--------|
| | CA | CPT | ES |
| Modelo | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| A-Temp. | <0,001 | <0,001 | 0,016 |
| B-Etanol | <0,001 | <0,001 | <0,001 |
| C-Tiempo | <0,001 | <0,001 | 0,255* |
| AB | <0,001 | <0,001 | 0,063* |
| AC | <0,001 | <0,001 | 0,036 |
| BC | <0,001 | <0,001 | 0,620* |
| A² | <0,001 | <0,001 | 0,153* |
| B² | 0,151* | 0,018 | <0,001 |
| C² | 0,021 | 0,144* | 0,156* |
| Falta de ajuste | 0,164* | 0,326* | 0,080* |
| R² | 0,9664 | 0,9621 | 0,9922 |
| R² ajustado | 0,9496 | 0,9432 | 0,9884 |

*Valores de p mayores a 0.05 no son significativos. Fuente: Elaboración Propia.

Se observa que los tres factores influyen en las características funcionales en su forma lineal y en sus combinaciones, y solo la temperatura resulta significativa en su forma cuadrática. En cambio, para ES el tiempo no es significativo en su forma lineal, pero sí lo es cuando se combina con la temperatura.

El aumento de la concentración de etanol es el factor predominante en la extracción de los CPT y CA, sin embargo, se encuentra afectado por la temperatura. La Figura 17A y 18A, muestran que el aumento de temperatura favorece la extracción de los compuestos funcionales, sin embargo, se observa que a partir de una “temperatura límite” a partir de la cual se produce una disminución en los valores de CPT y CA. Esto probablemente debido al deterioro de los compuestos funcionales a elevadas temperaturas. Al analizar la relación entre el tiempo y la temperatura (ver Figura 17B y 18B), se aprecia que extracciones prolongadas favorecen levemente la extracción a bajas temperaturas, pero cuando aumenta influye de manera inversa, posiblemente al provocar el deterioro de los



compuestos polifenólicos. En cuanto a la relación del tiempo y el contenido de etanol, mostrada en la Figura 17C y 18C, se aprecia que a elevadas concentraciones de etanol el tiempo no parece tener mucha influencia, sin embargo, a bajas concentraciones los tiempos prolongados de tratamientos disminuyen los valores de CPT y la CA en los extractos.

A partir de las distintas relaciones observadas en el diseño, se realizó un ACP entre los factores y respuestas, (ver Figura 19). Los primeros dos componentes principales (CP) no alcanzaron a explicar más del 80% de la variación total, por este motivo fue necesario tomar un tercer componente. Contemplando los tres CP se logró explicar el 86,6% de la variación total entre las muestras. En función de estas tres componentes los extractos se pudieron diferenciar en tres grupos según su CPT y CA: Bajo – ovalo gris; Medio – ovalo azul y Alto – ovalo rojo. A su vez cada uno estaba conformado mayoritariamente por los extractos obtenidos con 40% 65% y 90% de etanol respectivamente.



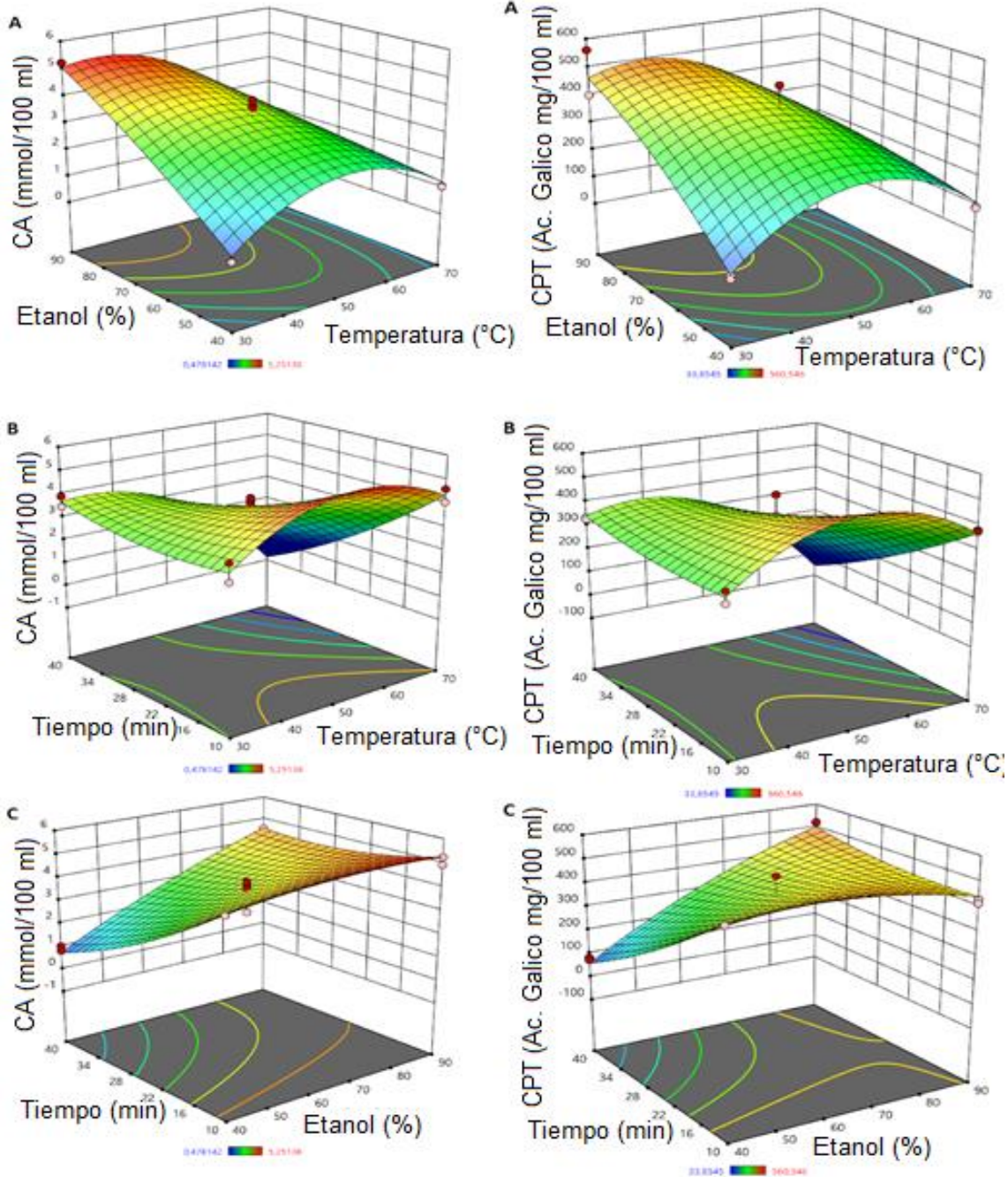


Figura 18: (A, B y C), Superficie de respuesta para los factores temperatura, etanol y tiempo, en relación a la CA.

Figura 17: (A, B y C), Superficie de respuesta para los factores temperatura, etanol y tiempo, en relación a la CPT.

Fuente: Elaboración Propia



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

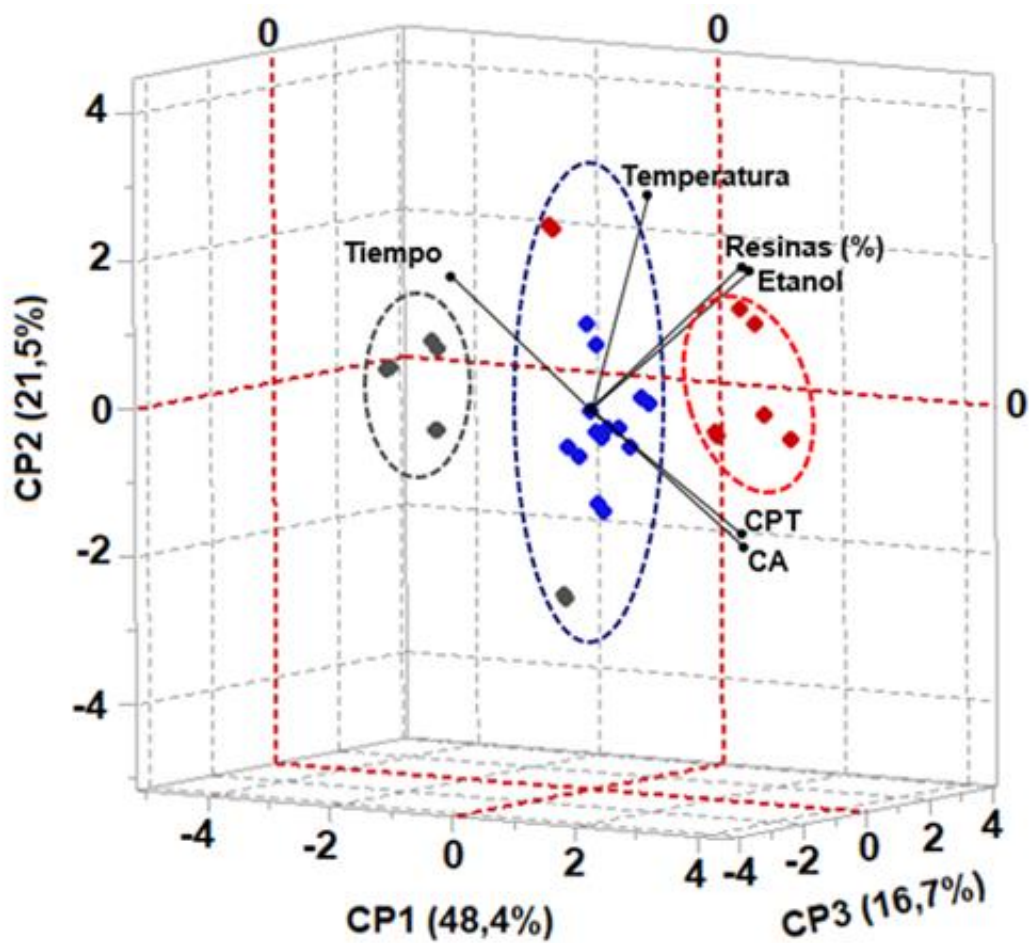


Figura 19: Variación de los factores y respuestas estudiadas mediante análisis de componentes principales, EEP extraídos con 40% (*), 65% (*) y 90% (*).

Fuente: Elaboración Propia.

No obstante, se aprecian dos pares de muestras que no cumplen con esta tendencia, alojándose en la zona media a pesar de ser de corresponder a otra según su contenido de etanol. Esto se podría explicar al tener en cuenta la influencia de la CP3, puesto que los EEP 11 extraídos con 90% de etanol y que se encuentran alojados en la zona media, presentaron tratamientos prolongados y a mayor temperatura, provocando posiblemente un deterioro en los compuestos funcionales. En cambio, en los extractos obtenidos con un 40% de etanol y alojados en esta zona, tuvieron tratamientos a bajas temperaturas y mayor tiempo.

Los modelos de factores y respuestas se sometieron a un proceso de optimización para predecir los valores de los factores que maximizaran la CA y el CPT manteniendo en rango el ES. Como resultado se obtuvo que las condiciones óptimas para la obtención de un EEP que maximice las características funcionales son: Solución de extracción que presente un 87% de Etanol, temperatura de 31°C, para evitar la degradación de los polifenoles y tiempo de 39 minutos para asegurar una saturación de la solución de extracción.

Los modelos de factores y respuestas se sometieron a un proceso de optimización para predecir los valores de los factores que maximizan la CA y los CPT manteniendo los valores estables del ES y de esta manera se obtuvieron las condiciones óptimas que fueron: Solución de extracción de etanol 87%, temperatura de 31°C, para evitar la degradación de los polifenoles y tiempo de 39 minutos para asegurar una saturación de la solución de extracción.

6.2.2. Elección de los polvos obtenidos para su aplicación como ingrediente en la formulación de la confitura

En cuanto a la sacarosa, no formó parte de la elección, a pesar de que representa una buena alternativa. El motivo de esta decisión radica en que, uno de los objetivos principales del trabajo, fue desarrollar un alimento sin azúcares simples agregados, aunque dicha decisión fue tomada posterior al desarrollo del diseño, debido a que se consideró el efecto de los endulzantes no calóricos, respecto a las características de dulzor en el producto terminado.

En cuanto a la gelatina, tampoco fue elegida como soporte, debido a que producía una gelificación excesiva del producto final, no cumpliendo con una de las características básicas de las mermeladas como la untuosidad, por tal motivo se omitió su agregado.

La maltodextrina presentó dificultades en el proceso de eliminación del contenido de alcohol y retención de la resina. Cuando se agregaba el EEP a la misma, se producía una aglomeración del sólido que no favorecía la retención de la resina y parte de la misma quedaba en las paredes del recipiente, no así en la matriz.



En relación al Carbonato de Calcio, es importante resaltar que resultó el soporte más adecuado para el extracto de propóleos destinado a incorporar al producto final. Esto se debe a que el carbonato, como matriz, permitió una adecuada retención de la resina de propóleos y mantuvo las características esperadas, en este caso en forma de polvo, utilizado como ingrediente en la formulación de la mermelada. Además, el proceso de obtención no requiere de múltiples etapas o la utilización de equipos complejos, lo que resultaría ventajoso a la hora de ampliar la producción en caso de transferirlo a procesos de mayor escala.

6.2.3. Resultados de la caracterización fisicoquímica, funcional e inhibitoria del propóleos encapsulado

Una vez definido el carbonato de calcio como soporte adecuado de la resina de propóleos, (ver Figura 20 y 21), para utilizarlo como ingrediente, se procedió a efectuar la caracterización fisicoquímica y funcional del mismo. En la Tabla 13, se muestran las diferencias en las características fisicoquímicas y funcionales entre el carbonato de calcio y la mezcla de Carbonato de calcio y resina de propóleos.

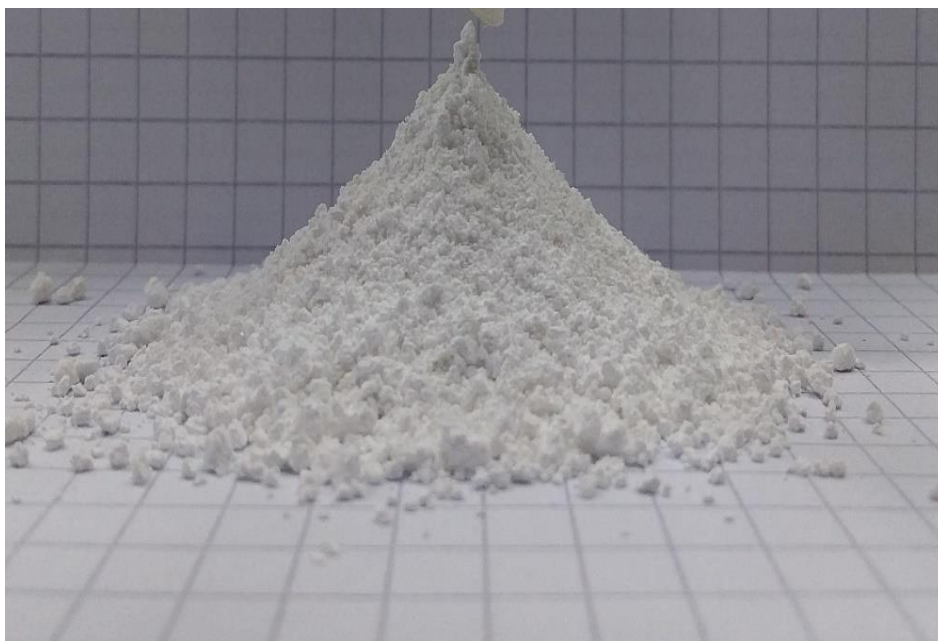


Figura 20: Carbonato de calcio utilizado como soporte de la resina.

Fuente: Elaboración Propia.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar



Figura 21: Polvo resultante de la mezcla de Carbonato de calcio y propóleos.

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 13: Diferencias en las características fisicoquímicas y funcionales entre el carbonato de calcio y mezcla de carbonato de Ca + resina de propóleos.

| Características | | CaCO ₃ | CaCO ₃ +Resina |
|------------------------|----|---------------------------|------------------------------------|
| Actividad de agua | | 0,433±0,015 ^a | 0,491±0,002b |
| Húmedas | | 0,58±0,02 ^a | 0,81±0,03b |
| Color | L | 83,50 ± 0,41 ^a | 61.92±0,23b |
| | a* | -0.68±0,04 ^a | -1.21±0,05b |
| | b* | 4.64±0,41 ^a | 28.46±034b |
| Ángulo de reposo | | 35,6±0,77 ^a | 32,2±0,36b |
| Fluidez | | 5,84±0,07 ^a | 4,31±0,05b |
| Cohesividad | | 1,06<0,01 ^a | 1,05<0,01 ^a |
| Capacidad antioxidante | | *** | 16,03+-0,31 mmol eq de trolox/100g |

Fuente: Elaboración Propia.

La inclusión de resina provocó cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas del carbonato de calcio en polvo. Los parámetros de color reflejaron una variación en el tono de blanco-grisáceo a tonos más amarillo-verdoso, con una disminución de la luminosidad. La humedad y la actividad de agua aumentaron con la adición de la resina, lo que puede ser atribuido a las dificultades en la eliminación del agua durante el proceso de secado, debido a la presencia de la resina. Sin embargo, estas variaciones no parecen influir en las características esperadas para el polvo. La fluidez, el ángulo de reposo y la cohesividad, mostraron diferencias, pero ambos mantuvieron las características esperadas para un polvo, según lo establecido en la USP 37, con una fluidez excelente y una cohesividad adecuada. Además, la inclusión de resina contribuyó a mejorar la capacidad antioxidante, ya que el carbonato de calcio por sí solo, no posee dicha capacidad.

Como complemento a esta caracterización, se realizó un análisis de perfil de compuestos polifenólicos presentes en el polvo obtenido. En la Figura 22, se puede observar el graficado de las concentraciones de los polifenoles detectados por análisis Cromatográfico (HPLC), descrito en el punto 6.3.2.7., y en la Figura 23, se muestra un cromatograma del perfil de polifenoles presentes en la muestra de polvo, donde se puede observar la identificación de 8 polifenoles.

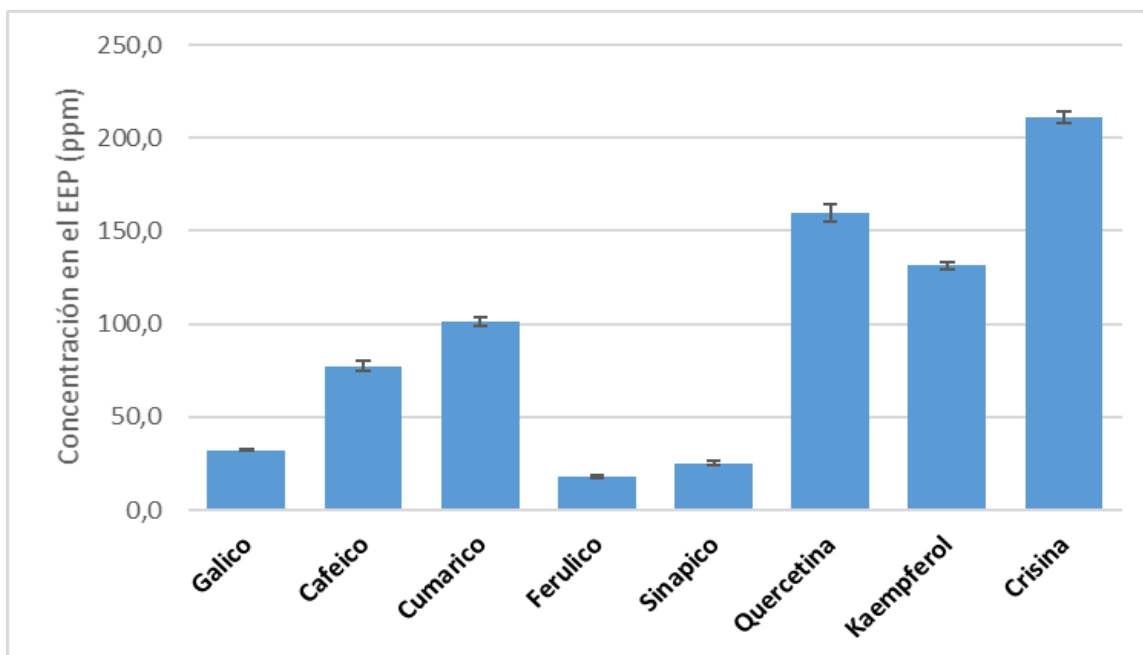


Figura 22: Concentración de polifenoles determinados por HPLC.

Fuente: Elaboración Propia.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

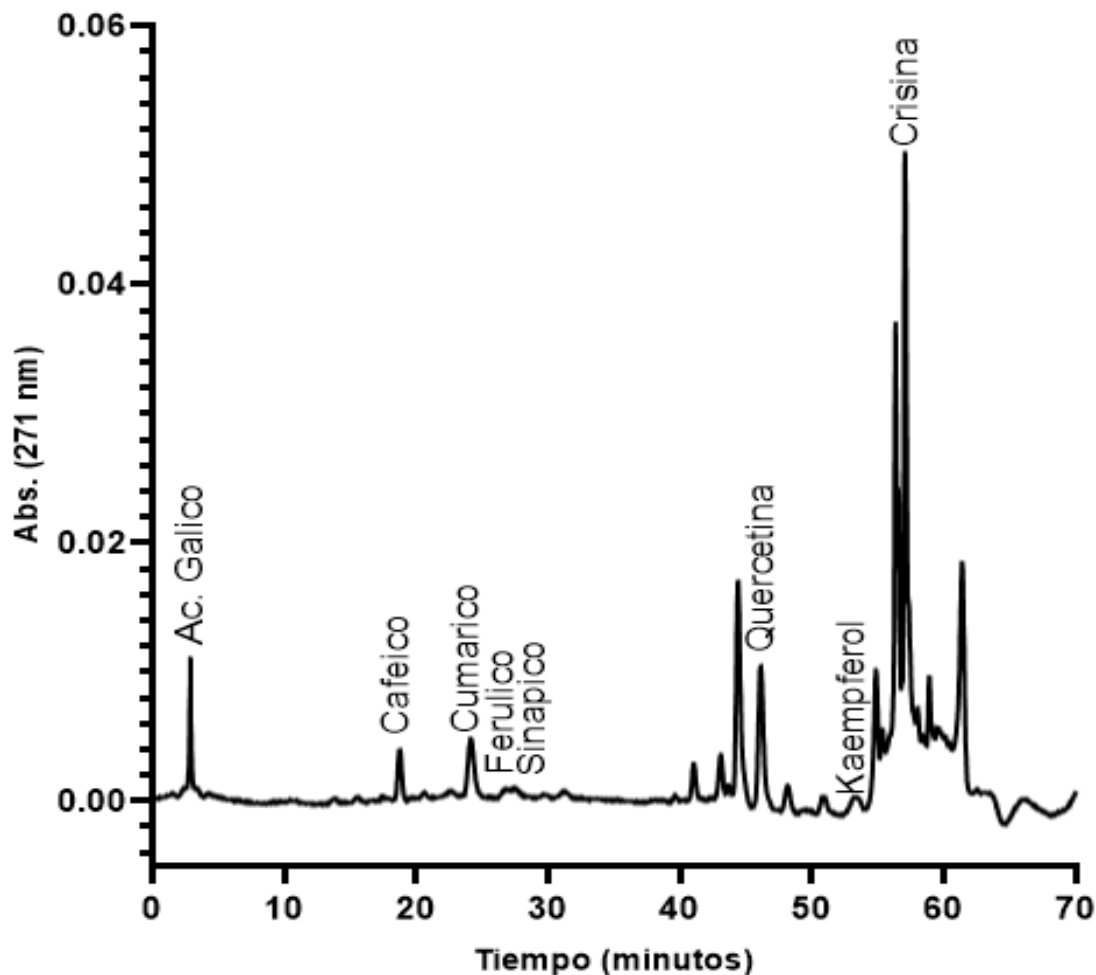


Figura 23: Cromatograma del perfil de polifenoles en la muestra de polvo.

Fuente: Elaboración Propia.

Estos compuestos son ácido gálico, cafeico, cumárico, ferúlico y sinápico, pertenecientes a la subclase de los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Además, se encontraron dos flavonoides, quercetina y kaempferol, pertenecientes a la subclase de las flavonas, y crisina, un flavonoide que pertenece a la subclase de los flavonoides flavononas.

De los compuestos identificados, se determinó la presencia de tres en mayor concentración, quercetina, crisina y kaempferol, las cuales poseen características funcionales y beneficios para la salud. En particular, se ha demostrado que estos

flavonoides tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y cardiovasculares, además de propiedades neuroprotectoras y anticancerígenas.

La quercetina, puede actuar en la reducción de los niveles de colesterol LDL, mejorar la salud cardiovascular, reducir la presión arterial y mejorar la función endotelial, además de tener propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. (Urbina Herrera, 2021).

Urbina Herrera, F. N. (2021). Efecto protector de principios bioactivos presentes en legumbres sobre la disfunción endotelial (Doctoral dissertation, Universidad de Talca (Chile). Escuela de Tecnología Médica.).

La crisina, por otro lado, puede ayudar a reducir la inflamación y el dolor en el cuerpo, mejorar la salud cardiovascular, tener propiedades anticancerígenas y mejorar la salud del cerebro. Por último, el kaempferol también tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, mejora la salud cardiovascular y tiene propiedades anticancerígenas y neuroprotectoras.

Respecto a la capacidad inhibitoria, se observó que la muestra de extracto de propóleos presentó actividad antimicrobiana bactericida frente a *Enterococcus faecium*, *Candida albicans* y *Aspergillus spp.*; en todas las concentraciones evaluadas; no así frente a *Escherichia coli*, en cuyas diluciones de extracto se observó desarrollo.

CAPÍTULO II. OBTENCIÓN DE MERMELADAS DE FRUTAS Y HORTALIZAS REDUCIDAS EN CALORÍAS

En este capítulo se presenta el diseño experimental de mezclas empleado para la obtención de mermeladas de frutas y hortalizas reducidas en calorías, que permitirá establecer los límites y las concentraciones extremas de los gelificantes utilizados, así como también la obtención de formulaciones ideales a partir del análisis sensorial.



6.3. Formulación de mermeladas y optimización del proceso de elaboración

6.3.1. Proceso de elaboración general de las mermeladas

La metodología empleada para la preparación de mermelada se ha dividido en seis etapas:

1. Primera etapa, se lleva a cabo el pesaje de los ingredientes sólidos, tales como maltodextrina, isomalta, stevia, sucralosa, pectina, agar agar y ácido cítrico, para luego son mezclados adecuadamente.
2. Segunda etapa, se procede a la preparación de la fruta, que en este caso incluye zanahorias y ciruelas, que se procesan y mezclan en una olla para iniciar la cocción.
3. Tercera etapa, se añade la mezcla de ingredientes sólidos previamente mezclados en pequeñas porciones a la mezcla de zanahoria y ciruela, mientras se agita en forma constante para evitar la formación de grumos. Una vez que los sólidos se disuelven, se continúa calentando la mezcla hasta los 80°C aproximadamente.
4. Cuarta etapa, se mantiene la mezcla a una temperatura de 80°C durante 30 minutos para asegurar la cocción y ablandamiento de las frutas y la eliminación de los microorganismos patógenos y responsables del deterioro del producto.
5. Quinta etapa, una vez transcurrido el tiempo de cocción, se retira la olla del fuego, se agrega el extracto de propóleos en polvo y se agita hasta completa homogeneización.
6. Sexta etapa, la mezcla caliente se envasa en frascos de vidrios previamente esterilizados por inmersión en agua hirviendo, se tapan y se almacenan refrigerados hasta su utilización.

La metodología presentada para la preparación de mermelada tiene en cuenta las etapas críticas del proceso, desde la selección de ingredientes y su preparación hasta la esterilización y almacenamiento del producto final. En la Figura 24, se muestra un diagrama del proceso general para elaboración de mermeladas.



6.3.2. Flujograma del proceso de elaboración

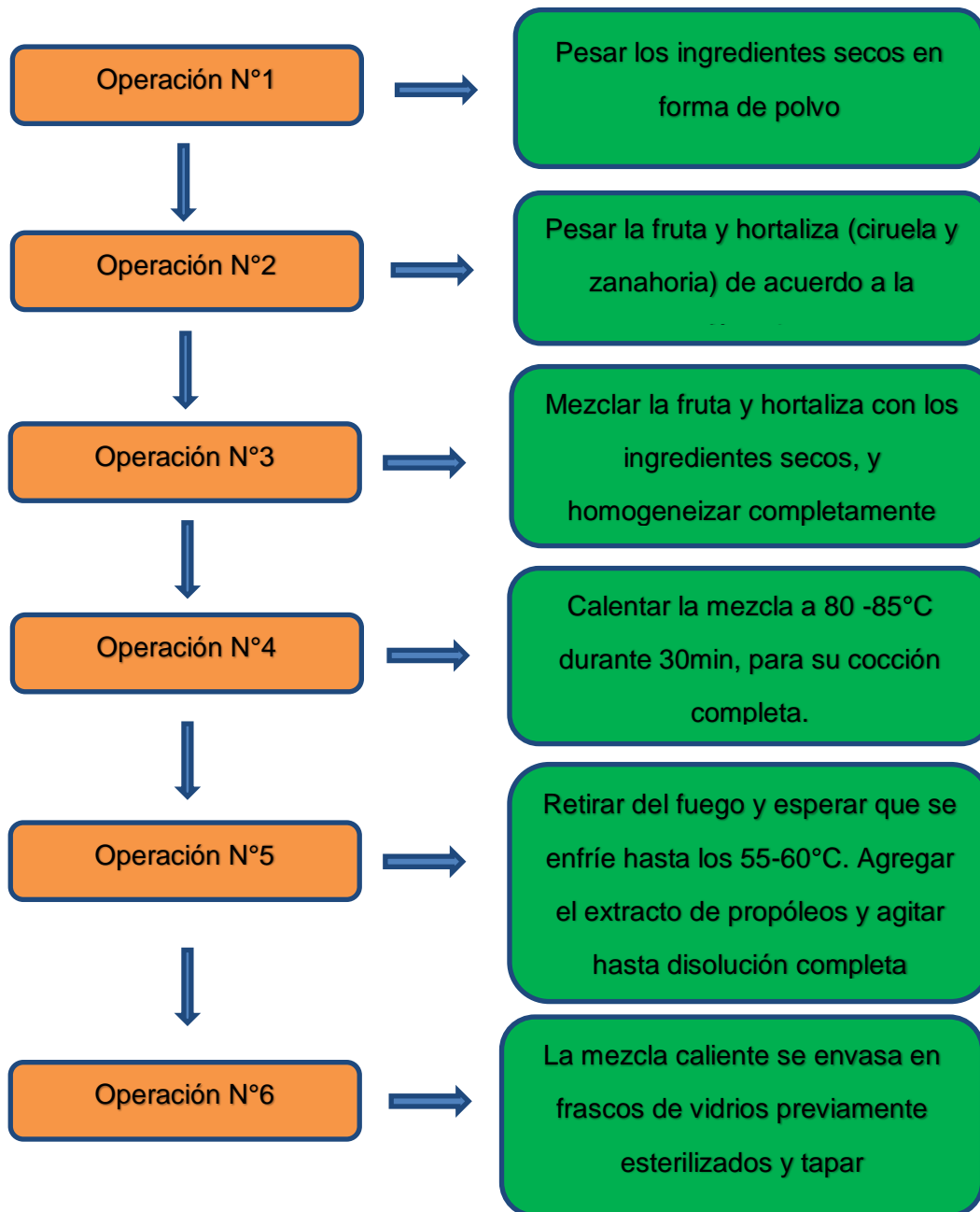


Figura 24: Diagrama del proceso general para elaboración de mermeladas.

Fuente: Elaboración Propia.

6.3.3. Determinación de los límites de gelificantes utilizados

Para la determinación de los límites de gelificantes en el producto desarrollado, nos basamos en los porcentajes teóricos encontrados en las bibliografías, en las sugerencias aportadas por los proveedores de insumos y en las experiencias de los productores locales, quienes utilizan normalmente estos tipos de gelificantes en sus productos elaborados.

Para ello, se han realizado pruebas con diferentes proporciones de estos gelificantes hasta encontrar el punto óptimo buscado en la formación del gel.

Para los casos de la pectina y agar-agar, los porcentajes se establecieron en 0,22 y 0,17 respectivamente.

6.4. Obtención de mermeladas a partir del diseño de mezclas

6.4.1. Diseño experimental de mezclas

El modelo de mezcla se realizó aplicando un diseño experimental de mezcla D-óptima de cuatro factores y cuatro respuestas (Design Expert 11.0). Los cuatro factores elegidos fueron los ingredientes responsables de las características texturales del producto "Tipo mermelada": Pectina (0,13 – 0,37 %), Agar-agar (0,13 – 37 %), Isomalta (8,00 - 24,47 %) y Maltodextrina (8,00 – 24,47 %), el porcentaje representa la cantidad que se debe usar en la preparación de cada muestra; y los cuatro parámetros de respuesta fueron: Textura, Untuosidad, Dulzor y aceptabilidad sensorial global.

El diseño de la mezcla completa, está constituido por veintidós puntos experimentales incluyendo tres réplicas del punto central. Luego, para la obtención de las formulaciones óptimas se usó el modelo de mezcla dando prioridad a las características fisicoquímicas (polvo fisicoquímico óptimo-OPCP), en segundo lugar, se dio prioridad a la aceptabilidad sensorial de los consumidores (polvo sensorial óptimo-OSP) y por último, se priorizó intermedio entre ambos tipos de características (óptimo combinado polvo-OCP). Entre las posibles respuestas del modelo a los criterios (ver Tabla 14), se eligieron tres puntos para evaluar experimentalmente la predicción del modelo y confirmar las características óptimas de los polvos.



Tabla 14: Criterios del diseño de experimentos para la obtención de las mermeladas de zanahoria y durazno (MZD), Mermelada de zanahoria y ciruela (MZC). Los signos (+) muestran cuánta consideración se asignó a los diferentes parámetros.

| Formulaciones | MZD | | MZC | |
|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Objetivo | Importancia | Objetivo | Importancia |
| Pectina | En el rango | – | En el rango | – |
| Agar-agar | En el rango | – | En el rango | – |
| Isomalta | En el rango | – | En el rango | – |
| Maltodextrina | En el rango | – | En el rango | – |
| Textura | En el rango | – | En el rango | – |
| Untuosidad | Minimizar | +++ | Minimizar | +++ |
| Dulzor | Maximizar | +++ | Maximizar | +++ |
| Aceptabilidad global | Maximizar | +++++ | Maximizar | +++++ |

Fuente: Elaboración Propia.

6.4.2. Análisis sensorial de los atributos respuestas

Para llevar a cabo la elección de la formulación final, se tuvieron en cuenta las características sensoriales de las diferentes mermeladas.

- **Panel interno**

Los diferentes prototipos de “mermeladas” fueron evaluados por un panel sensorial interno compuesto por 16 evaluadores no entrenados, con el objetivo de encontrar formulaciones sensorialmente aceptadas (Watts y col., 1992). Para la valoración de las variables respuesta del diseño de las mermeladas por parte del panel interno se utilizó una escala hedónica de 5 puntos: 1) Me disgusta; 2) Me disgusta un poco; 3) Ni me gusta ni me disgusta; 4) Me gusta ligeramente; 5) Me gusta. A cada punto de la escala se le



asignó un “puntaje” los cuales fueron promediados en cada atributo, el valor resultante represento la “puntaje” de la mezcla y evaluada.

6.4.3. Proceso de elaboración general de las mermeladas

La metodología empleada para la preparación de mermelada se ha dividido en seis etapas:

1. Primera etapa: se lleva a cabo el pesaje de los ingredientes sólidos, tales como maltodextrina, isomalta, stevia, sucralosa, pectina, agar agar y ácido cítrico, para luego son mezclados adecuadamente.
2. Segunda etapa: se procede a la preparación de la fruta, que en este caso incluye zanahorias y ciruelas, que se procesan y mezclan en una olla para iniciar la cocción.
3. Tercera etapa: se añade la mezcla de ingredientes sólidos previamente mezclados en pequeñas porciones a la mezcla de zanahoria y ciruela, mientras se agita en forma constante para evitar la formación de grumos. Una vez que los sólidos se disuelven, se continúa calentando la mezcla hasta los 80°C aproximadamente.
4. Cuarta etapa: se mantiene la mezcla a una temperatura de 80°C durante 30 minutos para asegurar la cocción y ablandamiento de las frutas y la eliminación de los microorganismos patógenos y responsables del deterioro del producto.
5. Quinta etapa: una vez transcurrido el tiempo de cocción, se retira la olla del fuego, se agrega el extracto de propóleos en polvo y se agita hasta completa homogeneización.
6. Sexta etapa: la mezcla caliente se envasa en frascos de vidrios previamente esterilizados por inmersión en agua hirviendo, se tapan y se almacenan refrigerados hasta su utilización.

La metodología presentada para la preparación de mermelada tiene en cuenta las etapas críticas del proceso, desde la selección de ingredientes y su preparación hasta la esterilización y almacenamiento del producto final.



A continuación, en la Figura 25 se observan las fotos donde se evidencia el avance del proceso de obtención de la mermelada con propóleos.



Figura 25: Fotos del avance de obtención de mermelada con propóleos.

Fuente: Elaboración Propia.

6.4.4. Determinación de las concentraciones extremas de los “gelificantes”

Para la determinación de los límites de gelificantes utilizados en este desarrollo, nos basamos en los porcentajes teóricos encontrados en las bibliografías, en las fichas técnicas aportadas por los proveedores de insumos y en las experiencias de los productores locales, quienes utilizan estos tipos de gelificantes en sus productos elaborados.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

Para ello, se han realizado pruebas con diferentes proporciones de estos gelificantes hasta encontrar el punto óptimo de formación del gel en el producto terminado.

Cabe destacar que en las mermeladas tradicionales el porcentaje de pectinas agregadas es hasta un 2,0% aproximadamente, según el contenido de pectinas de las frutas u hortalizas utilizadas, y en el caso del agar, el porcentaje puede variar entre el 0,1 y el 0,5%.

A raíz de lo dicho anteriormente, para este trabajo se determinó que los rangos de concentraciones estuvieran entre el 0,13 a 0,37% para ambos gelificantes.

6.5. Resultados del diseño y de análisis sensorial de las mermeladas reducida en calorías

6.5.1. Obtención de las formulaciones ideales mediante diseño experimental

El modelo de mezcla se realizó aplicando un diseño experimental de mezcla D-óptima de cuatro factores y cuatro respuestas (*Design Expert 11.0*). Los cuatro factores elegidos fueron los ingredientes responsables de las características texturales del producto "Tipo mermelada": Pectina (0,13 – 0,37 %), Agar-agar (0,13 – 37 %), Isomalta (8,00 - 24,47 %) y Maltodextrina (8,00 – 24,47 %), el porcentaje representa la cantidad que se debe usar en la preparación de cada muestra; y los cuatro parámetros de respuesta fueron: Textura, Untuosidad, Dulzor y aceptabilidad sensorial global.

El diseño de la mezcla completa consta de veintidós (22) puntos experimentales que incluían tres réplicas del punto central, cada uno de estos con sus respectivas respuestas. En las Tablas 15 y Tabla 16, se observan las formulaciones elaboradas con zanahoria y durazno (MZD) y las de zanahoria y ciruela (MZC) respectivamente. Los valores respuestas fueron determinados con un panel interno mediante la técnica descrita en el ítem 6.6.2.



Tabla 15: Contenido de los ingredientes elegidos para el diseño de las mezclas de MZD y datos de los parámetros sensoriales tomados como respuesta.

| MZD | Pectina | Agar-agar | Isomalta | Maltodextrina | Textura | Untuosidad | Dulzor | Satisfacción global |
|-----|---------|-----------|----------|---------------|---------|------------|--------|---------------------|
| 1 | 0,25 | 0,37 | 18,89 | 13,45 | 3,71 | 3,57 | 3,71 | 3,86 |
| 2 | 0,22 | 0,18 | 8,39 | 24,17 | 4,13 | 4,00 | 4,19 | 4,19 |
| 3 | 0,13 | 0,13 | 20,97 | 11,74 | 3,06 | 3,69 | 3,00 | 3,31 |
| 4 | 0,37 | 0,37 | 8,05 | 24,17 | 3,44 | 3,44 | 2,56 | 2,56 |
| 5 | 0,13 | 0,26 | 24,40 | 8,18 | 3,38 | 3,75 | 3,75 | 3,75 |
| 6 | 0,24 | 0,37 | 10,85 | 21,50 | 2,14 | 2,29 | 2,64 | 2,14 |
| 7 | 0,37 | 0,37 | 24,05 | 8,18 | 3,64 | 3,57 | 3,64 | 3,62 |
| 8 | 0,13 | 0,37 | 8,63 | 23,84 | 2,13 | 2,81 | 2,06 | 2,13 |
| 9 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 3,88 | 3,63 | 4,31 | 3,81 |
| 10 | 0,13 | 0,13 | 22,65 | 10,07 | 3,64 | 3,71 | 3,50 | 3,46 |
| 11 | 0,31 | 0,13 | 24,36 | 8,18 | 3,21 | 3,07 | 3,36 | 3,43 |
| 12 | 0,37 | 0,22 | 18,14 | 14,23 | 3,50 | 3,69 | 4,25 | 3,94 |
| 13 | 0,13 | 0,13 | 12,67 | 20,05 | 3,50 | 4,29 | 3,14 | 3,08 |
| 14 | 0,31 | 0,13 | 24,36 | 8,18 | 3,57 | 3,57 | 3,36 | 3,43 |
| 15 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 2,86 | 2,93 | 2,71 | 2,64 |
| 16 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 2,69 | 3,38 | 2,81 | 2,50 |
| 17 | 0,25 | 0,37 | 18,89 | 13,45 | 3,21 | 3,64 | 3,93 | 3,38 |
| 18 | 0,13 | 0,26 | 24,40 | 8,18 | 3,38 | 3,75 | 4,06 | 3,69 |
| 19 | 0,13 | 0,13 | 15,91 | 16,81 | 3,53 | 3,53 | 3,20 | 3,60 |
| 20 | 0,22 | 0,18 | 8,39 | 24,17 | 3,31 | 3,44 | 2,94 | 3,31 |
| 21 | 0,37 | 0,29 | 14,08 | 18,22 | 3,86 | 3,43 | 2,93 | 3,93 |
| 22 | 0,37 | 0,13 | 9,29 | 23,18 | 3,29 | 4,07 | 3,36 | 3,31 |

Fuente: Elaboración Propia.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

Tabla 16: Contenido de los ingredientes elegidos para el diseño de las mezclas de MZC y datos de los parámetros sensoriales tomados como respuesta.

| MZC | Pectina | Agar-agar | Isomalta | Maltodextrina | Textura | Untuosidad | Dulzor | Satisfacción global |
|-----|---------|-----------|----------|---------------|---------|------------|--------|---------------------|
| 1 | 0,25 | 0,37 | 18,89 | 13,45 | 3,44 | 3,56 | 3,67 | 3,67 |
| 2 | 0,22 | 0,18 | 8,39 | 24,17 | 3,60 | 4,50 | 4,10 | 4,10 |
| 3 | 0,13 | 0,13 | 20,97 | 11,74 | 3,11 | 3,11 | 3,33 | 3,44 |
| 4 | 0,37 | 0,37 | 8,05 | 24,17 | 2,90 | 3,60 | 2,70 | 3,10 |
| 5 | 0,13 | 0,26 | 24,40 | 8,18 | 3,80 | 4,50 | 3,70 | 3,90 |
| 6 | 0,24 | 0,37 | 10,85 | 21,50 | 4,33 | 4,56 | 3,89 | 4,11 |
| 7 | 0,37 | 0,37 | 24,05 | 8,18 | 3,30 | 3,60 | 3,80 | 3,20 |
| 8 | 0,13 | 0,37 | 8,63 | 23,84 | 3,00 | 3,90 | 2,90 | 3,80 |
| 9 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 4,11 | 4,44 | 4,44 | 4,33 |
| 10 | 0,13 | 0,13 | 22,65 | 10,07 | 2,40 | 2,70 | 3,60 | 2,50 |
| 11 | 0,31 | 0,13 | 24,36 | 8,18 | 3,40 | 4,40 | 3,30 | 3,40 |
| 12 | 0,37 | 0,22 | 18,14 | 14,23 | 3,10 | 3,90 | 3,20 | 3,30 |
| 13 | 0,13 | 0,13 | 12,67 | 20,05 | 4,50 | 4,90 | 4,30 | 4,20 |
| 14 | 0,31 | 0,13 | 24,36 | 8,18 | 3,72 | 3,83 | 3,74 | 3,85 |
| 15 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 3,70 | 3,90 | 3,60 | 3,90 |
| 16 | 0,25 | 0,25 | 16,30 | 16,17 | 4,20 | 4,70 | 4,20 | 4,30 |
| 17 | 0,25 | 0,37 | 18,89 | 13,45 | 3,50 | 3,60 | 4,40 | 3,80 |
| 18 | 0,13 | 0,26 | 24,40 | 8,18 | 2,78 | 2,67 | 3,33 | 3,11 |
| 19 | 0,13 | 0,13 | 15,91 | 16,81 | 4,20 | 3,50 | 3,00 | 4,20 |
| 20 | 0,22 | 0,18 | 8,39 | 24,17 | 4,20 | 4,70 | 4,20 | 4,30 |
| 21 | 0,37 | 0,29 | 14,08 | 18,22 | 3,90 | 3,80 | 3,80 | 3,90 |
| 22 | 0,37 | 0,13 | 9,29 | 23,18 | 3,05 | 4,10 | 3,10 | 3,20 |

Fuente: Elaboración Propia.



Universidad ISALUD

Venezuela 925/31 - C1095AAS - Bs. As. Argentina - Tel +54 11 5239-4000

web: www.isalud.edu.ar - mail: informes@isalud.edu.ar

6.5.2. Ajuste para el mejor modelo

El mejor modelo se ajustó según una desviación estándar baja y un r^2 alto (0,84-0,97). Los valores de p del modelo aceptable fueron inferiores a 0,1, mientras que los valores de p de falta de ajuste fueron superiores a 0,05. Siguiendo estas pautas para la higroscopicidad y la cohesión, el modelo Cubic fue el que mejor se adaptó. Mientras que la solubilidad y la aceptabilidad global se ajustaron mejor con *sp*. Modelos cuárticos vs cuadráticos. Los resultados de ANOVA obtenidos se muestran en la Tabla 17 y 18.

Tabla 17: ANOVA de los modelados para la formulación de zanahoria y durazno. Pectina (A), Agar-agar (B), Isomalta (C) y Maltodextrina (D).

| MZD | Textura | | Untuosidad | | Dulzor | | Agrado | |
|----------------------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|
| ANOVA | Special Cubic | | Special Cubic | | Special Cubic | | Special Cubic | |
| Fuente | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p |
| Modelo | 0,48 | 0,2946 | 3,33 | 0,0470* | 1.23 | 0.3938 | 1.32 | 0.3568 |
| Mezcla lineal | 1,87 | 0,2136 | 3,66 | 0,0631 | 1.79 | 0.2269 | 2.14 | 0.1728 |
| AB | 1,81 | 0,2150 | 7,25 | 0,0274* | 0.7208 | 0.4206 | 0.5718 | 0.4712 |
| AC | 1,35 | 0,2783 | 6,18 | 0,0378* | 1.20 | 0.3057 | 0.4862 | 0.5054 |
| AD | 1,35 | 0,2786 | 6,17 | 0,0379* | 1.20 | 0.3059 | 0.4852 | 0.5058 |
| BC | 0,8727 | 0,3775 | 5,85 | 0,0419* | 1.86 | 0.2098 | 0.5031 | 0.4983 |
| BD | 0,8804 | 0,3756 | 5,89 | 0,0414* | 1.87 | 0.2085 | 0.5088 | 0.4959 |
| CD | 3,43 | 0,1014 | 2,76 | 0,1352 | 0.9936 | 0.3481 | 3.87 | 0.0846 |
| ABC | 1,81 | 0,2150 | 7,27 | 0,0272* | 0.7219 | 0.4202 | 0.5725 | 0.4710 |
| ABD | 1,81 | 0,2153 | 7,26 | 0,0273* | 0.7186 | 0.4212 | 0.5710 | 0.4715 |
| ACD | 1,49 | 0,2577 | 6,73 | 0,0319* | 1.41 | 0.2693 | 0.6908 | 0.4300 |
| BCD | 0,7003 | 0,4270 | 5,09 | 0,0541 | 1.66 | 0.2339 | 0.3089 | 0.5935 |
| Lack of Fit | 0,4882 | 0,6361 | 0,4716 | 0,6453 | 0.1206 | 0.8885 | 1.45 | 0.3061 |
| R² | 0,7063 | | 0,8442 | | 0,6673 | | 0,6816 | |

El valor f del modelo de 1,48 implica que el modelo no es significativo en relación con el ruido. Esta es una probabilidad del 29,46 % de que se produzca un valor f tan grande debido al ruido

* Valores que presentan influencia significativa ($p < 0.05$) en el modelado. Fuente: Elaboración Propia.



Tabla 18: ANOVA de los modelados para la formulación de Zanahoria y ciruela. Pectina (A), Agar-agar (B), Isomalta (C) y Maltodextrina (D).

| MZC | Textura | | Untuosidad | | Dulzor | | Agrado | |
|----------------------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|---------------|---------|
| ANOVA | Special Cubic | | Lineal | | Quadratic | | Quadratic | |
| Fuente | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p | Valor F | Valor p |
| Modelo | 3.31 | 0.0597 | 1.85 | 0.1769 | 1.96 | 0.1449 | 2.23 | 0.1046 |
| Mezcla lineal | 2.46 | 0.1476 | 1.85 | 0.1769 | 0.0369 | 0.9900 | 2.51 | 0.1129 |
| AB | 8.24 | 0.0247* | ----- | ----- | 1.44 | 0.2551 | 0.2227 | 0.6462 |
| AC | 7.67 | 0.0277* | ----- | ----- | 6.30 | 0.0290* | 1.69 | 0.2207 |
| AD | 7.71 | 0.0274* | ----- | ----- | 6.33 | 0.0286* | 1.67 | 0.2224 |
| BC | 10.31 | 0.0148* | ----- | ----- | 0.2561 | 0.6228 | 0.2382 | 0.6351 |
| BD | 10.27 | 0.0150* | ----- | ----- | 0.2409 | 0.6332 | 0.2382 | 0.6422 |
| CD | 1.00 | 0.3501 | ----- | ----- | 0.0041 | 0.9504 | 0.9350 | 0.3543 |
| ABC | 8.26 | 0.0238* | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| ABD | 8.30 | 0.0236* | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| ACD | 7.55 | 0.0286* | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| BCD | 8.09 | 0.0249* | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Lack of Fit | 0.0474 | 0.8348 | 0.9741 | 0.5426 | 1.58 | 0.2943 | 2.46 | 0.1515 |
| R² | 0.8599 | | 0.2459 | | 0.6163 | | 0.6465 | |

El valor f del modelo de 1,48 implica que el modelo no es significativo en relación con el ruido. Esta es una probabilidad del 29,46 % de que se produzca un valor f tan grande debido al ruido

* Valores que presentan influencia significativa ($p < 0.05$) en el modelado. Fuente: Elaboración Propia.

De los resultados obtenidos se obtuvieron graficas que muestran como varia la aceptación del producto en función de la modificación de las proporciones de las variables de estudio. En la Figura 26, se puede observar que todas las variables de las mezclas influyeron de manera similar en las cuatro respuestas estudiadas. Se observa también que la aceptabilidad de cada uno de los parámetros sensoriales aumenta (representados por tonos rojos) a medida que se incrementa el contenido de isomalta y se disminuye el de agar-agar, para un valor constante de maltodextrina (0,37).



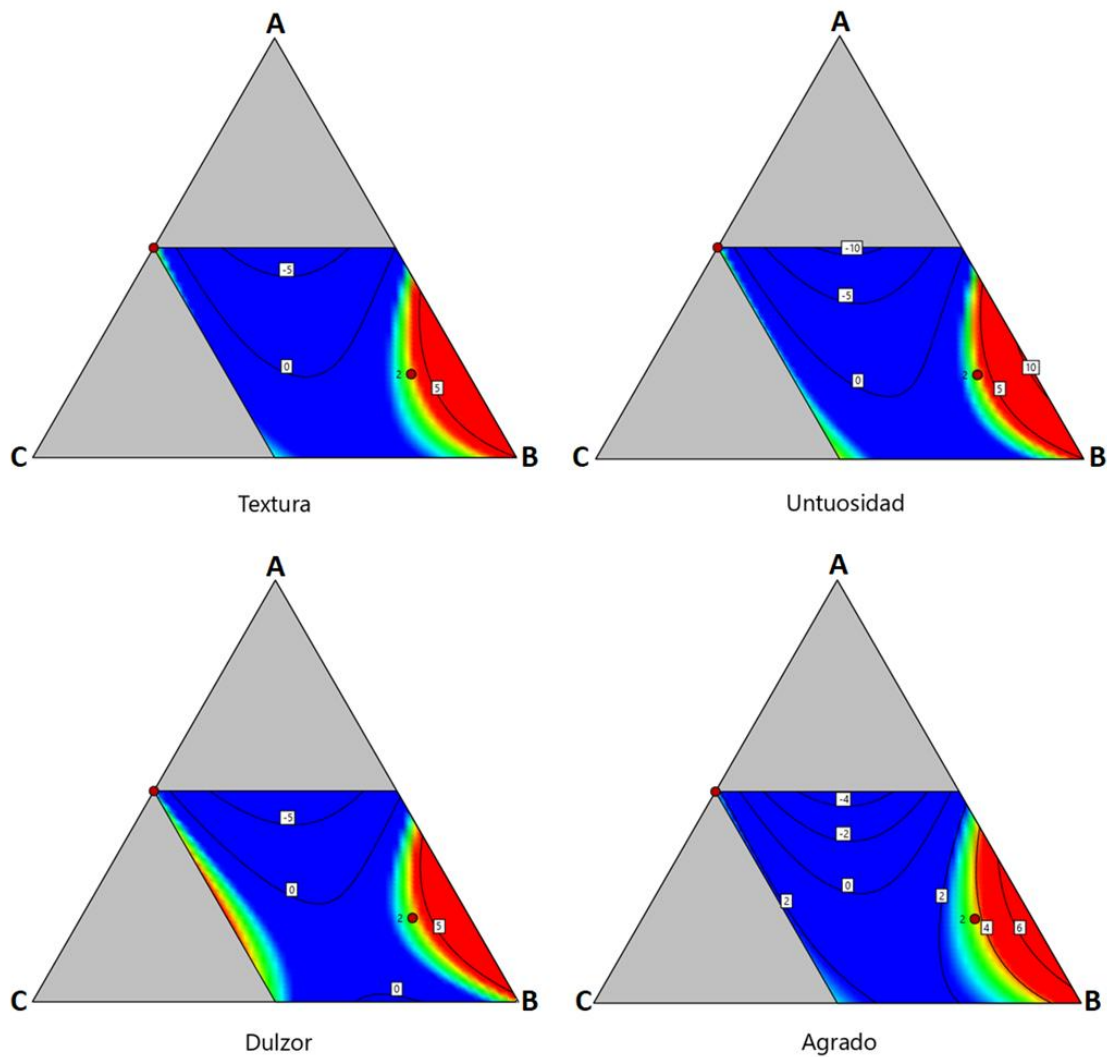


Figura 26: Variables de respuesta del diseño de la mezcla MZD. Pectina (A); Isomalta (B), Agar-agar (C) y para una concentración de maltodextrina fija de 0,37.

Fuente: Elaboración Propia.

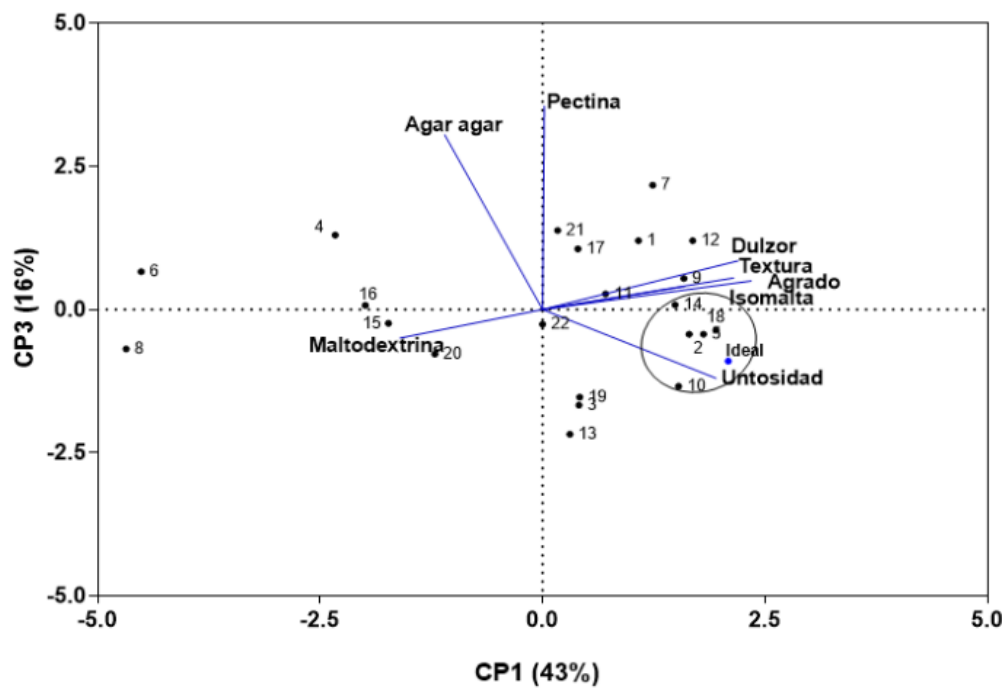
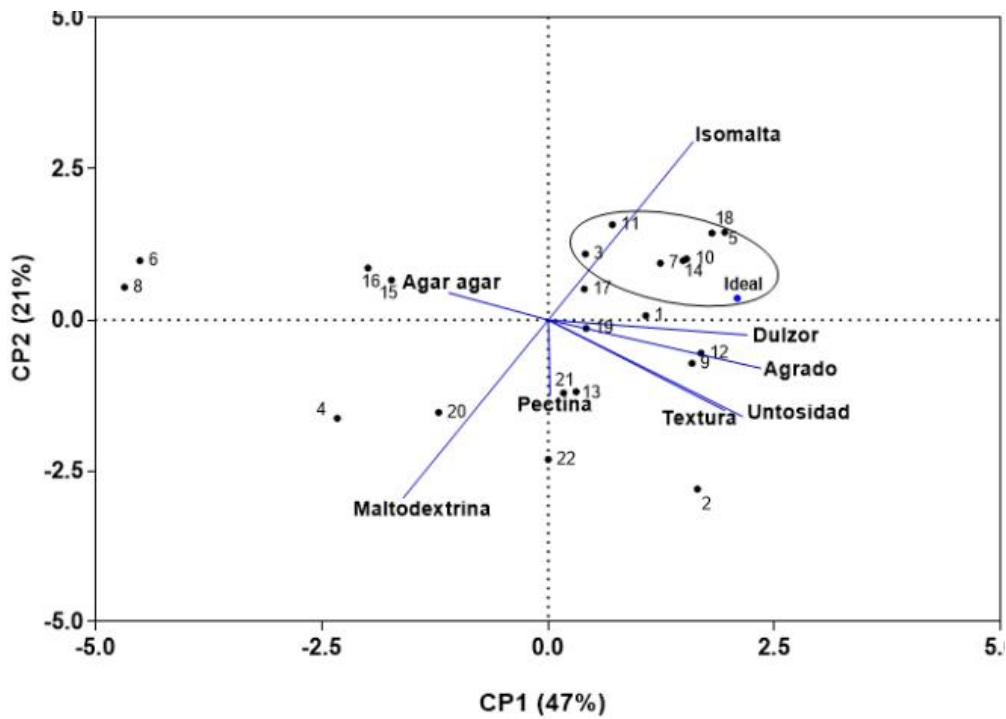


Figura 27: Atributos sensoriales y variables de mezcla estudiadas a través del análisis de componentes principales. Las muestras arrojadas por el diseño de mezclas (●).

Fuente: Elaboración Propia.

La Figura 27, mostrada anteriormente, presenta el análisis de componentes principales obtenido a partir de las variables que tuvieron un efecto relevante en el agrado de las formulaciones, que fueron el contenido de isomalta y maltodextrina. Las tres primeras componentes explicaron el 80% de la variación total entre las muestras, siendo la componente principal 1 (CP1) explicada por la isomalta y maltodextrina. En el caso de la primera, se relaciona directamente con las variables respuesta (dulzor, untuosidad, textura y agrado) e inversamente con la segunda.

Se puede observar que la aceptación de las formulaciones se relacionó con el aumento del contenido de isomalta y, según la CP2, con la disminución del contenido de agar-agar. Además, se puede notar que el agrado está más vinculado con la percepción del gusto dulce, ya que ambas características se encuentran agrupadas en un mismo cuadrante en ambos gráficos.

Mermelada de ciruela y zanahoria

En la Figura 28, se puede observar que las características sensoriales evaluadas son influenciadas de diferente manera por cada variable de las mezclas. En relación a la textura, se puede apreciar que al aumentar los valores de maltodextrina (valor fijo en el gráfico), se permite un amplio rango de variación de los componentes para lograr una buena aceptación en la textura. Además, se puede observar que el contenido de isomalta no afecta la untuosidad, mientras que la pectina y el agar agar se comportan inversamente.

En cuanto al dulzor y agrado, se comportan de manera similar, a medida que se aumenta la cantidad de isomalta hasta cierto punto, el dulzor y agrado aumentan y luego disminuyen, lo que indica una saturación del aspecto y una disminución del agrado del producto.



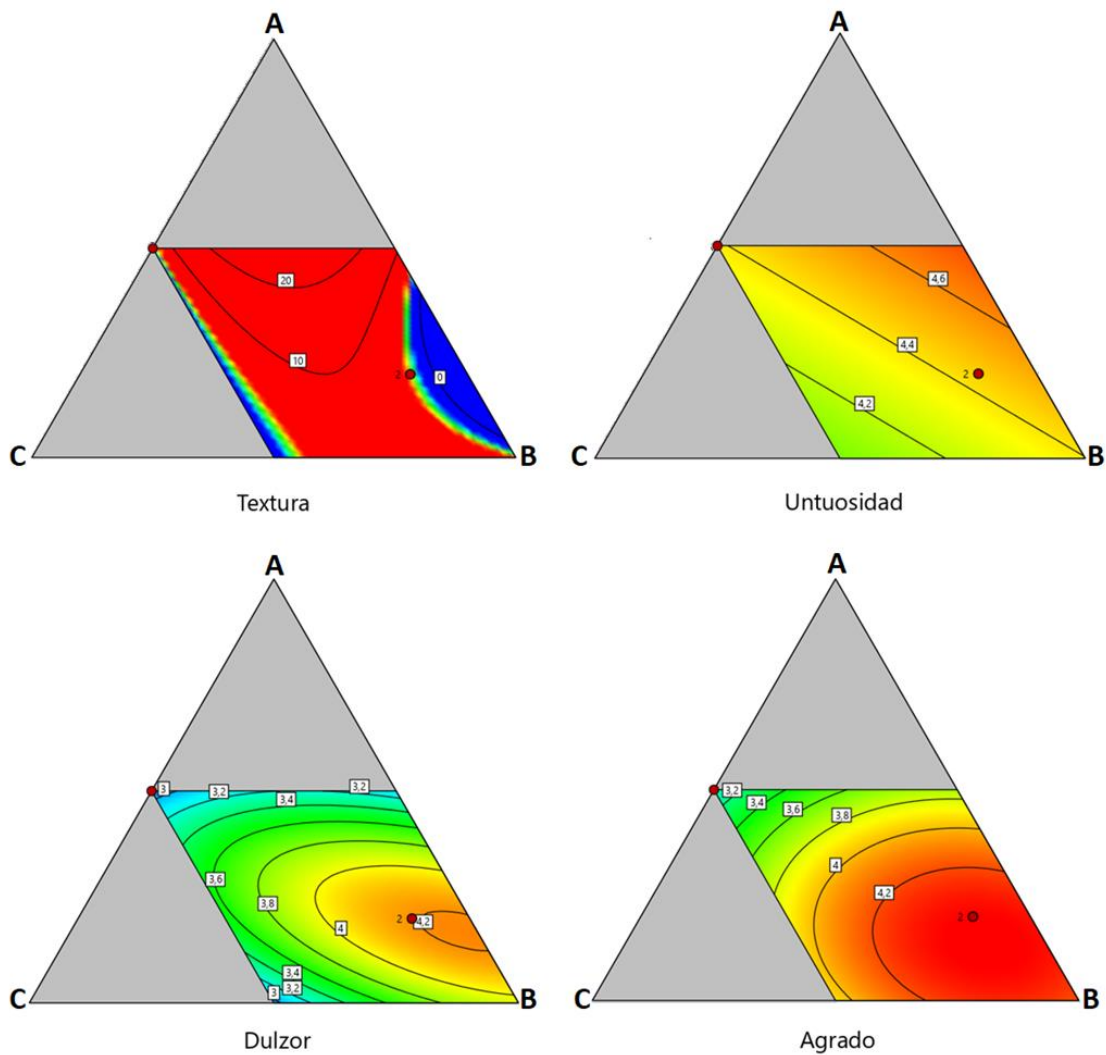


Figura 28: Variables de respuesta del diseño de la mezcla MZC. Pectina (A); Isomalta (B), Agar-agar (C) y para una concentración de maltodextrina fija de 0,37.

Fuente: Elaboración Propia.

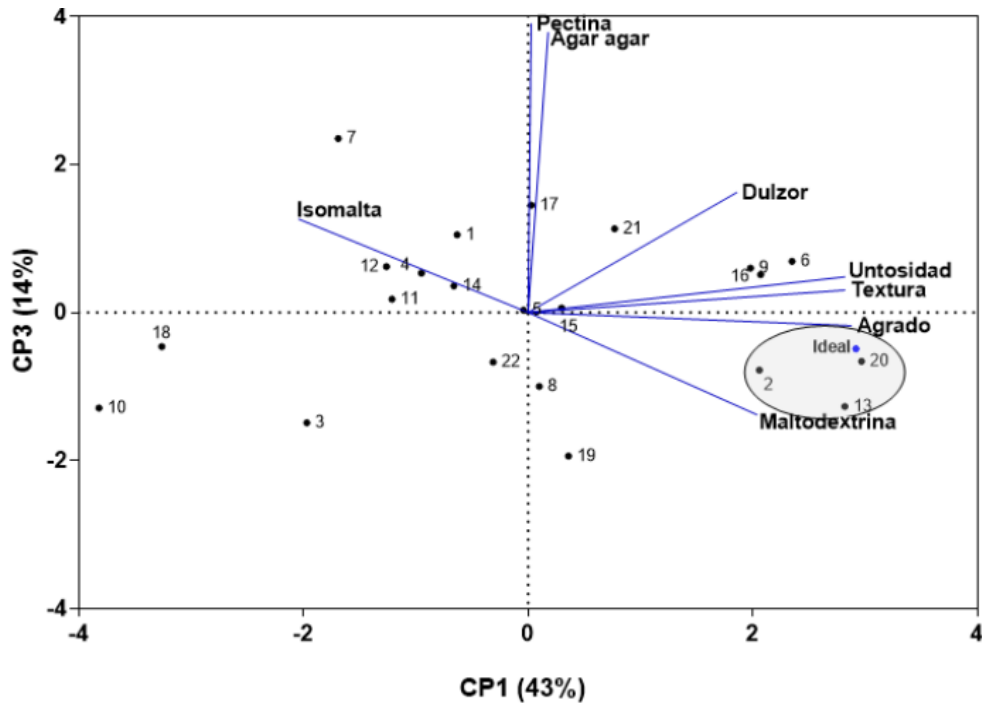
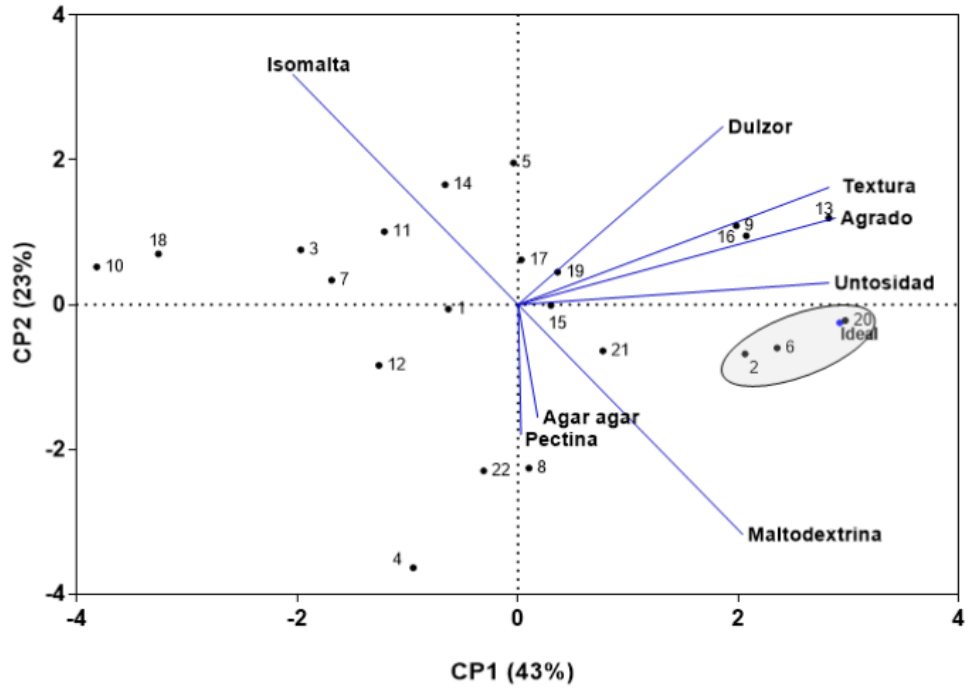


Figura 29: Atributos sensoriales y variables de mezcla estudiadas a través del análisis de componentes principales. Las muestras arrojadas por el diseño de mezclas (●).

Fuente: Elaboración Propia.

La Figura 29, mostrada anteriormente, presenta el análisis de componentes principales obtenido a partir de las variables que tuvieron un efecto relevante en el agrado de las formulaciones, que fueron el contenido de isomalta y maltodextrina. Las tres primeras componentes explicaron el 80% de la variación total entre las muestras, siendo la componente principal 1 (CP1) explicada por la isomalta y maltodextrina. En el caso de la primera, se relaciona inversamente con las variables respuesta (dulzor, untuosidad, textura y agrado) e directamente con la segunda.

Se puede observar que la aceptación de las formulaciones se relaciona con el aumento del contenido de maltodextrina y, según la CP2, con la disminución del contenido de ambos gelificantes. Además, se puede notar que el agrado está más vinculado con la percepción del de las características texturales y de untuosidad.

La diferencia en la aceptación de las dos formulaciones determinadas como ideales podría estar relacionada con la fruta utilizada en la elaboración, ya que ambas usan los mismos gelificantes y azúcares alternativos en su diseño de mezcla. Puede observarse también, que en las formulaciones con durazno, se favoreció el agrado mediante el fomento de la percepción del dulzor, mientras que en las formulaciones con ciruela, se priorizaron los aspectos texturales. Esto podría deberse a que el sabor dulce queda en segundo plano en formulaciones más ácidas y, a su vez, este aspecto podría mejorar las propiedades gelificantes de los ingredientes agregados.

A continuación, en la Tabla 19, se presenta la composición de los ingredientes porcentuales empleados para la preparación de las “mermeladas ideales” para cada formulación.

Tabla 19: Ingredientes porcentuales empleados para la preparación de las “mermeladas ideales” para cada formulación.



| Ingredientes | Composición (% p/p) | |
|--------------|---------------------|--------------------|
| | F ₁ MZD | F ₂ MZC |
| Zanahoria | 31,67 | 31,67 |
| Durazno | 31,67 | ----- |
| Ciruela | ---- | 31,67 |
| Ac. Citrico | 0,2 | 0,2 |
| Stevia | 0,2 | 0,2 |
| Sucralosa | 0,2 | 0,2 |
| Pec | 0,16 | 0,22 |
| Agar | 0,16 | 0,17 |
| Iso | 24,34 | 8,40 |
| Malto | 8,14 | 24,17 |

Fuente: Elaboración Propia.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, y considerando que en promedio las formulaciones elaboradas con ciruela obtuvieron una mayor aceptación por parte del panel interno, se decidió seguir utilizando esta formulación para determinar la concentración adecuada de propóleo que se debe añadir. Es importante evaluar este parámetro sensorialmente con un grupo de consumidores, ya que el propóleo tiene un sabor amargo muy intenso y grandes cantidades podrían generar un rechazo sensorial.

CAPÍTULO III. ADICIÓN DE PROPÓLEOS A LA MERMELADA REDUCIDA EN CALORÍAS Y CARACTERIZACIÓN SENSORIAL, FISICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DEL PRODUCTO FINAL

En este capítulo se establece la concentración de propóleos a adicionar en la mermelada reducida en calorías, a través de un análisis sensorial, funcional y fisicoquímico.

En este estudio para la elaboración de las “mermeladas” se emplearon dos concentraciones de resina propóleo: 0,15% y 0,20%. Se decidió no utilizar cantidades menores a 0,15% debido a lo establecido por la bibliografía consultada, que indica que cantidades menores podrían disminuir la capacidad conservante del propóleo.



6.6. Determinación de la concentración de propóleos mediante análisis sensorial

6.6.1. Intensidad y satisfacción global de los atributos característicos

- **Intensidad de nivel de atributos característicos (JAR)**

La prueba se realizó para conocer la intensidad y grado de gusto de los diferentes atributos estudiados (textura, untuosidad y dulzor). Para ello se utilizó la escala JAR, por sus siglas en inglés Just About Right, que evalúa intensidades sensoriales en una escala de 1 a 5, siendo 1 = Mucho menos de lo que me gusta, 2 = Menos de lo que me gusta, 3 = Justo como me gusta, 4 = Más de lo que me gusta, 5 = Mucho más de lo que me gusta. Posteriormente esta clasificación se reestructuró para agrupar las percepciones en tres grupos: Poco (puntos 1 y 2 de la 120 escala); Justo (punto 3 de la escala) y Mucho (puntos 4 y 5 de la escala).

6.6.2. Satisfacción global

- **Aceptación global**

La prueba de satisfacción global consistió en solicitar a los consumidores que describan la sensación que les produce un atributo en particular o el producto globalmente. Se empleó una escala hedónica, que mide la respuesta de agrado o rechazo ante el producto, en una escala ordinal de 1 a 7, siendo 1= me disgusta mucho, 2= me disgusta, 3= me disgusta levemente, 4= no me gusta ni me disgusta, 5= me gusta levemente, 6= me gusta, 7= me gusta mucho.

6.6.3. Análisis de penalidades de las mermeladas

- **Análisis de penalidades**

El método, basado en comparaciones múltiples, tales como las que se usan en ANOVA, consiste en identificar, para cada una de las características utilizadas en la escala JAR, si las calificaciones están relacionadas con resultados significativamente diferentes en las puntuaciones de gusto o preferencia. Esto nos permite mejorar el producto, al conocer



cuáles atributos impactan de manera negativa en la aceptación y a la vez contribuye a comprender los atributos más aceptados (Palazzo y Bolini, 2017). El análisis de penalización (Penalty Analysis) se realizó a partir de dos tipos de datos:

- Datos de preferencia (o puntuaciones de gusto) que corresponden a un índice de satisfacción global respecto a un producto que en este caso se toma a partir de una escala de 7 puntos.
- Datos recopilados sobre una escala JAR, reestructurados en 3 grupos.

A partir de estos datos, para cada atributo:

- Se calculó la frecuencia porcentual de consumidores que consideraron el atributo fuera de su “punto justo”.
- Se promediaron los valores de aceptabilidad global para los puntos que en las preguntas JAR quedaron fuera de su punto justo y el promedio de los que seleccionaron al atributo en su “punto justo”.
- Se determinó el “grado de penalización” para cada atributo, para evaluar el efecto de los atributos sobre la aceptabilidad. El grado de penalización se determinó por la diferencia entre el promedio de la aceptación global de los “punto justo” y los puntos fuera de este nivel. Por ende, cada atributo puede tener dos niveles de penalización, correspondientes a los valores resultantes de los más intensos que su punto justo y los menos intensos que su punto justo.
- Por último, se graficó la penalización en función de la frecuencia porcentual de consumidores que consideraron el atributo fuera de su “punto justo”. Se estableció que aquellos puntos por encima del 25% de consumidores y con un grado de penalización superior a 1 estuvieran “penalizados”. Los puntos que se encuentran “penalizados” son aquellos que se deberían modificar para mejorar la aceptación del producto o en el caso de la estabilidad denota cuales son los atributos que pueden determinar el fin de la vida útil sensorial de los productos.



6.7. Caracterización fisicoquímica, funcional de la mermelada

6.7.1. Caracterización fisicoquímica

6.7.1.1. Humedad

El contenido de agua de la fruta se determinó gravimétricamente mediante el método oficial 925.09 (AOAC, 2005). Las muestras se secaron en una estufa de vacío FI-J010045 (Fistream International Ltd, Loughborough, Reino Unido) a una temperatura de 60°C hasta alcanzar peso constante. La pérdida de peso de las muestras se determinó por pesada en una balanza analítica AG245 (Mettler Toledo, Ohio, Estados Unidos) de precisión 0,01 mg. Antes de cada pesada las muestras se enfriaron en un desecador conteniendo sílica gel. La humedad se expresa como gramos de agua por cada 100 gramos de fruta fresca (g H₂O/100 g f.f.)

6.7.1.2. pH

El pH se determinó sobre una fracción de fruta triturada mediante el método oficial 945.27 (AOAC, 2005). Se utilizó un pHmetro HI 2223 (Hanna®, Buenos Aires, Argentina) calibrado con soluciones buffer de pH 4,0 y 7,0.

6.7.1.3. Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) se determinó mediante el método oficial 925.09 (AOAC, 2005). Las medidas se realizaron a 25°C ± 3° empleando un higrómetro de punto de rocío Aqualab 3TE (Decagon Devices, Washington, Estados Unidos) con sensibilidad de ± 0,003, el cual se calibró previamente con soluciones saturadas de sales.

Resultado:

6.7.1.4. Color

El color superficial se midió utilizando un fotocolorímetro portátil Hunter Lab Mini Scan EZ (E.E.U.U.) usando el iluminante D65 y 2° de ángulo de observador. Se registraron los



parámetros L^* , a^* , b^* del espacio CIELab (Martínez-Girón y col., 2017). Los resultados se informaron como el promedio de 10 mediciones \pm la desviación estándar.

6.7.2. Caracterización funcional

6.7.2.1. Capacidad antioxidante

Según técnica descrita en ítems 6.2.3.

6.7.2.2. Compuestos Polifenólicos Totales

Según técnica descrita en ítems 6.2.4.

6.7.2.3. Perfil de Compuestos Polifenólicos

Según técnica descrita en ítems 6.3.2.7.

6.8. Resultados de la caracterización fisicoquímica, sensorial y funcional de la mermelada reducida en calorías, adicionada de propóleos

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) para determinar diferencias significativas entre las muestras. El análisis de las medias se realizó mediante el procedimiento LSD Fisher a $P < 0,05$ utilizando el software InfoStat v.2008. Se aplicó el análisis de componentes principales (PCA) a las variables que fueron significativas en la diferenciación del tiempo y condición de almacenamiento. Para el procesamiento de datos se utilizó el módulo Análisis de Componentes Principales y Clasificación, basado en las correlaciones y con la opción activar casos, del programa InfoStat-Statistical versión 2018e.



6.8.1. Resultado de la concentración de propóleo sensorialmente aceptable

6.8.1.1. Análisis de intensidad de atributos característicos y satisfacción global

Resultado sensorial de la mermelada, este es el sensorial final que se hizo con la mermelada de zanahoria y ciruela amarilla, en el cual se buscó la concentración de propóleos más aceptable. Los valores están expresados de manera porcentual, a pesar de que la cantidad de consumidores fue 94.

En la Figura 30, se presentan las imágenes del momento de la prueba, donde los evaluadores no entrenados recibieron las muestras codificadas a evaluar, un formulario con las escalas de intensidad de los atributos particulares y satisfacción global. Además, de todos los elementos necesarios (vasos, agua, servilletas de papel, cucharitas de plástico, etc).



Figura 30: Prueba sensorial de aceptación de la mermelada de zanahoria y ciruela amarilla. Facultad de Bromatología.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global del Color

La Figura 31 muestra la distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo color. Los resultados indican que la formulación que contenía un 0.15% de resina presentó mayor agrado que la formulación con 0.20% de resina, pero esta diferencia fue muy leve. Al analizar la Figura 32, donde

se muestran los niveles de intensidad del color percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones, se observa que el contenido de propóleo produjo una variación del color pero percibido por pocas personas fuera del ideal, este leve cambio de la intensidad de color puede deberse más al efecto del carbonato sobre la acidez de la mermelada y no tanto sobre la resina agregada.



Figura 31: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo color.

Fuente: Elaboración Propia.

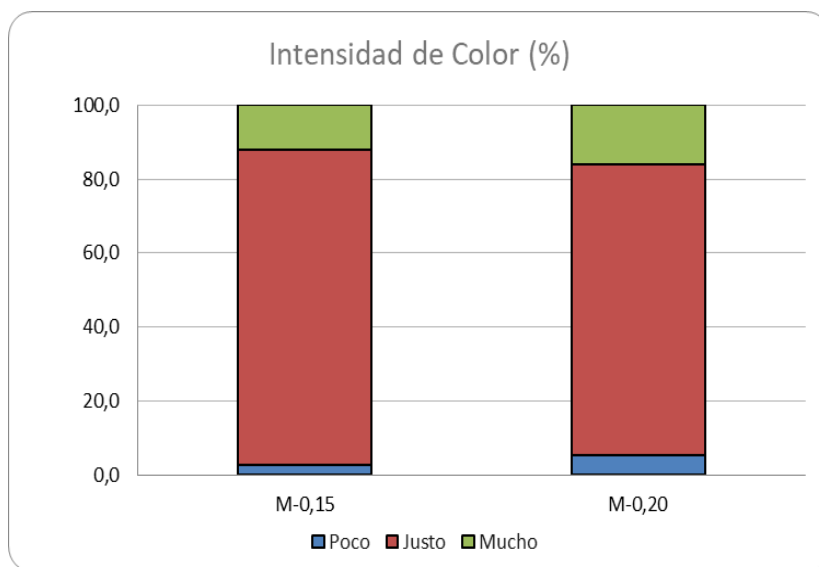


Figura 32: Niveles de intensidad del color percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global de la textura

La Figura 33, muestra la distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo textura. Los resultados indican que la formulación que contenía un 0.15% de resina presentó mayor agrado que la formulación con 0.20% de resina, pero esta diferencia fue muy leve. Al analizar la Figura 34, donde se muestran los niveles de intensidad de la textura percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones, se observa que el contenido de propóleo no afecta la percepción de la textura, dependiendo está únicamente de los parámetros definidos por el diseño de mezcla aplicado en el desarrollo de las formulaciones.

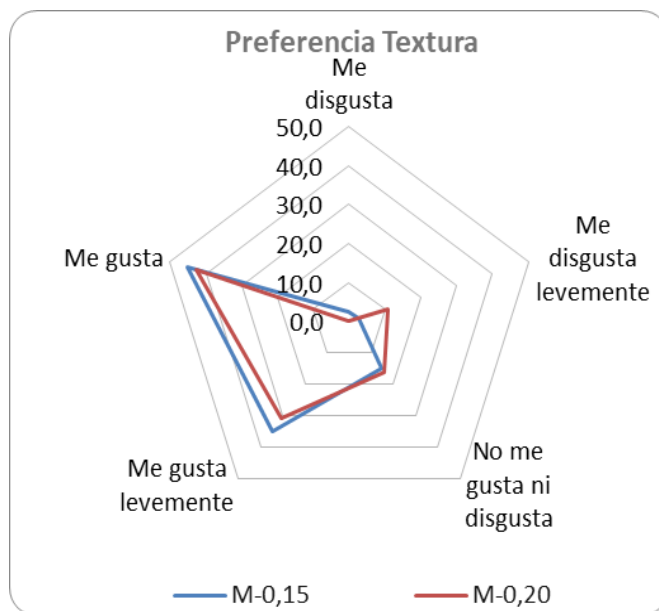


Figura 33: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo textura.

Fuente: Elaboración Propia.

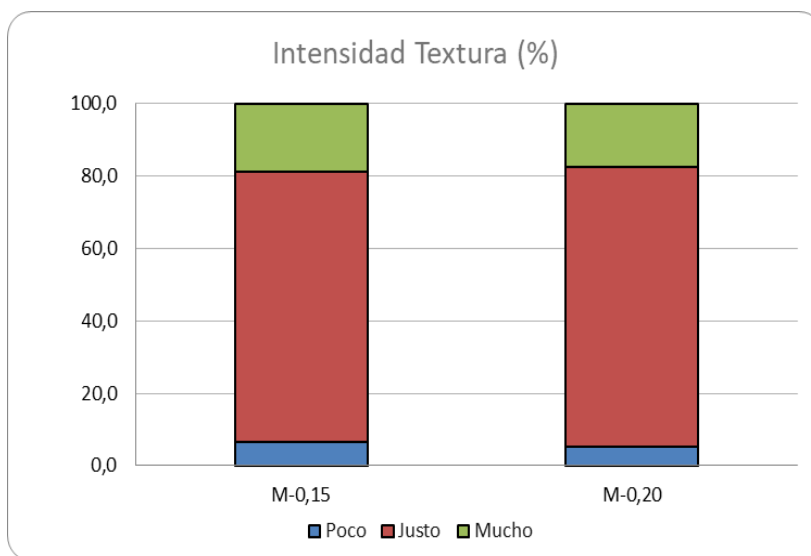


Figura 34: Niveles de intensidad de la textura percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global del Dulzor

La Figura 35, muestra la distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo dulzor. Los resultados indican que la formulación que contenía un 0.15% de resina tuvo un mayor porcentaje de valoraciones positivas y en categorías más altas en comparación con las "mermeladas" que contenían un 0.20% de resina. Al analizar la Figura 36, donde se muestran los niveles de intensidad del dulzor percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones, se puede confirmar que esta variación en el agrado del atributo se debe a que la intensidad del dulzor es mayor en la formulación con un menor contenido de propóleo, lo cual es consistente con las expectativas que presentan las personas con este tipo de producto.

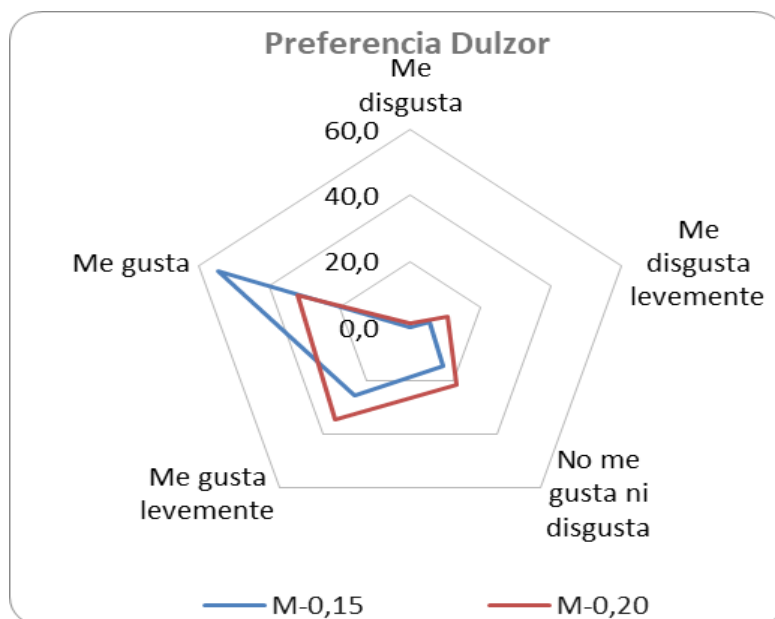


Figura 35: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo dulce.

Fuente: Elaboración Propia.

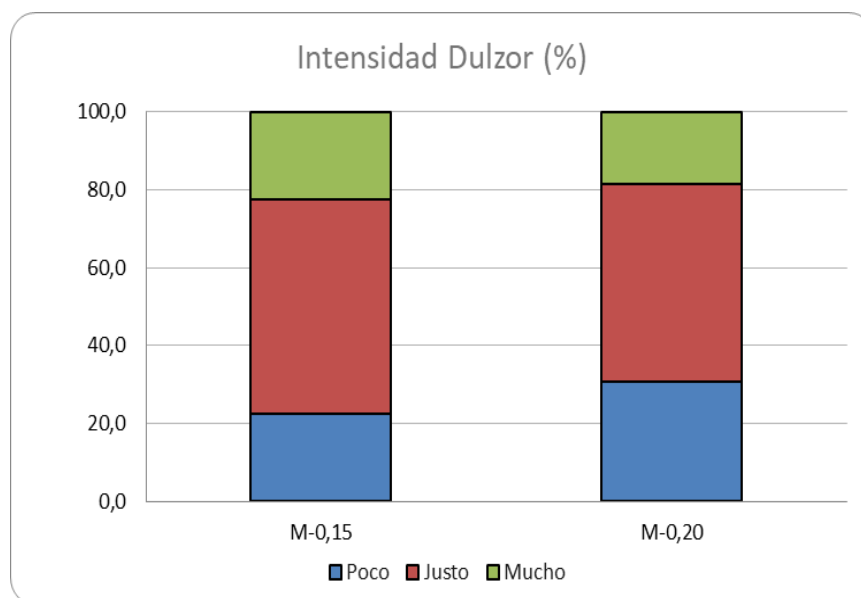


Figura 36: Niveles de intensidad del dulzor percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global del amargor

La Figura 37, presenta la distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo amargor, y los resultados indican que la formulación con un 0.15% de resina fue la más aceptada en comparación con las "mermeladas" que contenían un 0.20% de resina. La Figura 38, muestra los niveles de intensidad del amargor percibidos en las diferentes formulaciones, se puede confirmar que la variación en el agrado del atributo se debe a que la intensidad del amargor es menor en la formulación con menor contenido de propóleo, lo que coincide con los resultados obtenidos para la percepción del gusto dulce en el ítem anterior.

Cabe destacar que la percepción del sabor amargo parece ser más sensible a los cambios en la concentración de resina, lo que podría deberse a la mayor sensibilidad que presentan las personas a los compuestos que aportan sabor amargo. Esto sugiere que las formulaciones con menor contenido de resina podrían ser preferidas por un mayor número de consumidores, especialmente aquellos que son más sensibles al sabor amargo.

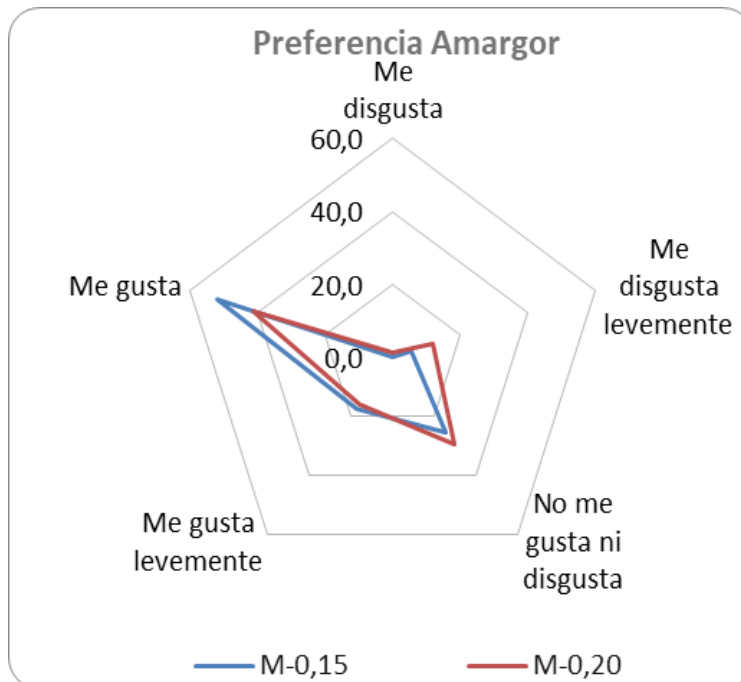


Figura 37: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo amargor.

Fuente: Elaboración Propia.

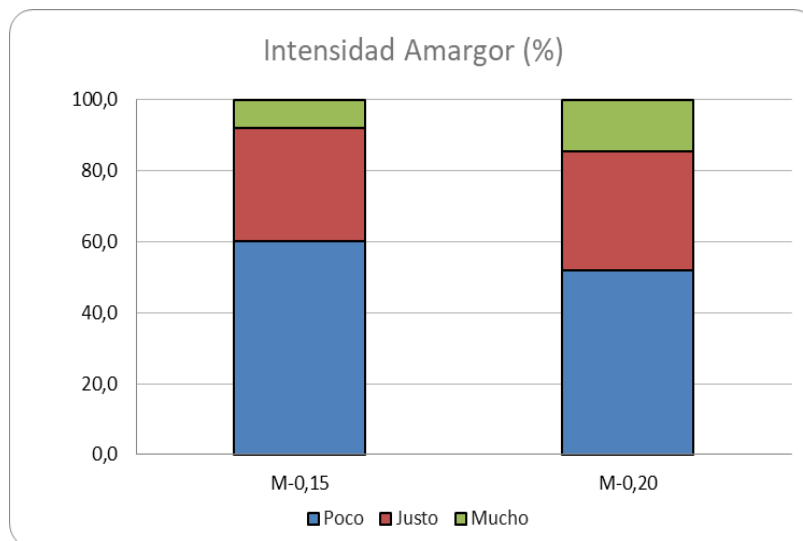


Figura 38: Niveles de intensidad del amargor percibidos por los consumidores en las diferentes formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global de la acidez

La distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo acidez se muestra en la Figura 39. Los resultados indican que la formulación con un 0.15% de resina fue la más aceptada en comparación con las "mermeladas" que contenían un 0.20% de resina. Al analizar la Figura 40, que presenta los niveles de intensidad de la acidez en las distintas formulaciones, se observa que la formulación con menor cantidad de resina percibió una mayor acidez. Esta diferencia podría deberse al hecho de que dicha formulación tiene una menor cantidad de carbonato agregado. El nivel de acidez del producto es importante, dado que contiene ciruela como ingrediente y se espera cierto grado de acidez en el mismo. Es posible que esta diferencia haya influido en la percepción de los consumidores.



Figura 39: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo acidez.

Fuente: Elaboración Propia.

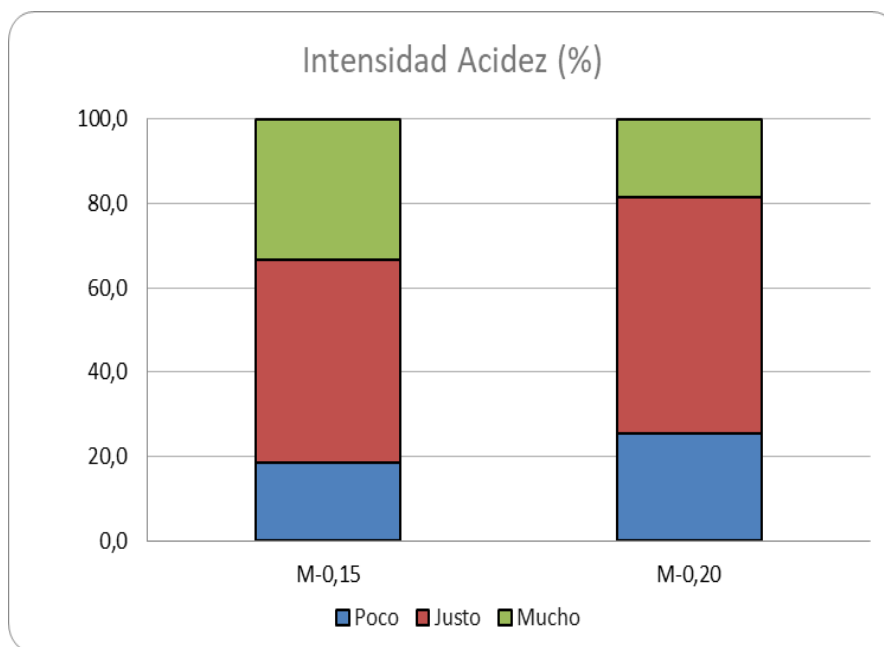


Figura 40: Niveles de intensidad de la acidez percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Intensidad y satisfacción global del Sabor afrutado

La distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo sabor afrutado, se muestra en la Figura 41. Los resultados revelan que la formulación que contenía un 0.15% de resina tuvo una mayor proporción de valoraciones positivas. Además, se observó que un gran porcentaje de los consumidores en ambas formulaciones no consideran relevante este atributo, calificándolo como "no me gusta ni me disgusta".

Al analizar la Figura 42, que muestra los niveles de intensidad, se encontró que la mayoría de los consumidores percibió la intensidad de sabor afrutado como "poco", siendo aún más común en la formulación con un 0,20% de resina. Por lo tanto, aumentar la cantidad de este ingrediente podría disminuir la percepción de este atributo.

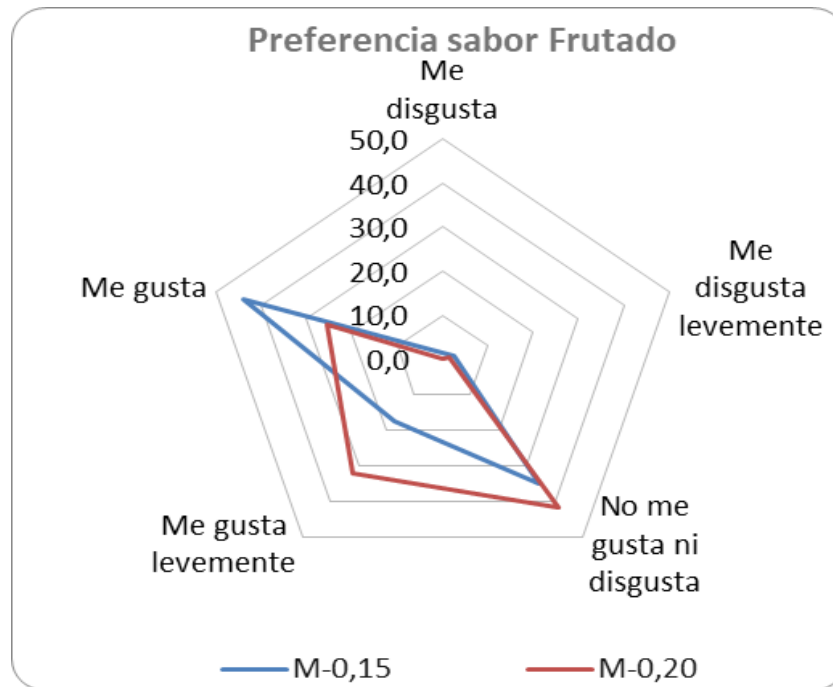


Figura 41: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo sabor afrutado.

Fuente: Elaboración Propia.

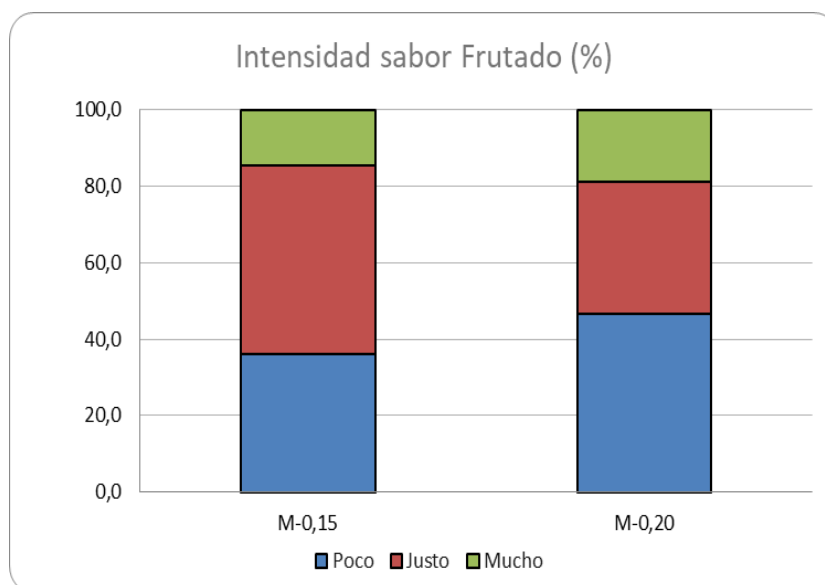


Figura 42: Niveles de intensidad, del sabor afrutado percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

Satisfacción global

En cuanto a la percepción del agrado global, se pudo observar que ambas formulaciones recibieron valoraciones de agrado superiores al 80%. Sin embargo, la formulación con un 0.15% de resina tuvo un puntaje ligeramente superior en comparación con la fórmula que contenía un 0.2%. También se notó que la distribución de las valoraciones de agrado presentó categorías más altas en la primera formulación, alcanzando su máxima valoración en la categoría "me gusta". Figuras 43 y 44.



Figura 43: Distribución de la aceptación global de los consumidores en relación a las 5 categorías de agrado para el atributo preferencia global.

Fuente: Elaboración Propia.

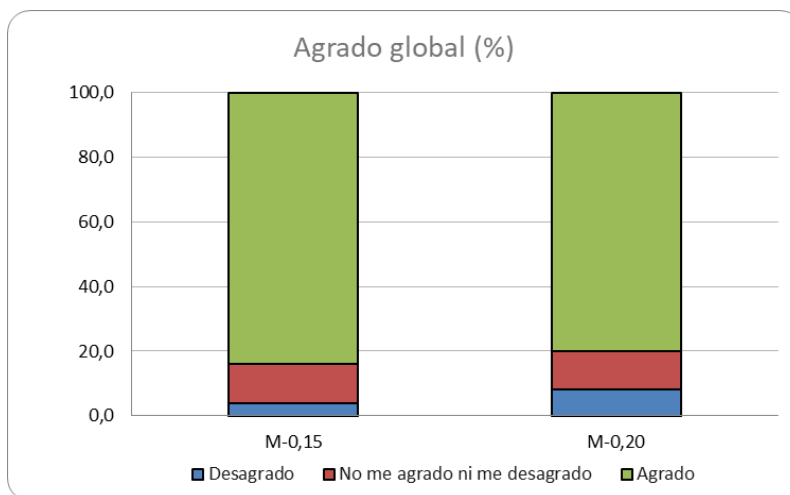


Figura 44: Niveles de intensidad, del agrado global percibidos por los consumidores en las distintas formulaciones.

Fuente: Elaboración Propia.

6.8.1.2. Análisis de penalidades de las mermeladas

El análisis sensorial de penalidades utilizado en este estudio se enfocó en la evaluación de la intensidad por atributo y la satisfacción global de los consumidores. El objetivo de este análisis fue determinar los atributos sensoriales que influyen de manera negativa sobre la aceptación global del producto (variación mayor al 0,5), y que son observados por más del 25% de los consumidores. Los resultados de este análisis se utilizaron para selección cual es la concentración que mejor se adapta los gustos del consumidor y a la vez para conocer cuáles son los atributos que deben ser mejorados para aumentar su aceptación entre los consumidores.

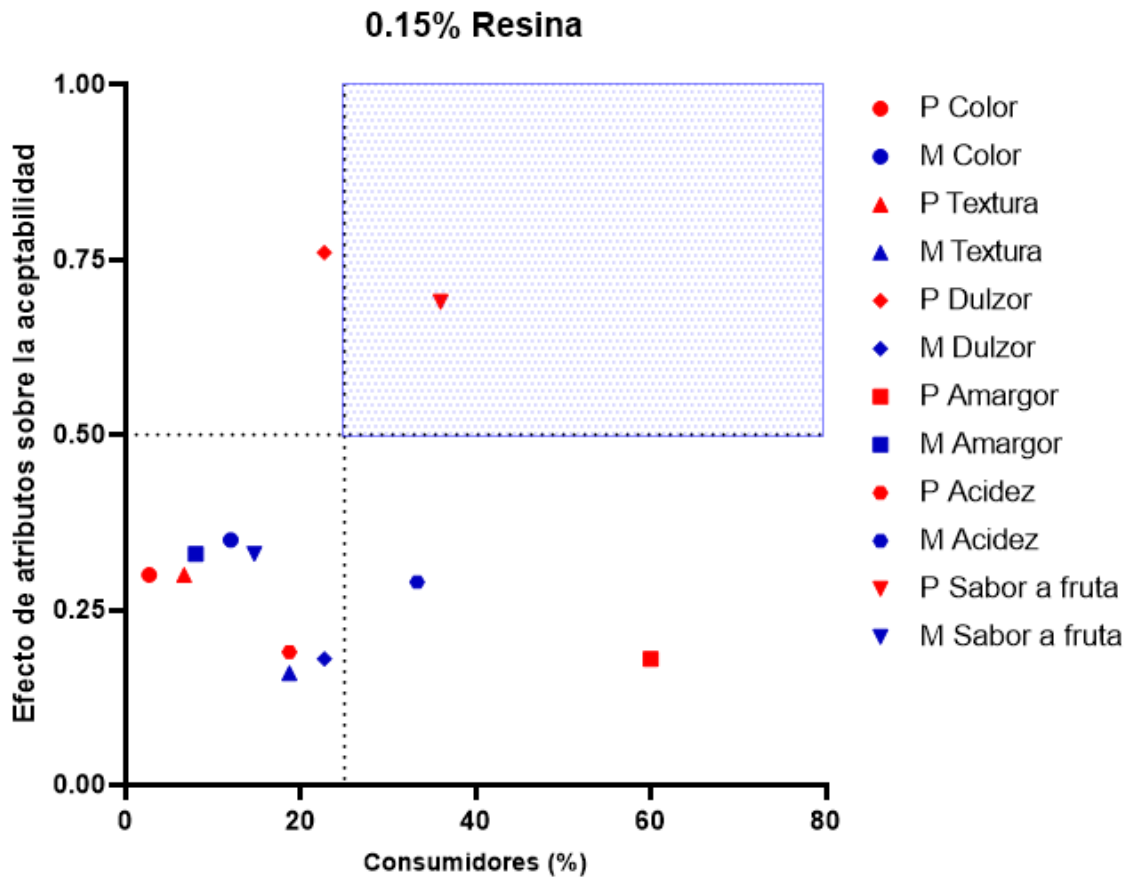


Figura 45: Análisis de penalidades en la evaluación de la intensidad por atributos y la satisfacción global de los consumidores en mermeladas con 15% de resina.

Fuente: Elaboración Propia.

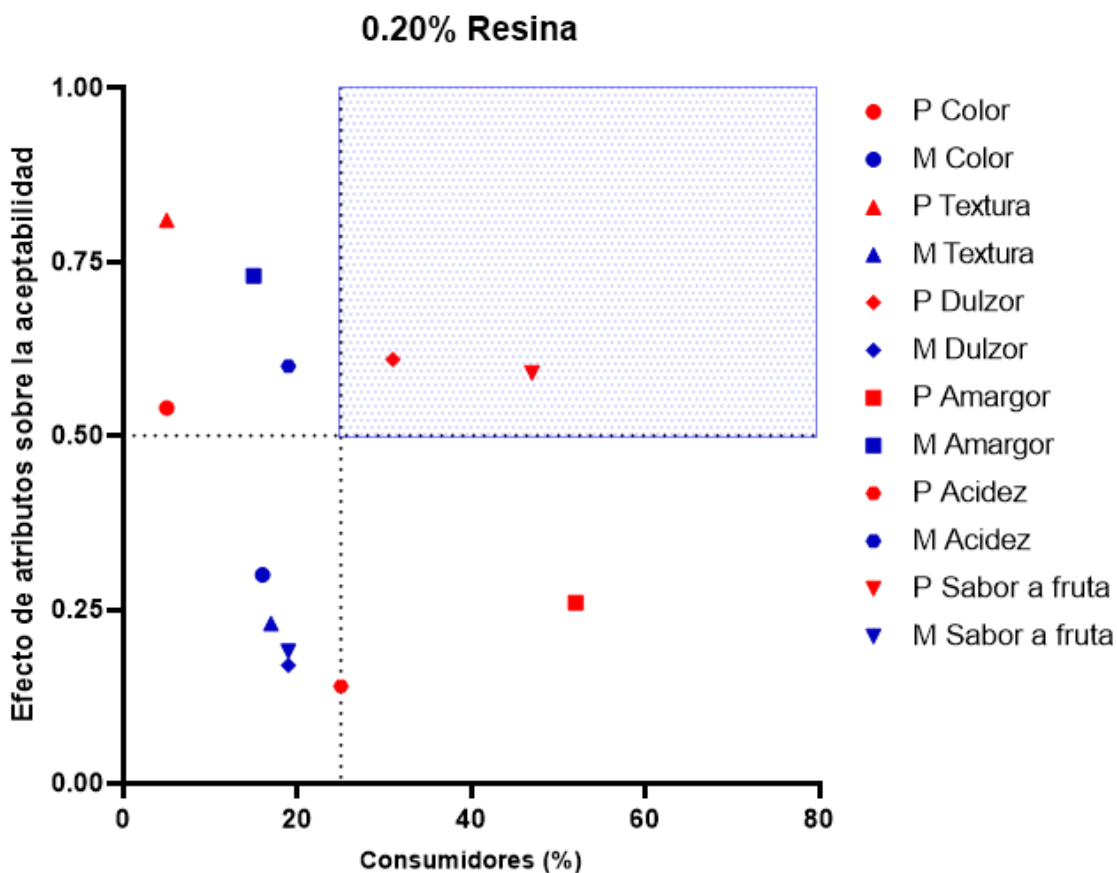


Figura 46: Análisis de penalidades en la evaluación de la intensidad por atributos y la satisfacción global de los consumidores en mermeladas con 20% de resina.

Fuente: Elaboración Propia.

Las Figuras 45 y 46, mostradas anteriormente, se ilustran las penalizaciones en función del porcentaje de consumidores que detectaron desviaciones del punto ideal en diferentes atributos de las mermeladas. La formulación con 0,15% de resina, mostró un atributo penalizado (poco sabor a fruta), posiblemente debido a la expectativa de sabor de una "mermelada" de ciruela, que se vio opacada por los sabores de la zanahoria y el propóleo. El bajo nivel de dulzor también tuvo un impacto en la aceptación global, aunque no llegó a alcanzar la zona de penalización, lo que significa que solo afectó a un pequeño porcentaje de consumidores.

Por otro lado, la formulación con 0,20% de resina, mostró penalizaciones en dos atributos: poco sabor a fruta y poco dulzor. En comparación con la formulación anterior, la alta concentración de propóleos, contribuyó a un sabor amargo fuerte que posiblemente disminuyó la percepción del dulzor, lo que llevó a la penalización de este atributo. Esto se ve reflejado en el aumento de la influencia del "mucho sabor amargo" en el gráfico, aunque fue apreciado por un pequeño número de consumidores.

6.8.1.3. Elección de la concentración final

Para mejorar la aceptabilidad, fue necesario enmascarar el sabor amargo que proviene principalmente de la resina de propóleos, posiblemente aumentando los sabores dulces y ácidos, sin disminuir el contenido de resina, ya que una reducción de esta podría afectar la concentración de las sustancias bioactivas y la capacidad inhibitoria, por lo tanto la estabilidad del producto final. Por lo tanto, se recomienda utilizar la formulación con 0,15% de resina, que fue la más aceptada y cumplió con la función del propóleos en la formulación.

6.8.2. Características fisicoquímicas y funcionales de la mermelada



Caracterización fisicoquímica y funcional de la mermelada reducida en calorías y adicionada de propóleos

En la Tabla 20, se presenta la caracterización fisicoquímica de la mermelada de zanahoria y ciruela con y sin propóleo.

Tabla 20: Caracterización fisicoquímica de la mermelada de zanahoria y ciruela con y sin propóleo.

| Determinaciones | Formulación sin propóleo | Formulación con propóleo |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|
| Humedad (%) | 36,5±05 | 40,7±0,5 |
| pH | 6,0± 0,2 | 3,3±0,2 |
| Aw | 0,89± 0,1 | 0,91±0,1 |
| Brix° | 56±0,5 | 55,5±0,5 |



| | | | |
|------------------------|----------|---|---|
| Color | L* | 45,3±0,8a | 37,6±0,2b |
| | a* | 16,7±0,6a | 14,2±0,2b |
| | b* | 16,1±0,5a | 19,4±0,5b |
| | Croma | 48,1±0,9a | 42,3±0,1b |
| | H° | 46,0±0,1a | 36,2±0,3b |
| Color s/ cielab | |  |  |
| Capacidad Antioxidante | 19,71±01 | 27,21±01 | |
| CPT | 252,4±01 | 288,9±01 | |

Fuente: Elaboración Propia.

Como complemento de esta caracterización funcional, se realizó un análisis de perfil de compuestos polifenólicos presentes en el producto final. En la Figura 47, se muestra un cromatograma del perfil de polifenoles presentes en la muestra de mermelada. A través de este análisis, se lograron identificar 8 compuestos polifenólicos.

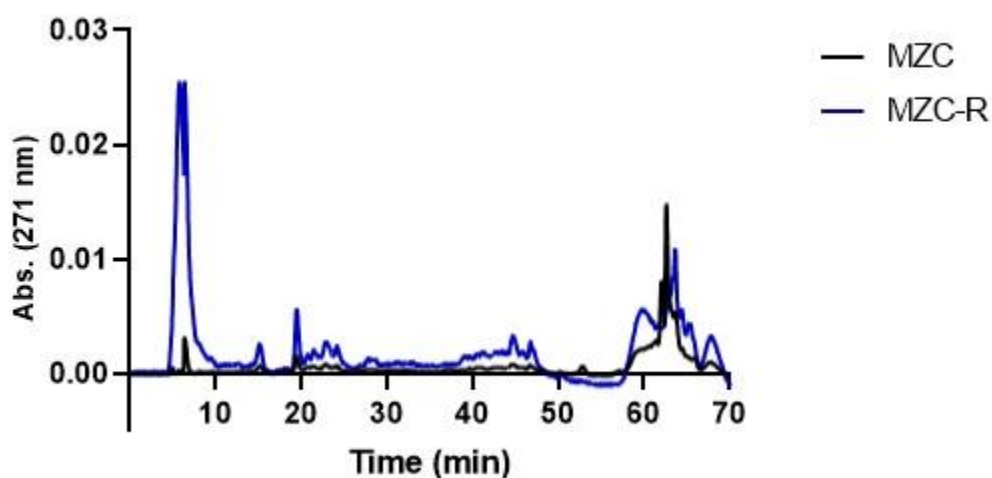


Figura 47: Cromatograma del perfil de polifenoles en mermeladas sin agregado de propóleos y con agregado de propóleos.

Fuente: Elaboración Propia.

En el cromatograma se puede observar que la mermelada con agregado de resina de propóleos evidencia picos de mayor altura y área respecto a la mermelada sin el agregado de la misma. Estos son coincidentes con los cromatograma que se muestran en la Figura

23, donde se analizó el perfil de polifenoles que contiene la resina de propóleos en forma de polvo, utilizada para enriquecer la mermelada.

7. Conclusiones

En cuanto a las condiciones óptimas de obtención del EEP:

- El EEP que maximiza las características funcionales, se obtiene a partir de una solución de etanol al 87%, temperatura de 31°C, para evitar la degradación de los polifenoles y tiempo de 39 minutos para asegurar una saturación de la solución de extracción.
- Se observó que el aumento de temperatura favorece la extracción de los compuestos funcionales, sin embargo, se advierte la disminución en los valores de CPT y CA a partir de la “temperatura límite” de 35 °C.
- Se estableció que tiempos prolongados a bajas temperaturas no favorecen significativamente la extracción y que, en cuanto al contenido de etanol a elevadas concentraciones, el tiempo no parece tener mucha influencia, sin embargo, a bajas concentraciones y tiempos prolongados de tratamientos disminuyen los valores de CPT y la CA en los extractos.

Respecto a la elección del soporte adecuado para encapsular el EEP:

- El carbonato de calcio fue el soporte adecuado para encapsular la resina de propóleos, dado que permitió una adecuada retención de la misma y mantuvo las características esperadas para un ingrediente en forma de polvo con una excelente fluidez y cohesividad deseada.
- El perfil de compuesto polifenólico obtenido de los polvos con carbonato de calcio, está conformado por ácido gálico, caféico, cumárico, ferúlico y sinápico, pertenecientes a la subclase de los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. Además, se encontraron dos flavonoides, quercetina y kaempferol, pertenecientes a la subclase de las flavonas, y crisina, un flavonoide que pertenece a la subclase flavononas.
- De los compuestos identificados, se determinó la presencia de quercetina, crisina y kaempferol en mayor concentración, las cuales poseen características



funcionales y beneficiosas para la salud, en particular, propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y cardiovasculares, además de propiedades neuroprotectoras y anticancerígenas.

Los demás soportes estudiados, no se consideraron adecuados dado que:

- La gelatina ha generado una gelificación excesiva del producto final, no cumpliendo con una de las características básicas de las mermeladas como la untuosidad.
- La sacarosa, tampoco formó parte de la elección, a pesar de que representa una buena alternativa. El motivo de esta decisión radica en que, uno de los objetivos principales del trabajo, fue desarrollar un alimento sin azúcares simples agregados, aunque dicha decisión fue tomada posterior al desarrollo del diseño, ya que se consideró el efecto de los endulzantes no calóricos, sobre las características de dulzor en el producto terminado.
- La maltodextrina presentó dificultades en el proceso de eliminación del contenido de alcohol, además generaba una aglomeración del sólido que no favorecía la retención de la resina.

A cerca de la obtención de mermeladas de frutas y hortalizas reducidas en calorías:

- En lo que respecta al diseño de mezcla realizado, se observó que todas las variables influyeron de manera similar en las cuatro respuestas estudiadas y que la aceptabilidad de cada uno de los parámetros sensoriales aumentó a medida que incrementó el contenido de isomalta y se disminuyó el de agar-agar, para un valor constante de maltodextrina.
- Del análisis sensorial, se observó que la aceptación de las mermeladas se relaciona con el aumento del contenido de isomalta y el agrado se vincula con la percepción del gusto dulce de las características texturales y de untuosidad.
- En cuanto a la fruta utilizada, la mermelada con durazno agradó por la percepción del dulzor, mientras que en la mermelada con ciruela, por el gusto ácido que a su vez mejora los aspectos texturales.



En relación a la adición de propóleos en la mermelada reducida en calorías, a través de un análisis sensorial, funcional y fisicoquímico:

- La concentración de propóleos aceptable para mermelada de zanahoria y ciruela amarilla, fue de 0,15%, donde se observó que no afecta la percepción de la textura y ni el color.
- La formulación con 0,15% de resina, mostró un atributo penalizado (poco sabor a fruta), posiblemente debido a la expectativa de sabor de una "mermelada" de ciruela, que se vio opacada por los sabores de la zanahoria y el propóleos. El bajo nivel de dulzor también tuvo un impacto en la aceptación global, aunque no llegó a alcanzar la zona de penalización, lo que significa que solo afectó a un pequeño porcentaje de consumidores.
- Para mejorar la aceptabilidad, fue necesario enmascarar el sabor amargo que proviene principalmente de la resina de propóleos, aumentando los sabores dulces y ácidos, sin disminuir el contenido de resina, ya que una reducción de esta podría afectar la concentración de las sustancias bioactivas y la capacidad inhibitoria y consecuentemente la estabilidad del producto final. Por todo esto, se recomienda elaborar la mermelada con 0,15% de resina, debido a que fue la más aceptada y cumplió con la función del propóleos en la formulación.
- Respecto al análisis de inhibición microbiológica, se observó que el crecimiento en la placa era indicativo de un efecto bacteriostático y fungistático, en tanto que la ausencia del mismo correspondía a un efecto bactericida o fungicida.

En general, se logró obtener mermelada de zanahoria y ciruela amarilla reducidas en calorías con compuestos polifenólicos provenientes del EEP, que le confieren capacidad antioxidante, con buena aceptabilidad sensorial y poder antimicrobiano natural.

8. Discusión – Propuestas.

Respecto a la adición de propóleos como ingrediente en alimentos, hasta el momento el Código Alimentario Argentino no contempla la incorporación del propóleos como ingrediente en alimentos, por lo cual será necesario realizar los trámites de solicitud ante la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL), con el propósito de que se evalúe la posibilidad de incorporación de este subproducto de la colmena en los mismos.



Esta solicitud, formará parte de acciones posteriores de este proyecto, como parte complementaria del mismo, siguiendo los lineamientos e instructivo del formulario Solicitud de presentación ante la CONAL, para la incorporación al CAA como nuevo producto o proceso no contemplado en la legislación alimentaria vigente, sin antecedentes normativos.

Por otro lado, debido a los numerosos emprendimientos de carácter artesanal en la provincia de Entre Ríos, entre ellos la producción de confituras como los dulces, mermeladas y otros tipos de conservas, muy buscados y pretendidos por las personas que habitan la provincia y por el gran caudal turístico que la visita en cada temporada, creo que es de suma importancia, proponer ampliar la gama de ofertas de estos productos en conservas, orientado al desarrollo de alimentos diferenciados y saludables.



9. Bibliografía

- Acha de la Cruz, O. (1995). Contribución al estudio químico de tres especies de algas marinas peruanas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima, Perú.
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). (2023). Código Alimentario Argentino. Ministerio de Salud – ANMAT. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). (2014). Fibra Alimentaria. Nutrición y Educación Alimentaria Ficha N° 33. Disponible en: https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/Nutricion/fichaspdf/Ficha_3_3_fibraAlimentaria.pdf
- AGARGEL (2020). Agar-Agar. Disponible en: <https://agargel.com.br/en/agar-agar/>
- Aguirre, P. (2019). Alimentos funcionales entre las nuevas y viejas corporalidades. AIBR: *Revista de Antropología Iberoamericana*, 14(1), 95-120.
- Aldrete-Velasco, J., López-García, R., Zúñiga-Guajardo, S., Riobó-Serván, P., Serra-Majem, L., Suverza-Fernández, A., Esquivel-Flores M. G., Molina-Segui F., Pedroza-Islas R., Rascón-Hernández M., Díaz-Madero S., Tommasi-Pedraza J., y Laviada-Molina, H. (2017). Análisis de la evidencia disponible para el consumo de edulcorantes no calóricos. Documento de expertos. *Medicina interna de México*, 33(1), 61-83.
- Al-Jawaldeh, A., Taktouk, M., y Nasreddine, L. (2020). Food consumption patterns and nutrient intakes of children and adolescents in the Eastern Mediterranean Region: A call for policy action. *Nutrients*, 12(11), 3345.
- Alvarez, M. V., Ponce, A. G. y Moreira, M. R. (2015). Combined effect of bioactive compounds and storage temperature on sensory quality and safety of minimally processed celery, leek and butternut squash. *Journal of Food Safety*, 35(4), 560– 574.
- Alvarez, M. V., Ponce, A. G., Goyeneche, R. y Moreira, M. R. (2017). Physical treatments and propolis extract to enhance quality attributes of fresh-cut mixed vegetables. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), 13127-13130.
- AOAC (2000) Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, U.S.A.
- AOAC Official Method (2005) Official Methods of Analysis, 18th ed. AOAC International, Gaithersburg. MD, U.S.A.
- Aranda-González, I., Tamayo-Dzul, Ó., Barbosa-Martín, E., Segura-Campos, M., Moguel-



- Ordoñez, Y. y Betancur-Ancona, D. (2015). Desarrollo de una golosina tipo “gomita” reducida en calorías mediante la sustitución de azúcares con Stevia rebaudiana B. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 334–340.
- Archaina D., Rivero R., Sosa N., Baldi Coronel B. (2016). Influence of the harvesting procedure and extracting process on the antioxidant capacity of ethanolic propolis extracts. *Journal of Apicultural Research* 54, 5: 474-481.
- Archaina, D., Vasile, F., Jiménez-Guzmán, J., Alamilla-Beltrán, L., & Schebor, C. (2019). Physical and functional properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract spray dried with maltodextrin-gum arabic mixtures. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), e14065.
- Arroyo, L. K. M., & Sosa, F. R. A. (2021). Plan de negocios para la implementación de una empresa productora y comercializadora de mermeladas bajas en azúcar en Arequipa, 2021.
- Banskota, A. H., Tezuka, Y., y Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy research*, 15(7), 561-571.
- Berríos F, Muñoz M, Rubio M. 2020. Estudio de Biomateriales. Valparaíso, Chile. Disponible en: https://wiki.ead.pucv.cl/Estudio_de_Biomateriales.
- Bertasa, M., Doderó, A., Alloisio, M., Vicini, S., Riedo, C., Sansonetti, A., y Castellano, M. (2020). Agar gel strength: A correlation study between chemical composition and rheological properties. *European Polymer Journal*, 123, 109442.
- Boletín Oficial de la República Argentina (2021). Ley 27642, Promoción de la Alimentación Saludable. Buenos Aires. Disponible en: <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/252728/20211112>
- Brandle, J. E. y Telmer, P. G. (2007). Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*, 68(14), 1855–1863.
- Brown, R. J., De Banate, M. A., y Rother, K. I. (2010). Artificial sweeteners: a systematic review of metabolic effects in youth. *International Journal of Pediatric Obesity*, 5(4), 305-312.
- Cammenga, H. K., & Zielasko, B. (1996). Thermal behaviour of isomalt. *Thermochimica acta*, 271, 149-153.
- Campo Galego, (2018). El propóleo: métodos de recolección y calidad del mismo. *Xornal dixital agrario*. Disponible en: <https://www.campogalego.es/el-propoleos-metodos-de-recoleccion-y-calidad-del-mismo/>
- Carrera, H. R., Márquez M., Espinosa E. (2016). Evaluación del extracto etanólico de propóleo



- como conservante en queso cabaña. Escuela Agrícola Panamericana. Disponible en:
<https://bdigital.zamorano.edu/items/63d1c6c2-f7c3-47b6-bf9b-b48f26f639ee>
- Cavagnari, B. M. (2019). Non-caloric sweeteners and body weight. *Medicina*, 79(2), 115-122.
- Chang, S. S., y Cook, J. M. (1983). Stability studies of stevioside and rebaudioside A in carbonated beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(2), 409– 412.
- Chasquibol-Silva, N., Arroyo-Benites, E., & Morales-Gomero, J. C. (2008). Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingeniería Industrial*, (026), 175-199.
- Chupeerach, C., Yothakulsiri, C., Chamchan, R., Suttisansanee, U., Sranacharoenpong, K., Tungtrongchitr, A., y On-nom, N. (2018). The effect of coconut jelly with stevia as a natural sweetener on blood glucose, insulin and c- peptide responses in twelve healthy subjects. *Recent Patents on Food, Nutrition y Agriculture*, 9(2), 127–133.
- Cisneros Rosete, X., Murillo Chimal, A., Perea Morales, J. E., y Valdés Ávila, G. M. (2022). Diseño de un experimento para la obtención de un hidrogel con agar extraído de algas rojas de deriva de la playa Penacho del Indio, Veracruz. Disponible en:
<https://hdl.handle.net/20.500.11777/5590>.
- Codex alimentarius (1987). Vol III Programa conjunto FAO/WHO sobre Normas Alimentarias. Norma Regional Europea para Miel Codex Standard for Honey Rev. 1 p. 2.
- Corporación del Mercado Central de Buenos Aires (2018). Boletín de Frutas y Hortalizas. Convenio INTA- CMCBA N° 83. Disponible en:
<http://www.mercadocentral.gob.ar/sites/default/files/docs/boletin-INTA-CMCBA-83-zanahoria.pdf>.
- Crane, E. (2009). Bee products. En *Encyclopedia of insects* (pp. 71-75). Academic Press.
- Cuellar Molina, L. I. y Funez Alvarado, M. A. (2020). Determinación de aspartame, acesulfame K y sucralosa por espectrofotometría ultravioleta visible e infrarrojo en jugos dietéticos comercializados en el municipio de Soyapango Trabajo Final de Licenciatura. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de el Salvador. p.24. Disponible en:
<http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/3269/1/16103238.pdf>.
- Danovich, C. L. (2019). Extracción de pectina de albedo de limón mediante enzimas pécticas producidas por una levadura autóctona. Tesis de Maestría en Tecnología de los Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de Misiones. Disponible en:
https://rid.unam.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12219/2781/Danovich%20CL_2019_E



xtracci%c3%b3n%20de%20pectina.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Díaz, L. (2010). Pectinas. En *Principios básicos de bioquímica de los alimentos*. Editorial Universidad de La Serena. Chile.
- Dubey, V., Mohan, P., Dangi, J. S., & Kesavan, K. (2020). Brinzolamide loaded chitosan-pectin mucoadhesive nanocapsules for management of glaucoma: Formulation, characterization and pharmacodynamic study. *International journal of biological macromolecules*, 152, 1224-1232.
- Durán, R. y Valenzuela, A. (2010). La Experiencia Japonesa con los Alimentos FOSHU. ¿Los verdaderos alimentos funcionales? *Revista Chilena de Nutrición*, 37: 224-233.
- Dziedzic, S. Z., & Kearsley, M. W. (2012). Maltodextrins. En *Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives*. Springer Science & Business Media. pp.65/82.
- EMR - Leave it to the Expert (2022). Mercado Latinoamericano de Mermeladas, Jaleas y Conservas. Informes de Expertos. Disponible en: <https://www.informesdeexpertos.com/informes/mercado-latinoamericano-de-mermeladas-jaleas-y-conservas>
- Fisberg, M., Kovalskys, I., Gómez, G., Rigotti, A., Cortés-Sanabria L. Y., Yépez-García, M.C., Pareja-Torres, R. G., Herrera-Cuenca, M., Zalcmán Zimberg, I., Koletzko, B., Pratt, M., Moreno-Aznar L. A., Guajardo, V., Fisberg, M. R., Hermes-Sales, C., & Nogueira Previdelli, A. (2018). Total and added sugar intake: assessment in eight Latin American countries. *Nutrients*, 10(4): 389 - 406.
- Fitch, C., & Keim K. S. (2012). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Use of 739 - 58.
- Fonseca, J. R. (2022). Estudio de factibilidad de inscripción en el RNE y RNPA de Caseritos de La Villa. Tesis de Licenciatura. Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/handle/11086/30092>
- Foodtech (2020b). Maltodextrina, aditivo funcional. Disponible en: <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/maltodextrina-aditivo-funcional/>
- Foodtech (2020c). Ingredientes y aditivos alimentarios. Disponible en: Foodtech (2020d). Ingredientes y aditivos alimentarios. Disponible en:



<https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/maltodextrina-aditivo-funcional/>

- Foodtech (2022a). Debaten sobre alimentos funcionales. Disponible en: <https://thefoodtech.com/historico/debaten-sobre-alimentos-funcionales/>
- Franco D. (2012). Jaleas y mermeladas. Cadenas alimentarias. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Ministerio de Economía. Alimentos Argentinos, 53, 37-41. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/revista_53.php
- García-Almeida, J. M., Casado-Fdez, G. M., y García-Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes. Aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4): 17 - 31.
- Giacobone, G., Castronuovo, L., Tiscornia, V., y Allemandi, L. (2018). Análisis de la cadena de suministro de frutas y verduras en Argentina. *Fundación Interamericana del Corazón Argentina*, 1 - 56.
- Góngora Loza, R. E., Mendizabal Nieto, Y. T., & Zorrilla Morris, P. M. J. (2019). Plan de Negocio para la elaboración y exportación de Snack de palta liofilizada marca AVO-EMY al estado de Florida–Estados Unidos. Trabajo Final de Grado. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), Lima, Perú.
- Gonzalez, V. R., Numpaqué, M. M., & da Silva Dias, N. (2022). Pectinas: extracción, usos e importancia en la agroindustria. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(5), 5294-5309.
- Górriz J. (2019). Abordaje Diagnóstico y Terapeutico de Hipocalemia e Hipercalemia. Riesgo CV, HTA y DM. Servicio de Nefrología. Hospital Clínico Universitario. Universidad de Valencia. Disponible en: <https://www.semergencv.com/docs/cursoCARE13.pdf>
- Grembecka, M. (2015). Sugar alcohols—their role in the modern world of sweeteners: a review. *European Food Research and Technology*, 241, 1-14.
- Guidi, A., y Arandía Quiroga, M. Z. (2010). Obtención de pectina a partir de la cáscara de maracuyá mediante hidrólisis ácida. *Journal Boliviano de Ciencias*, 67.
- Gupta, E., Purwar, S., Sundaram, S. y Rai, G. K. (2013). Nutritional and therapeutic values of Stevia rebaudiana: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(46), 3343–3353.
- Gutiérrez-Cortés, C. y Suarez Mahecha, H. (2014). Antimicrobial activity of propolis and its effect on the physicochemical and sensorial characteristics in sausages. *Vitae*, 21(2), 90–96.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. Ciudad



- de México: Mc Graw Hill, 12, 20.
- IRAM-INTA (2008). Norma 15935:1 "Propóleos en bruto".
- Isla, M. I., Zampini, I. C., Ordóñez, R. M., Cuello, S., Juárez, B. C., Sayago, J. E. y Maldonado, L. M. (2009). Effect of seasonal variations and collection form on antioxidant activity of propolis from San Juan, Argentina. *Journal of Medicinal Food*, 12(6), 1334–1342.
- Jafari, N. J., Kargozari, M., Ranjbar, R., Rostami, H. y Hamedi, H. (2018). The effect of chitosan coating incorporated with ethanolic extract of propolis on the quality of refrigerated chicken fillet. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42:e13336
- JECFA. (2017). Steviol glycosides. <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=267>.
- Kenyon M.M., y Anderson R.J. (1988). Maltodextrins and low-dextrose equivalence corn syrup solids: Production and technology for the flavor industry. En: *Flavor Encapsulation*; ACS Symposium Series 370. Eds. Risch y Reineccius. American Chemical Society, Washington, DC.
- Kročko, M., Bobko, M., Bučko, O., Čanigová, M. y Ducková, V. (2014). Sensory quality, colour and oxidative stability of cured cooked ham with propolis extract. *Potravinarstvo*, 8(1), 102–106.
- Leal, M. (2016). Estudio panorámico de vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva: alimentos funcionales. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/est_agr_estudio-panoramico-alimentos-funcionales_0.pdf
- Leiva García, J. A., & Lora Suarez, M. F. (2020). Desarrollo de una jalea a base de corozo (*Bactris guineensis*) con inclusión de Inulina y *Lactobacillus casei*. Trabajo de grado para optar al título de Ingenieros de Alimentos. Universidad de La Salle. Facultad de Ingeniería. Bogotá. Disponible en https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/276
- Liu, Y., Ahmad, H., Luo, Y., Gardiner, D. T., Gunasekera, R. S., McKeehan, W. L., & Patil, B. S. (2001). Citrus Pectin: Characterization and Inhibitory Effect on Fibroblast Growth Factor-Receptor Interaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 3051-3057.
- Livesey, G. (2003). Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*, 16(2), 163-191.
- Lorenzana Rodríguez, S. (2020). Funciones de la vitamina A y disfunciones relacionadas con su carencia. Trabajo Final de Grado en Nutrición Humana y Dietética. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. Disponible en:



<https://uvadoc.uva.es/handle/10324/42180>. España.

- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release; a review. *International Journal of Food Science y Technology*, 41(1), 1-21
- Maitreedech, A., Pomasa, P., Boonsan, W., y Takeungwongtrakul, S. (2020). Development of reduced calorie strawberry crispy jelly product with stevia. *Burapha Science Journal*, 25(1), 141–150.
- Maldonado, M. (2021). Nuevos desafíos para la industria alimentaria y los nuevos conocimientos acerca del tercer cerebro. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo*; 4(4): 92-97.
- Martinez-Giron, J., figueroa-molano, A. M. y Ordóñez-santos, L. E. (2017). Effect of the addition of peach palm (*Bactris gasipaes*) peel flour on the color and sensory properties of cakes. *Food Science and Technology*, 37(3), 418-424.
- Martirosyan D. (2021). The emerging potential of functional foods in viral disease prevention. *Bioactive Compounds in Health and Disease* 3(6): 95– 99.
- Mateo-Cid, L. E., Mendoza-González, A. C., Alvarado-Villanueva, R., Ortega-Murillo, M. D. R., Ceballos-Corona, J. G. A., Sánchez-Heredia, J. D., & Méndez Guzmán, I. (2020). Lista actualizada y nuevos registros de las algas rojas (Rhodophyta) del litoral de Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91 (4): 21. Disponible en: <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3353>
- Meléndez-Martínez, A. J., Vicario, I. M., yHeredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(2), 209-215.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. (2019). Alimentos Argentinos. Catálogo de Alimentos Argentinos. Disponible en: https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/HomeAlimentos/documentos/CAT_Alimentos_Argentinos.pdf
- Ministerio de Desarrollo Social de Argentina (s.f.), ¿Qué es una alimentación saludable?. Alimentar Saberes. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/alimentarsaberes/alimentacionsaludable>
- Ministerio de Desarrollo Social de Entre Ríos. (2023). Manos entrerrianas. Disponible en: <https://www.entrerios.gov.ar/manosentrerrianas/emprendimiento/la-clarita>
- Ministerio de Salud de la Nación (2016). Guías Alimentarias para la Población Argentina, Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-08/guias-alimentarias-para-la->



poblacion-argentina_manual-de-aplicacion_0.pdf.

- Ministerio de Salud de la Nación (2019). 2º Encuesta Nacional de Nutrición y Salud ENNYS 2. Resumen ejecutivo.
- Ministerio de Salud de la Nación (2022a). Dirección de Salud Perinatal y Niñez. Manual del nutricionista, ENNyS 2. Argentina.
- Ministerio de Salud de la Nación (2022b). SARA 2: tabla de composición química de alimentos para Argentina: compilación para ENNyS 2 / 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Libro digital, PDF. Archivo Digital: descarga ISBN 978-950-38-0313-4. Disponible en: <https://filadd.com/doc/tabla-composicion-quimica-alimentos-argentina>
- Moreno, I. C. O., Haro, E. F. G., y Páez, A. L. C. (2021). Oportunidades de mercado para la innovación de alimento funcional. En XV Congreso de la Red Internacional de Investigadores en Competitividad pp: 1214-1233. Disponible en: <https://www.riico.net/index.php/riico/article/view/2038/1862>
- Muñoz Álvarez, P. (2022). Aplicación de un sistema APPCC a una industria de fabricación de mermelada. Trabajo de Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales. Escuela de Ingenierías Industriales. Universidad de Valladolid. España. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/54174/TFG-I-2233.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Naranjo, J. G., y Rodríguez, A. M. (2003). Polinización de las variedades de ciruelo japonés 'Autumn Giant' y 'Royal Diamond'. *Producción vegetal*, 99(3), 225-233.
- Ochoa M., C. I., y Ayala A., A. A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes Generales y su Aplicación en la Industria de Alimentos. *Ingeniería y Competitividad*, 6(2), 93-104.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2008). The global burden of disease: 2004 update. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43942/9789241563710_eng.pdf
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2014). Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2014. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/149296/WHO_NMH_NVI_15.1_spa.pdf?sequence=
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2015). Nota informativa sobre la ingesta de azúcares recomendada en la directriz de la OMS para adultos y niños. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154587/WHO_NMH_NHD_15.2_spa.pdf



- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2018). Alimentación sana. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2019). Aumentar el consumo de frutas y verduras para reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles. Disponible en línea en Biblioteca electrónica de documentación científica sobre medidas nutricionales.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2020). La OMS revela las principales causas de muerte y discapacidad en el mundo: 2000-2019. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-|2019>
- OPS (Organización Panamericana de la Salud) (2023). Etiquetado frontal. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/etiquetado-frontal>
- Otunola, GA y Martirosyan, D. (2021). Elección de vehículos alimentarios adecuados para productos alimentarios funcionales. *Alimentos funcionales en salud y enfermedad*, 11(2), 44-55.
- Páez, G., Marín, M., Mármol, Z., & Ferrer, J. (2005). Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 22(3), 241-251.
- Pagani, J. (1990). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. ES, Servel de Publicacions Universitat de Lleida, 131 p.
- Papagianni, M. (2007). Advances in citric acid fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical aspects, membrane transport and modeling. *Biotechnology Advances*, 25(3), 244-263.
- Paredes, J., Hernández, R., & Cañizares, A. (2015). Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de pectinas extraídas de cascós de guayaba (*Psidium guajava L.*). *Idesia (Arica)*, 33(3), 35-41.
- Parra-Coronado, A., Hernández Hernández, J. E., & Camacho-Tamayo, J. H. (2008). Estudio fisiológico poscosecha y evaluación de la calidad de la ciruela variedad Horvin (*Prunus domestica L.*) bajo tres condiciones de almacenamiento refrigerado. *Ingeniería e Investigación*, 28(1), 99-104.
- Petri, C., Albuquerque, N., Faize, M., Scorza, R., & Dardick, C. (2018). Current achievements and future directions in genetic engineering of European plum (*Prunus domestica L.*). *Transgenic research*, 27, 225-240.
- ProChile. (2017). Mermeladas. Mercado Internacional. Estudio Enexpro. Disponible en: https://acceso.prochile.cl/wp-content/uploads/2017/05/Mermeladas_ENEXPRO.pdf



- Ramesh, T., y Kalaiselvam, M. (2011). An experimental study on citric acid production by *Aspergillus niger* using *Gelidiella acerosa* as a substrate. *Indian journal of microbiology*, 51, 289-293.
- Ramos, V., Aguilera, A., & Ochoa, E. (2016). Residuos de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca* L.) para obtener pectinas útiles en la industria alimentaria. *Revista de simulación y laboratorio*, 3(9), 22-29.
- Rayaguru, K., y Khan, M. K. (2008). Post-harvest management of stevia leaves: A review. *Journal of food science and technology-Mysore*, 45(5), 391-397.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A. yang, M. y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Renna, A. (2022). Caracterización y evaluación de la calidad físico-química de nuevas variedades de zanahoria (*Daucus carota* L.) obtenidas por mejoramiento clásico, para consumo en fresco y/o industria. Tesis de Grado para Lic. en Bromatología, Universidad Nacional de Cuyo. Argentina. Disponible en: https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/17937/tesis-alexandra-renna.pdf
- Rivero R., Sosa N., Roche M., Pancrazio G., Vallejos O., y Baldi Coronel B. (2017). Desarrollo de una bebida en polvo a base de frutas finas y extracto de propóleo con propiedades funcionales. *Proceedings CD ROM (4.40)*. XVI Congreso CYTAL. Argentina.
- Rodríguez Muñoz, L. (2016). Estudio de la influencia de la publicidad de productos de alimentación basada en la imagen corporal en los adolescentes. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona, recurso electrónico pp: 578. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/record/168527>
- Rojas Rojas C. E. (2017). Plan de marketing y estudio técnico para un néctar de ciruela variedad Horvin (*Prunus sp*), con propiedades nutraceuticas. Trabajo de grado para obtener el título de Administrador de Empresas Agropecuarias. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Disponible en: <https://repositorio.uptc.edu.co/handle/001/2604>
- Sakai, T., Sakamoto, T., Hallaert, J., & Vandamme, E. J. (1993). Pectin, Pectinase, and Protopectinase: Production, Properties, and Applications. *Advances in applied microbiology*, 39, 213-294.
- Sánchez, M. y Corella, R. (2008). Extracción, identificación y prueba microbiológica del agar extraído de *Gracilaria fortissima* Dawson (*Rhodophyta, Gigartinales, Gracilariaceae*).



- Uniciencia*, 22(1-2), 99-106.
- Savita, S. M., Sheela, K., Sunanda, S., Shankar, A. G. y Ramakrishna, P. (2004). Stevia rebaudiana – A functional component for food industry. *Journal of Human Ecology*, 15(4), 261–264.
- Sentko, A., & Willibald-Ettle, I. (2012). Isomalt. Sweeteners and sugar alternatives. *Food Technology*, 243-274.
- Shahidi F., y Han X.Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. Critical Reviews. *Food Science and Nutrition*, 33, 501–547.
- Sheiham, A. y James, W. P. T. (2013). A new understanding of the relationship between sugars, dental caries and fluoride use: Implications for limits on sugars consumption. *Public Health Nutrition*, 17(10), 2176–2184.
- Silva Pérez, P. E. (2022). Estudio de las propiedades químicas y funcionales de los alimentos recomendados durante la pandemia de covid-19. Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de Químico de Alimentos. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25728/1/FCQ-CCS-SILVA%20PABLO.pdf>
- Silva, L. B., Queiroz, M. B., Fadini, A. L., da Fonseca, R. C., Germer, S. P., & Efrain, P. (2016). Chewy candy as a model system to study the influence of polyols and fruit pulp (açai) on texture and sensorial properties. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 268-274.
- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sriamornsak, P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. *Silpakorn University International Journal*, 3(1-2), 206-228.
- Tandel, K. (2011). Sugar substitutes: Health controversy over perceived benefits. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 2(4): 236 - 244.
- Thakur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K., & Rao, M. A. (1997). Chemistry and uses of pectina review. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 37(1), 47-73.
- Thamnopoulos, I. A. I., Michailidis, G. F., Fletouris, D. J., Badeka, A., Kontominas, M. G. y Angelidis, A. S. (2018). Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. *Food Microbiology*, 73, 168– 176.
- Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M. y Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for



- its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–13.
- Torresani, M. E., Cardone, C., Palermo, C., Rodríguez, V., Viegner, V., y Garavano, C. (1999). Edulcorantes no nutritivos. Utilización por la industria y consumo en productos alimenticios. *Diaeta*, 18(86): 34 - 37
- Van Buren, J. P. (1991). Function of pectin in plant tissue structure and firmness. *The chemistry and technology of pectin*, 1-22.
- Vasco, M. F. (2022). Uso de recubrimientos comestibles para limitar los cambios nutricionales y fisiológicos en zanahorias mínimamente procesadas. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. Argentina. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/139702>
- Villaroya, L. A., Espina, L., García-Gonzalo, D., Bayarri, S., Pérez, C. y Pagán, R. (2015). Bioactive properties of a propolis-based dietary supplement and its use in combination with mild heat for apple juice preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 205, 90–97
- Vreman, R. A., Goodell, A. J., Rodriguez, L. A., Porco, T. C., Lustig, R. H., & Kahn, J. G. (2017). Health and economic benefits of reducing sugar intake in the USA, including effects via non-alcoholic fatty liver disease: a microsimulation model. *BMJ Open*, 7(8): 1 - 17.
- Wagh, V. D. (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013: 308249.
- Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elías, L. G. (1992). Pruebas orientadas al consumidor. *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*. CIID, Ottawa, ON, CA.
- Whitehouse, C. R., Boullata, J., y McCauley, L. A. (2008). The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN Journal*, 56(6), 251-261.
- Wohlfeiler Altavilla, J., Alessandro, M. S., Cavagnaro, P. F., Oghievski, D., y Galmarini, C. R. (2021). Floración en zanahoria (*Daucus carota L.*): respuesta de diversos genotipos a la vernalización y fotoperiodo. 41° Congreso Argentino de Horticultura; V Simposio de Aromáticas, Medicinales y Condimenticias. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/175357>
- Zapata, A. E. T. (2020). Alimentos funcionales, bases conceptuales y su aplicación en el diseño de planes de alimentación. *Biociencias*, 15(1).

