

**UNIVERSIDAD NACIONAL INTERCULTURAL DE LA AMAZONIA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



---

---

**OPTIMIZACIÓN DE LA PROPORCIÓN DE HOJAS SECAS DE GUANÁBANA  
(*Annona muricata*), NONI (*Morinda citrifolia*) Y TE VERDE (*Camellia Sinensis* L.) EN  
RELACION AL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ATRIBUTOS  
SENSORIALES.**

---

---

*Tesis para optar el título de*  
**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**BACHILLER:**

**ENA SILVIA ARIANN FLORES VASQUEZ**

**ASESOR:**

**Ing. IRIS OLIVIA RUIZ YANCE**

**YARINACOCHA – UCAYALI**

**PERÚ - 2018**

## **Dedicatoria**

*A mi familia, especialmente a mis mamás Ena y Sonia, por brindarme su amor en todo momento siendo ellas el apoyo incondicional y ejemplo para no rendirme ante las adversidades.*

*A mi hermano Miguel por su apoyo, cariño y por estar en los momentos más importantes de mi vida.*

*Y a Marco mi gran amor, por su comprensión y confianza que me ha demostrado en los momentos difíciles.*

**Ena.**

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios que me ilumina en todo momento, por brindarme la fortaleza y sabiduría para seguir incansablemente hacia la meta establecida.*

*A la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia, Facultad de Ingeniería y Ciencias Ambientales, Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por ser la casa de estudios donde he obtenido los conocimientos para ser un profesional de bien.*

*A mis docentes por instruirme en el proceso del profesionalismo de manera eficaz y reforzando en mi los principios de ética y moral, especialmente a los que me asesoraron para culminar esta tesis.*

*A los buenos amigos que conocí en la universidad, por el apoyo a lo largo de este camino.*

**Ena.**

## Índice General

	Pág.
RESUMEN.....	x
ABSTRACT .....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	12
II. REVISION DE LITERATURA .....	14
2.1. Antecedentes .....	14
2.2. Bases teóricas .....	18
2.2.1. Guanábana ( <i>Annona muricata</i> L.) .....	18
a. Generalidades.....	18
b. Descripción botánica.....	18
c. Descripción taxonómica.....	18
d. Usos .....	18
2.2.2. Noni ( <i>Morinda citrifolia</i> L.).....	19
a. Generalidades.....	19
b. Descripción botánica.....	19
c. Descripción taxonómica.....	19
d. Composición química.....	20
2.2.3. Té ( <i>Camellia sinensis</i> L.) .....	20
a. Generalidades.....	20
b. Descripción botánica.....	20
c. Descripción taxonómica.....	20
d. Composición química.....	21
e. Tipos de té .....	21
2.2.4. Metabolitos secundarios .....	23
a. Polifenoles.....	23
b. Métodos de determinación de polifenoles .....	30
c. Métodos de conservación de metabolitos .....	31
2.2.5. Extracción de metabolitos.....	34
a. Percolación .....	34
b. Maceración.....	34
c. Decocción .....	34
d. Infusión.....	34
e. Digestión .....	35
2.2.6. Infusiones .....	35
2.2.7. Mezclas.....	36
a. Aplicación del diseño de mezclas .....	36
2.2.8. Metodología de superficie de respuesta.....	37
a. Metodología de superficie de respuesta para mezcla .....	37
b. Técnicas de optimización.....	38
2.2.9. Análisis sensorial.....	39
a. Los Jueces.....	39

b. Las Pruebas.....	40
c. Pruebas sensoriales afectivas.....	40
III. METODOS.....	42
3.1. Ubicación y descripción del área de estudio .....	42
3.1.1. Ubicación .....	42
3.1.2. Descripción del área de estudio .....	42
3.2. Identificación y descripción del material experimental .....	42
3.2.1. Identificación del material experimental .....	42
3.2.2. Descripción del material experimental.....	42
a. Equipos .....	42
b. Reactivos .....	42
c. Materiales.....	43
3.3. Variables .....	43
3.4. Población y muestra .....	43
3.4.1. Población .....	43
3.4.2. Muestra .....	44
3.5. Tratamientos.....	44
3.5.1. Efecto de la temperatura en el contenido de polifenoles totales.....	44
3.5.2. Efecto de la mezcla de hojas en el contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales de la infusión.....	44
3.6. Metodología .....	45
3.6.1. Procedimiento para la obtención del pulverizado de las hojas.....	45
a. Recolección y selección de las hojas .....	45
b. Pesado .....	46
c. Desinfección.....	46
d. Secado .....	46
e. Pulverizado .....	46
f. Pesado .....	46
3.6.2. Preparación del extracto acuoso .....	47
a. Muestra pulverizada de hojas .....	47
b. Pesado .....	47
c. Dilucion .....	47
d. Hervor .....	47
e. Filtrado .....	48
f. Envasado .....	48
3.6.3. Evaluación de polifenoles totales por método Folin-Ciocalteu.....	48
a. Preparación de la solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20%.....	48
b. Preparación del ácido gálico al 1000 ug/mL .....	48
c. Determinación de la curva estándar.....	48
d. Cuantificación de polifenoles totales.....	49
3.6.4. Procedimiento para la preparación de los extractos acuosos de la mezcla .....	49
a. Formulación y preparación del filtrante.....	49
b. Extracción acuosa de la mezcla.....	50
c. Metodología experimental para la obtención de polifenoles .....	50

3.6.5. Análisis sensorial.....	50
a. Preparación de la infusión.....	50
b. Evaluación sensorial.....	50
3.6.6. Optimización de la mezcla.....	51
3.7. Recolección de datos.....	51
3.7.1. Fuentes de información .....	51
3.7.2. Unidad experimental y unidad de medición.....	51
3.7.3. Tipo de muestreo .....	51
3.7.4. Técnicas para la recolección de datos .....	51
3.8. Procesamiento de los datos .....	52
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
4.1. Efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles.....	53
4.1.1. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de té verde.....	53
4.1.2. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de guanábana .....	55
4.1.3. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de noni.....	57
4.2. Contenido de polifenoles en la infusión obtenida de la mezcla de hojas .....	58
4.3. Atributos sensoriales de la infusión obtenida de la mezcla de hojas .....	60
4.4. Formulación de la mezcla óptima de la infusión obtenida de la mezcla de hojas.....	65
V. CONCLUSIONES.....	69
VI. RECOMENDACIONES.....	70
VII. BIBLIOGRAFÍA .....	71
VIII. ANEXOS .....	76

## Índice de Cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Principales componentes del té (8% del peso de sólidos).....	21
<b>Cuadro 2</b> Clasificación de tipos de té. ....	22
<b>Cuadro 3</b> Compuestos fenólicos en plantas .....	25
<b>Cuadro 4</b> Operacionalización de variables .....	43
<b>Cuadro 5</b> Representación del diseño simplex centroide aplicado.Los números de 1 – 10 representan a las mezclas .....	49
<b>Cuadro 6.</b> ANOVA para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de té verde por temperatura de secado .....	53
<b>Cuadro 7.</b> Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales (mg EAG/100 g) en el extracto acuoso de té verde.....	53
<b>Cuadro 8.</b> Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado.....	55
<b>Cuadro 9</b> Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de guanábana .....	55
<b>Cuadro 10</b> Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto de noni por temperatura de secado. ....	57
<b>Cuadro 11</b> Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de noni por temperatura de secado.....	57
<b>Cuadro 12</b> Cantidad de hoja por muestra de infusión, según la codificación establecida en el diseño de mezcla.....	59
<b>Cuadro 13.</b> Contenido de polifenoles totales en la infusión preparada con la mezcla de hojas secas de Té verde, Noni y Guanábana.....	59
<b>Cuadro 14.</b> Prueba de Friedman para el atributo SABOR. ....	61
<b>Cuadro 15.</b> Prueba de Friedman para el atributo OLOR.....	62
<b>Cuadro 16.</b> Prueba de Friedman para el atributo COLOR. ....	64
<b>Cuadro 17.</b> Optimización del contenido de polifenoles totales en la infusión .....	66
<b>Cuadro 18</b> Contenido de polifenoles totales en los extractos acuosos de las hojas secas. .	77
<b>Cuadro 19.</b> Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Té Verde.....	78
<b>Cuadro 20.</b> ANOVA para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de Té Verde por Temperatura de secado.....	78
<b>Cuadro 21.</b> Promedios para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de Té Verde por Temperatura de secado.....	78
<b>Cuadro 22.</b> Verificación de Varianza. ....	78
<b>Cuadro 23.</b> Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana.....	79

<b>Cuadro 24.</b> Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado.....	79
<b>Cuadro 25.</b> Promedio para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado.....	79
<b>Cuadro 26.</b> Verificación de Varianza.....	79
<b>Cuadro 27.</b> Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni.....	80
<b>Cuadro 28.</b> Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto de Noni por temperatura de secado.....	80
<b>Cuadro 29.</b> Promedio para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni por temperatura de secado.....	80
<b>Cuadro 30.</b> Verificación de Varianza.....	80
<b>Cuadro 31.</b> Resultados estimados para el contenido de polifenoles totales . considerando el modelo cuadrático.....	81
<b>Cuadro 32.</b> Efectos estimados del modelo completo para el contenido de . polifenoles totales.....	81
<b>Cuadro 33.</b> Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en la mezcla.	82
<b>Cuadro 34.</b> Resultados de ajuste del modelo cuadrático para el contenido de polifenoles totales (PT) de la mezcla.....	82



## Índice de Figuras

<b>FIGURA 1.</b> Principales grupos de polifenoles de alimentos. ....	24
<b>FIGURA 2.</b> Clases de polifenoles: las proantocianidinas (taninos condensados), los galos y elagitaninos (taninos hidrolizables) y los florotaninos. ....	26
<b>FIGURA 3.</b> Compuestos representativos de flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y estilbenos. ....	27
<b>FIGURA 4.</b> Diagrama de flujo para la obtención de la muestra pulverizada. ....	45
<b>FIGURA 5.</b> Diagrama de flujo de la preparación del extracto acuoso. ....	47
<b>FIGURA 6.</b> Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de té verde. ....	54
<b>FIGURA 7.</b> Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de guanábana. ....	56
<b>FIGURA 8.</b> Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni. ....	58
<b>FIGURA 9.</b> Diagrama de caja y bigotes para el atributo SABOR. ....	62
<b>FIGURA 10.</b> Diagrama de caja y bigotes para el atributo OLOR. ....	63
<b>FIGURA 11.</b> Diagrama de caja y bigotes para el atributo COLOR. ....	65
<b>FIGURA 12.</b> Superficie de respuesta para el contenido de polifenoles totales en la infusión. ....	67
<b>FIGURA 13.</b> Contornos de la superficie de respuesta para el contenido de polifenoles totales en la infusión. ....	68
<b>FIGURA 14.</b> Curva patrón para la concentración de Ácido Gálico. Ecuación de regresión y Coeficiente de Correlación. ....	77
<b>FIGURA 15.</b> Diagrama de superficie de respuesta para el contenido de polifenoles totales de la mezcla - MINITAB. ....	83
<b>FIGURA 16.</b> Diagrama de contorno para el contenido de polifenoles totales de la mezcla - MINITAB. ....	83
<b>FIGURA 17.</b> Diagrama de traza para polifenoles Combinación de referencia: 0.65 0.35 0.0 los componentes de la mezcla. ....	84

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue optimizar mediante el diseño de experimentos de mezclas las proporciones de la infusión de hojas secas y pulverizadas té verde (*Camellia sinensis* L.), noni (*Morinda citrifolia*) y guanábana (*Annona muricata*) en relación al contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales. Las hojas de noni y guanábana que se recolectaron del distrito de Yarinacocha, mientras que las de té verde se recolectaron del Centro Poblado La Divisoria, provincia de Padre Abad, región Ucayali, se secaron en estufa a las temperaturas de: 50°C, 60°C y 70°C. La determinación de polifenoles totales se realizó mediante el método de Folin Ciocalteu. Se observó que el contenido de polifenoles totales se vio afectado por la temperatura. El mayor contenido de polifenoles para las hojas de té verde (454.52 mg EAG/100 G) se obtuvo a 50°C; para las hojas de noni (871.49 mg EAG/100 G) se obtuvo a 60°C; mientras que para las hojas de guanábana (805.76 mg EAG/100 G) se obtuvo a la temperatura de 70°C. La optimización de la mezcla determinó que el máximo contenido de polifenoles totales (208.135 mg/mL) se obtiene cuando la proporción de la mezcla de hojas es de: 0.00 para té verde, 0.352 para noni y 0.648 para guanábana. Se detectó un sinergismo negativo respecto al contenido de polifenoles totales al mezclar las hojas. Las infusiones con mayores puntajes para los atributos sabor, olor y color fue la mezcla cuya proporción fue: té verde: 0.00; noni: 0.00 y guanábana: 2.00.

**Palabras clave:** té verde, noni, guanábana, polifenoles totales, mezcla, optimización, evaluación sensorial.

## ABSTRACT

The objective of the research was to optimize the proportions of the infusion of dry leaves and powdered green tea (*Camellia sinensis* L.), Noni (*Morinda citrifolia*) and Soursop (*Annona muricata*) in relation to the content of polyphenols, totals and sensory attributes. The leaves of Noni and Guanábana that were collected from the district of Yarinacocha, while those of Green Tea were collected from the La Divisoria Village Center, Padre Abad province, Ucayali region, were dried in a stove at temperatures of: 50 ° C, 60 ° C and 70 ° C. The determination of total polyphenols was carried out using the Folin Ciocalteu method. It was observed that the total polyphenol content was affected by temperature. The highest polyphenol content for green tea leaves (454.52 mg EAG / 100 G) was obtained at 50 ° C; for Noni leaves (871.49 mg EAG / 100 G) was obtained at 60 ° C; while for the leaves of Soursop (805.76 mg EAG / 100 G) it was obtained at a temperature of 70 ° C. The optimization of the mixture determined that the maximum content of total polyphenols (208.135 mg / mL) is obtained when the proportion of the mixture of leaves is: 0.00 for Green tea, 0.352 for Noni and 0.648 for Soursop. A negative synergism was detected regarding the total polyphenol content when the leaves were mixed. The infusions with higher scores for flavor, smell and color attributes was the mixture whose proportion was: Green tea: 0.00; Noni: 0.00 and Soursop: 2.00.

**Key words:** Green tea, Noni, Soursop, total polyphenols, mixture, optimization, sensory evaluation.

## I. INTRODUCCIÓN

Actualmente debido al alto costo y a los problemas colaterales de la medicina convencional están desarrollando la demanda de antiguas prácticas medicinales de origen natural, preventivas y correctivas, como las infusiones. Las infusiones son productos líquidos que se obtienen introduciendo una sustancia orgánica, por lo general, de origen herbal, en agua caliente para que queden en ésta sus partes solubles (Vera 2003). En el Perú se producen a nivel artesanal diversas bebidas calientes, las cuales por lo general se usan con fines medicinales”. Durante mucho tiempo estos remedios naturales fueron el principal y único recurso que disponían los hombres para aliviar enfermedades, se usaban mezclas o tés de hierbas para tratar sus males o enfermedades (Muñoz 2009). Lo admirable es que los ingredientes activos de algunas de estas bebidas, se encuentran todavía en las modernas farmacopeas y tienen un uso terapéutico (Beltrán 2011).

Más del 80% de los antimicrobianos empleados hoy en día proviene de fuentes naturales (Escalona, 2011). Hay numerosas investigaciones sobre la actividad biológica de las plantas, especialmente de sus hojas. Existe evidencia de la contribución de los polifenoles en la prevención de enfermedades cardiovasculares, anticancerígenas y administrados como suplementos o como parte de algunos alimentos mejoran el estado de salud (Lomeli, 2011).

Uno de los problemas a los que se enfrentan muchas empresas en la actualidad del sector industrial, construcción, alimenticia, etc., es la falta de optimización en sus procesos y de determinación exacta de los componentes a utilizar, así como la falta de herramientas que les ofrezca resultados precisos para sus procesos particulares, ya que no todas las herramientas pueden ser aplicados a todos los tipos de procesos, ya que cada proceso tiene características que deben ser analizadas de modo específico (Puente 2015)

En la presente investigación se planteó realizar mezclas de hojas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*), y té verde (*Camellia Sinensis* L.) con el fin de determinar la mezcla óptima que contenga la mayor cantidad de polifenoles totales y buenos atributos sensoriales. Formulándose el problema: ¿La optimización del contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales de la infusión preparada a partir de la mezcla de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis*) permitirá establecer las proporciones de la mezcla?

Los resultados del trabajo de investigación ayudará a visualizar la posibilidad de dar un valor agregado a las hojas de diversas plantas y de esta manera la población tendrá el conocimiento y la aplicación de la prevención de diferentes enfermedades como el colesterol, enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas. Además, permitirá que la población conozca la importancia de las mezclas de hojas estudiadas que ayudarán a una mejor calidad de vida en la comunidad. Por otro lado, aportará a la agroindustria en la formulación de una nueva

mezcla de hoja en filtrante, con un potencial comercial, debido a que puede ser producido a gran escala. Por último, reunirá toda la información relevante e importante sobre las mezclas de hojas. Gracias a este estudio se sistematizará la metodología para la optimización de mezclas de hojas de especies vegetales, que incluye extracción de materia prima, procesamiento, optimización y análisis sensorial. El objetivo general de la investigación fue, optimizar mediante el diseño de experimentos de mezclas las proporciones de la infusión de hojas secas y pulverizadas té verde (*Camellia sinensis* L.), noni (*Morinda citrifolia*) y guanábana (*Annona muricata*) en relación al contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales. Y los objetivos específicos fueron , Evaluar el efecto de la temperatura de secado (50, 60 y 70°C) en el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis* L.). Evaluar el contenido de polifenoles en la infusión obtenida a partir de la mezcla de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis* L.). Evaluar los atributos sensoriales (color, olor y sabor) de la infusión obtenida a partir de la mezcla de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis* L.). Evaluar la formulación de la mezcla optima de la infusión obtenida a partir de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis* L.), en relación al contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales.

Mientras que, la hipótesis fue: La optimización del contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales de la infusión preparada a partir de la mezcla de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis*) permite establecer las proporciones de la mezcla.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

Gayoso d V. (2014) realizó un estudio sobre la calidad antioxidante de 40 té de Asia y África para determinar los fenoles totales de diferentes té por el Método de Folin-Ciocalteu, la capacidad antioxidante por el método de CUPRAC, la capacidad antirradical por el método del radical DPPH, y el análisis comparativo de distintos té por HPLC, realizó infusiones utilizando un gramo de té en 50 mL de agua en temperaturas de 80°C a 100°C, según sea la especie, llegó a las conclusiones:(a) los té verdes Matcha, Sencha y Gyokuro Japoneses son los más ricos en fenoles totales, los té negros, oolong y puerh tienen valores sustancialmente más bajos; (b) la capacidad antioxidante de los té determinados por el método de CUPRAC evidenció una mayor capacidad antioxidante de los té Matcha, Sencha y Gyokuro; (c) la capacidad antirradical de los té indicaron resultados similares; (d) los resultados obtenidos por los métodos de Folin-Ciocalteu, CUPRAC y DPPH sugieren que la actividad antioxidante se debió esencialmente a los compuestos polifenólicos presentes en el té, principalmente al epigallocatechingalato; (e) la extracción de los fenoles totales aumentan con los tiempos de extracción (estándar, 5 y 10 minutos); (f) existen diferencias en el contenido polifenólico y las capacidades antioxidantes y antirradicales de los té analizados; (g) los resultados por HPLC muestran un alto contenido en cafeína que sugiere una alteración en los té analizados; (j) los resultados obtenidos de las distintas catequinas en los diferentes té analizados por HPLC son muy diferentes en los distintos té, siendo mayores en los té verdes y presentan una correlación alta con los valores obtenidos en los análisis espectrofotométricos.

Vit *et al.* (2014), realizaron una investigación para comparar la composición proximal (humedad, cenizas, proteínas y extracto etéreo), contenido de flavonoides y polifenoles, así como la actividad antioxidante, en extractos etanólicos y metanólicos de la pulpa, semillas y hojas frescas y secas de *Annona muricata* L. recolectados en Mérida, Venezuela, observaron con la caracterización fisicoquímica se aprecia que las hojas secas tienen el menor contenido de humedad, y consecuente mayor contenido de cenizas, extracto etéreo, proteínas y carbohidratos, las semillas tienen un elevado contenido de grasas (25,75g/100g); observaron que, en general, los valores de los tres parámetros en estudio: flavonoides, polifenoles y proteínas, son mayores cuando se usa etanol como solvente en la extracción, concluyendo que: (a) la actividad antioxidante de las fracciones estudiadas de *A. muricata* fue mayor en extractos etanólicos que en extractos metanólicos, al igual que el contenido de flavonoides y polifenoles; (b) en base

a la bioactividad estudiada, la pulpa de la guanábana representa un recurso con amplias posibilidades de utilización terapéutica.

Muñoz-Velásquez *et al.* (2012), realizaron un estudio con el objeto de evaluar el contenido fenólico, la capacidad antioxidante y la actividad antiinflamatoria de infusiones comerciales de hierbabuena (*Mentha piperita* L.) marcas A-D, limón (*Cymbopogon citratus*) marcas A-D, manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) marcas A-D, árnica (*Heterotheca inuloides*) marca A y boldo (*Peumus boldus* Molina) marca A, obtenidas en un supermercado de México, utilizando técnicas espectrofotométricas y HPLC. Infusiones con 200 mL de agua destilada a punto de hervir, con 1 g de material de té, dejándose reposar 10 minutos protegidos de la luz con aluminio y con una agitación ligera cada 2 minutos, dejándose enfriar a temperatura ambiente; para el análisis de HPLC, las infusiones se liofilizaron previamente. Concluyeron que: (a) a pesar de que la capacidad antioxidante (principalmente la actividad antirradical y el poder reductor) está estrechamente relacionada con los compuestos fenólicos, también cuantificados por HPLC, observaron diferencias entre las diversas infusiones y sus marcas comerciales; (b) la infusión de boldo de la marca comercial A presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos, seguida de las infusiones de hierbabuena marcas A - D; (c) la infusión de boldo de la marca A mostró la mayor capacidad antioxidante por la técnica ABTS, seguida de las infusiones de hierbabuena marcas A - D por el método FRAP; mientras que, las cuatro marcas comerciales de las infusiones de manzanilla y hierbabuena mostraron la mayor actividad quelante; (d) la marca comercial B de las infusiones de manzanilla y limón presentaron la mayor actividad antiinflamatoria medida por la inhibición de COX<sup>-2</sup>; y (e) los resultados sugirieron que las infusiones herbales evaluadas, basadas en la preferencia de consumo entre la población mexicana, tienen propiedades biológicas con un potencial benéfico para la salud humana.

Lomelí (2011), realizó un estudio con cuatro tipos de infusiones de diferentes marcas de México: té verde (*Camellia sinensis*) de la marca Lagg's, Manzanilla (*Matricaria recutita*) de la marca Lagg's, limón (*Cymbopogon citratus*) de la marca Mc Cormick y hierbabuena (*Mentha spicata*) de la marca Therbal. Determinó el efecto del consumo de infusiones herbales sobre alteraciones en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo en un modelo de obesidad, llegó a las conclusiones (a) el té verde presentó las mayores concentraciones de taninos, fenoles totales; la infusión de hierbabuena mostró mayores concentraciones de flavonoides. En la infusión de alcachofa detectó concentraciones de fenoles totales y flavonoides similares al resto de las infusiones comerciales; en la infusión de toronja fueron muy bajas las concentraciones; (b) el té verde mostró baja concentración de IC<sub>50</sub> en las técnicas *in vitro*, seguido de la infusión de hierbabuena; (c) en los estudios *in vivo*, tanto el consumo de alimentos como la ingesta calórica fue menor

en los grupos tratados con el té verde y la infusión de limón. Los tratamientos promovieron una menor ganancia de peso corporal, lo que se correlacionó significativamente con la reducción de los parámetros de adiposidad evaluados; (d) Las infusiones redujeron la concentración de triglicéridos sanguíneos hasta en 54% con respecto al control obeso; se observó una disminución del colesterol total hasta en un 18%"; (e) el té verde y la infusión de hierbabuena redujeron las concentraciones séricas de leptina hasta un 68% con respecto al control obeso; (f) Las infusiones redujeron los niveles de estrés oxidativo en tejido adiposo (hasta del 50%), observándose un mejor efecto con las infusiones de alcachofa y toronja; y (g) existe efectos favorables de las infusiones bajo estudio sobre los parámetros evaluados. El té verde y las infusiones de alcachofa y toronja mostraron los resultados más benéficos.

Escalona (2011), realizó un estudio con las hojas del tamarindo (*Tamarindus indica* L.) extraída de Santiago de Cuba, con el objeto de evaluar desde el punto de vista fitoquímico y pre-clínico sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas con fines medicinales, llegando a las conclusiones: (a) Las hojas de *Tamarindus indica* L., presentó veintiún compuestos orgánicos diversos, y elementos inorgánicos. Los compuestos químicos identificados, como flavonoides y ácidos grasos, permiten relacionar el fitocomplejo en cuestión con la potencial actividad antioxidante y antimicrobiana referida por la población en el empleo etnobotánico; (b) la evaluación de la influencia de la concentración de etanol y tiempo de humectación en el proceso de extracción de los metabolitos de las hojas de *Tamarindus indica* L., permitió encontrar un método de extracción que permita obtener elevada concentración de fenoles y flavonoides totales: etanol al 70% como solvente y un tiempo de humectación de 90 minutos; (c) la caracterización del extracto en etanol al 70% de hojas de *Tamarindus indica* L. y sus fracciones, permitieron comprobar la existencia de una diversidad fitoquímica, destacándose la presencia de compuestos mayoritarios como ácidos grasos, sustancias flavonólicas y minerales, las concentraciones varían en las distintas fases del ciclo vegetativo. La mayor acumulación de metabolitos se observó en la etapa de fructificación; (d) el extracto fluido en etanol al 70% de hojas de *Tamarindus indica* L. mostró una buena actividad antioxidante en los modelos *in vitro*, en varios de ellos a concentraciones inferiores a sus fracciones. La evaluación de la inhibición de la producción de óxido nítrico confirmó que la capacidad antioxidante, no depende exclusivamente de la concentración de fenoles y flavonoides totales; (e) la actividad antimicrobiana de las hojas de hojas de *Tamarindus indica* L. se asocia a la acción directa de los componentes presentes en los extractos y no a la estimulación del sistema del complemento.

Vásquez *et al.* (2012), determinaron el grado de aceptabilidad de Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) en infusión en una bebida de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.). Evaluaron el efecto del tiempo de infusión y concentración de Stevia (*Stevia rebaudiana*



B.) (1-4 minutos y 1-3 g/300mL respectivamente) sobre el grado de aceptabilidad en una bebida caliente de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L). Utilizaron la Metodología de Superficie de Respuesta con un Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) a través de 11 ensayos. La evaluación del grado de aceptabilidad lo realizaron con un panel sensorial de 40 panelistas. Encontraron que el grado de aceptabilidad, presentó un modelo matemático de segundo orden, estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ).

Silva (2012), publicó los resultados de la investigación "Optimización del proceso de extracción supercrítica de los polifenoles de la vaina de tara (*Caesalpinia spinosa*)". Aplicó un diseño factorial completo  $2^3$  con dos puntos centrales; las variables fueron: presión (450-550 bar), temperatura (35-70°C), co-solvente etanol (5-10%). El rendimiento de extracción de los polifenoles presentó una relación directa con la presión y la temperatura. Estudió la curva de extracción de polifenoles en el tiempo y determinó la actividad antioxidante del extracto supercrítico por DPPH y Folin-Ciocalteu.

Almajano y Segovia (2012), en la investigación: "Optimización de la extracción de compuestos con actividad antioxidante en residuos de borraja", usaron el método de superficie de respuesta (RSM) para optimizar la extracción de sustancias antioxidantes. Los solventes que utilizaron fueron etanol y agua. El diseño experimental se basa en uno central compuesto. El rango de las variables son 80-60°C, 60-30 % en etanol (V/V) y 35-25 min. La superficie muestra puntos óptimos y queda demostrada la presencia de polifenoles y su capacidad antioxidante.

Arroyo *et al.* (2009) realizaron una investigación en Tingo María con pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 con el objetivo de determinar la eficacia y seguridad de cápsulas de extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) más glibenclamida para un mejor control de los niveles glicemia, comparado con la administración de glibenclamida sola, el rango de edad de los pacientes fue entre 38 y 54 años, encontrándose disminución del nivel de glicemia, siendo mayor el efecto en aquellos que recibieron guanábana más glibenclamida. Se presentó efectos adversos en 5 pacientes; dos de ellos refirieron dolor urente en epigastrio asociado en uno a náuseas, y en otros 3 solo náuseas, no observándose alteración de los exámenes de laboratorio, concluyendo que "el uso de las cápsulas conteniendo extracto etanólico de *Annona muricata* L más glibenclamida durante 30 días produjo una mayor disminución de los niveles de glicemia en diabéticos tipo 2".

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. Guanábana (*Annona muricata* L.)

#### a. Generalidades

La guanábana es oriunda del Perú y se cultiva en la mayor parte de América tropical, en Colombia cuenta con pocas áreas sembradas, siendo muy escasos los cultivos tecnificados. Sin embargo, se puede mencionar cultivos en el Valle del Cauca, Santander, Huila y en el Caribe colombiano. La *Annona muricata*, guanábana o graviola, es un árbol endémico del Caribe, México, Centro y Sudamérica, estrechamente relacionado con la chirimoya, en la selva peruana, se cultiva en los Departamentos de Loreto, San Martín y Ucayali (Soplin 2015).

#### b. Descripción botánica

La guanábana es un arbusto que alcanza entre cinco y nueve metros de altura, de madera y hojas suaves, perennes, de 6 a 20 cm de largo y de 2 a 7 cm de ancho, de forma oblonga o elíptica y de mal olor. Sus flores que son pequeñas (4.5 cm de longitud) emergen en cualquier lugar del tallo o ramas. Se multiplica por semilla o por injerto. Crece bien en alturas inferiores de los 1000 msnm, en zonas de clima cálido y seco con temperaturas medias de 25 a 28°C, con una precipitación anual de más de 1000 mm y una estación seca marcada. No es exigente en cuanto a suelos, pero es sensible a la asfixia. (Soplin, 2015).

#### c. Descripción taxonómica

Según Chicaiza *et al.* (2003), la clasificación taxonómica de la guanábana es:

Reino	:	Plantae
División	;	Angiospermae
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	.	Magnoliales
Familia	:	Annonaceae
Género	:	<i>Annona</i>
Especie	:	<i>A. muricata</i> L.

#### d. Usos

Se consume como fruta entera o en ensaladas de frutas. Se utiliza como materia prima para preparar jugos, helados, postres y tortas caseras. Se comercializa la pulpa de guanábana natural o congelada, concentrado, mermelada, néctar, jaleas y puré. La fruta es muy apreciada para bebidas, y los países productores exportan jugo en presentaciones industriales o en latas para consumo final. Lo

que más destaca entre las propiedades medicinales es que es anticancerígena, por contener en sus hojas unos compuestos naturales esencial para combatir el cáncer sin causar daño al resto de células sanas. Seguido de un sinnúmero de otras bondades que nos brinda como ser antiparasitario, vasodilatador, antiespasmódico, antidiabético (Soplin, 2015).

### 2.2.2. Noni (*Morinda citrifolia* L.)

#### a. Generalidades

Noni es una planta perenne y es posible encontrar frutos en diferentes estados de madurez sobre la misma planta y al mismo tiempo. Bajo condiciones favorables, el arbusto tiene fruta alrededor de los nueve a los doce meses después de plantada. En esa etapa, los frutos pueden cosecharse pero generalmente son pequeños y el rendimiento por árbol es bajo. Algunos productores deciden no cosechar en el primer año y podan el arbusto con el fin de que se desarrolle de una forma más vigorosa (Ulloa *et al.* 2012).

#### b. Descripción botánica

Es un árbol pequeño, de hasta 4 m de altura, muy ramificado desde la base cuya copa es compacta, verdosa y llamativa. Presenta hojas opuestas, grandes y lustrosas, las cuales se tornan amarillentas al madurar (5-17 cm de largo, 10 a 40 cm de ancho). Se identifica por su tronco recto teniendo una corteza lisa, delgada y verdosa. Las flores se presentan en cabezuelas y son de color blanco. El fruto es el resultado de la fusión de los ovarios de muchas flores, es de forma irregular, a menudo ovoide y grande (hasta 12 cm. de largo); la pulpa transparente, gelatinosa y de olor muy desagradable. (Ulloa *et al.* 2012).

#### c. Descripción taxonómica

Según Ulloa *et al.* (2012), la clasificación taxonómica del noni es:

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Gentianales
Familia	:	Rubiaceae
Género	:	<i>Morinda</i>
Especie	:	<i>M. citrifolia</i> L.

#### **d. Composición química**

La cuantificación de flavonoides en extractos liofilizados acuoso de hojas es 0.8886 en absorbancia promedio de la solución muestra a 258 nm y de 0.1136 de contenido promedio de flavonoides totales expresados como quercetina (%) (Ruiz *et al.* 2010). La concentración de polifenoles totales en hojas de *M. citrifolia* reporta 14,286.99 mg de CTQ/100g (Villacorta y Pérez 2011).

### **2.2.3. Té (*Camellia sinensis* L.)**

#### **a. Generalidades**

Como planta cultivada, el árbol del té no suele alcanzar más de los 2 metros, en estado salvaje puede alcanzar 6 o más metros de altura. El té es obtenido a partir de las hojas y su calidad y contenido en sustancias aromáticas depende del proceso de curación seguido. Las hojas verdes se secan con ayuda de aire calientes o se dejan fermentar parando el proceso de oxidación cuando los bordes se vuelven pardos. En el caso del té negro, las hojas se dejan fermentar en cámaras oscuras y húmedas hasta que toda la hoja se vuelve negra (Sarmiento 2010).

#### **b. Descripción botánica**

El habitat en espacio de sol pleno o de semi sombra y un terreno rico en materia orgánica y con buen drenaje, es importante que la tierra no se inunde o encharque. Un clima húmedo en verano y fresco en invierno (pero no congelado, ni seco). Las hojas de té son agudas de color verde oscuro, se disponen alternas y miden generalmente entre 5 y 10 cm de largo por 2 a 4 cm de ancho. Las hojas son la parte de la planta de té verde empleada con fines terapéuticos. Las flores, axilares, solitarias o en grupos de 3, tienen 5 sépalos, 6-8 pétalos y numerosos estambres, son de color blanco-amarillentas y miden 2-4 cm de diámetro (Sarmiento, 2010).

#### **c. Descripción taxonómica**

Según Chicaiza *et al.* (2003), la clasificación taxonómica del Té verde es:

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Ericales
Familia	:	Theaceae
Género	:	<i>Camellia</i>
Especie	:	<i>C. sinensis</i> L.

#### d. Composición química

Un gramo de extracto de hojas de *C. sinensis* contiene 0,7 gramos de compuestos fenólicos, 14 mg/gramo de flavonoides (Tariq y Reyaz 2012). En el Cuadro 1, se muestra los componentes del té.

**Cuadro 1.** Principales componentes del té (8% del peso de sólidos).

Componentes	Té Verde	Té Negro
Catequinas	30 - 42	3 - 10
Teaflavinas	-	2 - 6
Polifenoles sencillos	2	3
Flavonoles	2	1
Otros polifenoles	6	23
Teanina	3	3
Aminoácidos	3	3
Péptidos / proteínas	6	6
Ácidos orgánicos	2	2
Azúcares	7	7
Otros carbohidratos	4	4
Cafeína	3 - 6	3 - 6
Potasio	5	5
Otros minerales / ceniza	5 - 8	5 - 8

FUENTE: Adaptado de Valentín, citado por Tapia (2007).

#### e. Tipos de té

A partir de la misma materia prima: brotes y hojas de *C. sinensis*, se obtienen diversos productos finales, según variedades botánicas, formas de cultivo, época y tipo de cosecha y el método de industrialización utilizado. El té puede ser clasificado en tres grupos principales, dependiendo de su proceso de manufactura: té verde, té negro y té oolong (Cuadro 2). Las hojas de té verde se hornean al vapor para inactivar las enzimas que provocan la oxidación de los polifenoles. Las hojas del té negro son trituradas y expuestas a una humedad muy alta para inducir la oxidación aeróbica de los polifenoles, un proceso conocido como fermentación. El té Oolong (Dragón Negro) se obtiene después de un período corto de fermentación.

**Cuadro 2** Clasificación de tipos de té.

Nombre	Grado de fermentación	Característica
Té Negro	Completa	Es el producto que presenta mayores propiedades aromáticas. Su alto contenido en flavonoides protege al sistema cardiovascular.
Té Rojo	Incompleta	Con 50 – 60% de fermentación se denomina Oolong, con 8 – 25%, Pouchong. Se secan hojas y yemas. Se le aplica un tratamiento térmico para inactivar las enzimas y detener la fermentación en el momento adecuado y además quitar la humedad para evitar la descomposición de las hojas. Presenta propiedades antioxidantes, efecto protector del sistema cardiovascular y se utiliza para el tratamiento de la obesidad. También se le atribuyen propiedades anticancerígenas.
Té Verde	Ausente	Se evita la acción enzimática de la fermentación mediante un escaldado. Presenta elevadas cantidades de antioxidantes, colabora con la nivelación de la insulina en sangre y con la disminución de la grasa corporal. Disminuye el nivel de triglicéridos y colesterol.
Té Blanco	Ausente	Se produce a partir de la recolección de las yemas nuevas antes que abran. Se dejan marchitar para que se evapore la humedad y se desecan. La principal propiedad es su elevado contenido en antioxidantes.

FUENTE: Tea Research Foundation, citado por Tapia (2007).

Los polifenoles del té verde son principalmente flavonoides, los cuales son compuestos de bajo peso molecular. (Balentine et al. citado por Staszewsky 2011).

#### **2.2.4. Metabolitos secundarios**

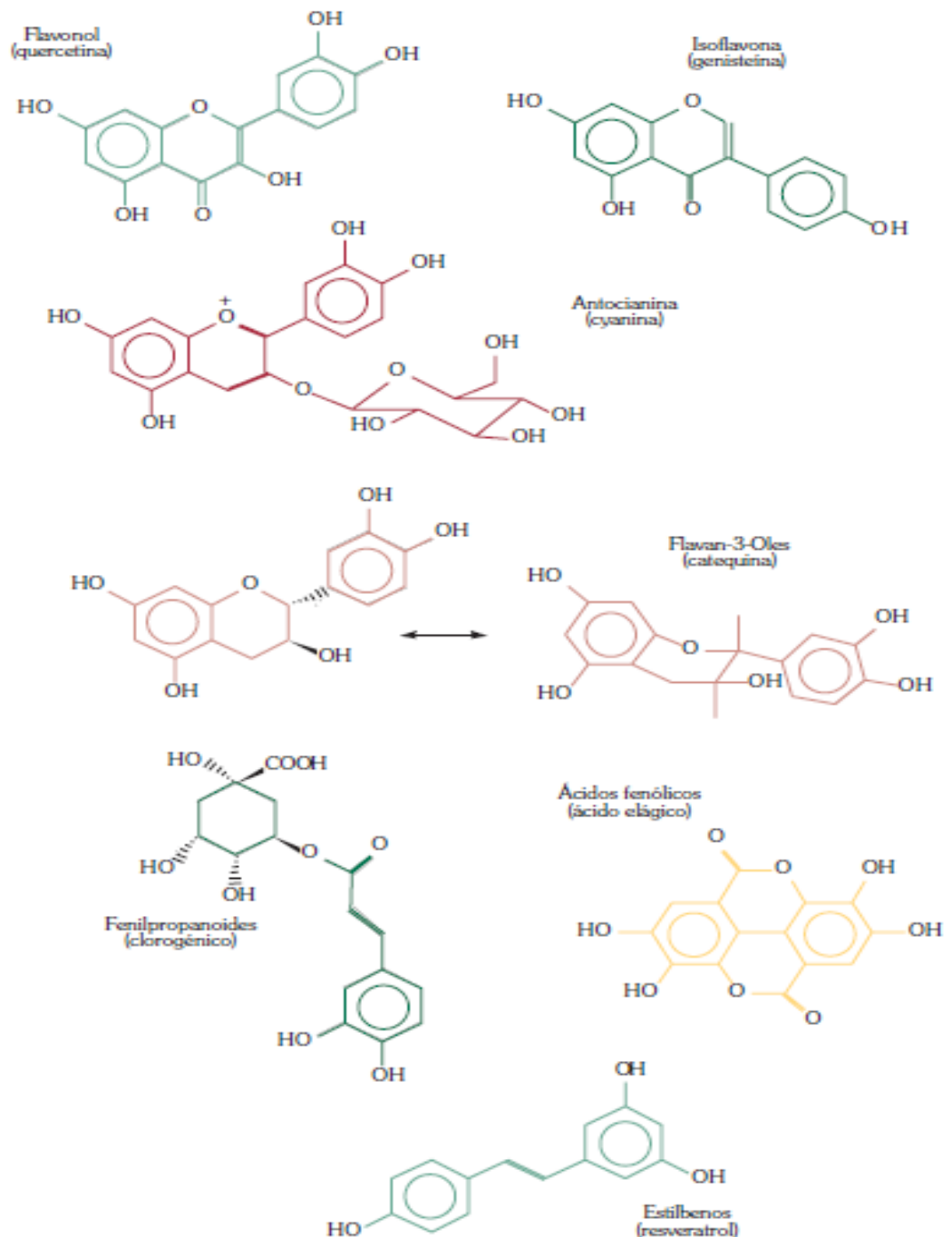
Son compuestos, generalmente orgánicos, que participan en las reacciones químicas que tienen lugar a nivel celular. Estas reacciones bioquímicas, junto a los procesos físico-químicos intracelulares, constituye el metabolismo celular. El metabolismo incluye la degradación de moléculas para la obtención de energía (catabolismo) y la síntesis de moléculas necesarias para el crecimiento, reproducción y reparación (anabolismo). A las reacciones metabólicas que transforman a una determinada sustancia inicial en otra se le conoce como ruta o vía metabólica. A la sustancia de partida se le conoce como sustrato o materia prima. A la sustancia final se le suele conocer como producto o metabolito final (una ruta metabólica puede generar varios productos finales) y a las sustancias intermedias como metabolitos intermedios. Un metabolito intermedio o final en una ruta metabólica puede ser el sustrato en otra, lo que hace que la gran mayoría de rutas metabólicas estén interconectadas (Kuklinski 2000).

##### **a. Polifenoles**

Los compuestos polifenólicos son un grupo diverso de fitoquímicos que no se identifican como nutrientes esenciales, pero se les atribuyen efectos positivos sobre la salud de quienes los consumen habitualmente en la dieta, especialmente por su actividad como antioxidantes. Sin embargo, el mecanismo de acción de estos compuestos ha sido tema de múltiples estudios y debates, ya que poseen numerosos efectos biológicos incluyendo regulación de la expresión de genes y actividad de diversas enzimas, entre otros. Sin embargo, sus potenciales efectos biológicos dependen de numerosos factores que aún no son bien comprendidos, como su absorción o metabolismo, que a su vez depende de la naturaleza química del compuesto. Dada su complejidad y diversidad en estructuras químicas y efectos biológicos, es también importante tener presente que diversos polifenoles, o incluso la mayoría de ellos, poseen también efectos adversos, como la interferencia que causan en la absorción de proteínas, así como su posible efecto pro-oxidante en elevadas cantidades (Vásquez *et al.* 2012).

En los polifenoles existen sustancias antioxidantes, también existen sustancias oxidantes, que pueden ser buenas o malas para el organismo. La oxidación de los compuestos fenólicos, particularmente de los orto-difenoles, por las polifenoloxidasas y las peroxidadasas produce orto-quinonas muy tóxicas para numerosos organismos. Estas orto-quinonas pueden polimerizarse generando productos aún más tóxicos, las melaninas que aparecen bajo la forma de pigmentos oscuros en el interior de las células o en su pared como consecuencia

de reacciones necróticas asociadas a hipersensibilidad. Además, los productos de oxidación de los fenoles juegan un papel importante en la inactividad de las enzimas líticas producidas por los microorganismos al formar enlaces covalentes con los grupos amino y tiol de las proteínas. Los productos de oxidación de los fenoles intervienen, además, en la resistencia de numerosas plantas a los parásitos vasculares (Modafar y Boustani 2004). En la Figura 1, se muestra los principales grupos de fenoles presentes en los alimentos.



**FIGURA 1.** Principales grupos de polifenoles de alimentos.

FUENTE: Tomás-Barberán (2003).



Los polifenoles engloban una cantidad enorme de sustancias, entre ellas fenoles simples, ácidos fenólicos (tanto el ácido benzoico y los derivados del ácido cinámico, los alquilfenoles (ácido anacárdico, cardanol y cardol) cumarinas, flavonoides (catequinas, antocianinas, e isoflavonas), estilbenos y los polímeros taninos y ligninas (Volp *et al.* citado por Cavalcante 2014). En el Cuadro 3 se muestran algunos compuestos fenólicos presente en los vegetales. No existe ninguna clasificación universal de polifenoles (Motilva *et al.* citado por Cavalcante 2014). Estructuralmente los fenoles son sustancias que tienen anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxílicos, incluyendo sus grupos funcionales. (D'Archivio, citado por Cavalcante 2014).

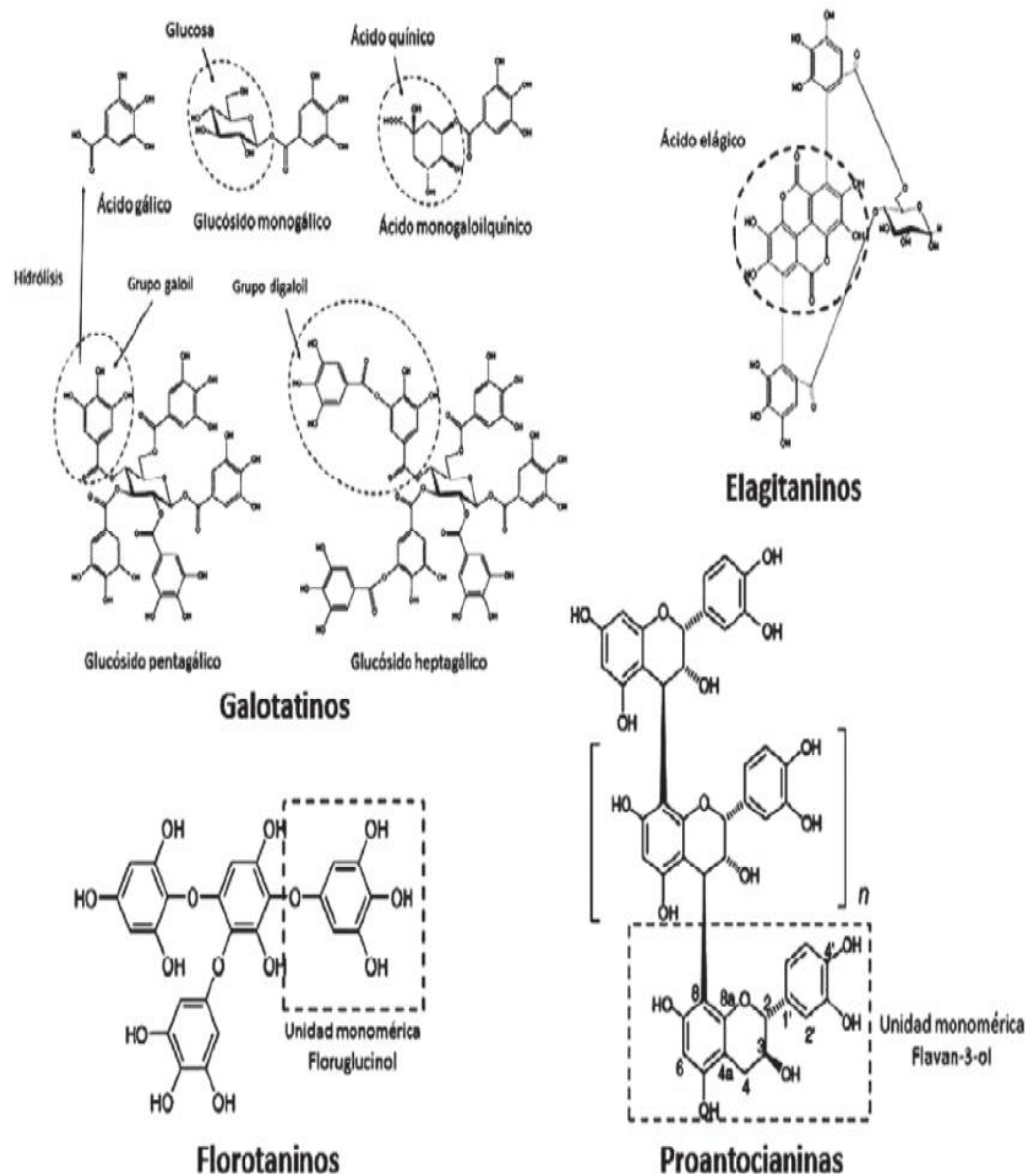
**Cuadro 3** Compuestos fenólicos en plantas

Clase	Estructura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C <sub>6</sub>
Ácidos hidroxibenzóicos	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naftoquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Xantonas	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Estilbenos, antroquinonas	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonóides, isoflavonóides	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignanás, neolignanás	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Biflavonóides	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>
Ligninas	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Taninos condensados	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

FUENTE: Angelo y Jorge, citado por Cavalcante (2014).

Los ácidos fenólicos libres representan la menor parte de los compuestos fenólicos y son solubles en soluciones de metanol, etanol o acetona (TIAN *et al.*, 2004). Los fenólicos conjugados generalmente están en forma de ésteres y amidas (Figura 2), incluyendo compuestos de bajo peso molecular, solubles en agua, presentes en el citosol, o formas liposolubles, asociadas a las ceras de la superficie de la planta (Karakaya, citado por Cavalcante 2014).

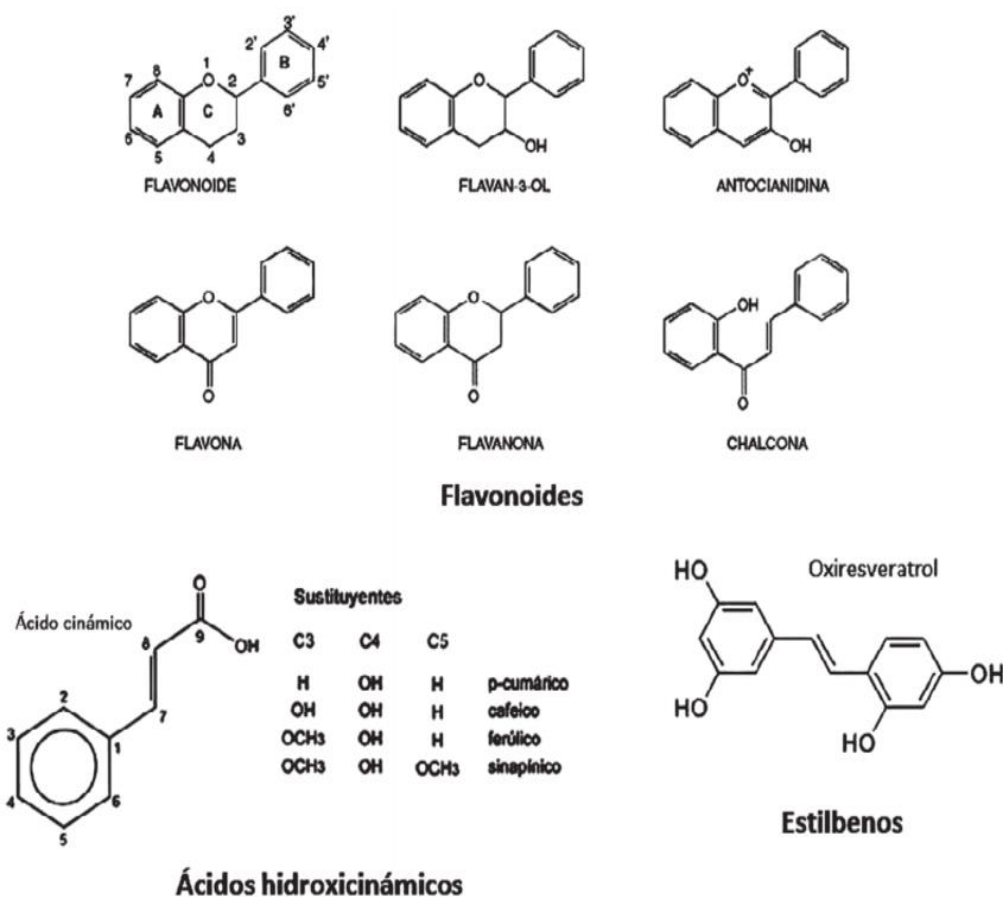
Las frutas son las principales fuentes dietéticas de compuestos fenólicos, en función de factores intrínsecos (cultivar, variedad, estadio de maduración) y extrínsecos (condiciones climáticas y edáficas) presentan una composición variada de esos constituyentes (MELO et al., 2008). Los fenoles poseen propiedades antioxidantes que actúan inhibiendo o retardando el proceso oxidativo en los alimentos, que están presentes en diversos residuos agroindustriales (Sousa *et al.* citado por Cavalcante 2014).



**FIGURA 2.** Clases de polifenoles: las proantocianidinas (taninos condensados), los galos y elagitaninos (taninos hidrolizables) y los florotaninos. FUENTE: Ricco et al. (2015).

- **Flavonoides**

Son un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo-γ-pirano (Figura 3), los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. Importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas, ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz UV o contra la infección por organismos fitopatógenos; además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante (Cartaya y Reynaldo 2001).



**FIGURA 3.** Compuestos representativos de flavonoides, ácidos hidroxicinámicos y estilbenos.  
FUENTE: Ricco et al. (2015).

Destacan por su baja toxicidad, presentando en general actividad sobre el sistema vascular con acción vitamínica P (efecto protector de la pared vascular, debido a la disminución de la permeabilidad y al aumento de la resistencia de los capilares). Asimismo, tienen efecto antioxidante, pueden inhibir la peroxidación lipídica, poseen efectos antimutagénicos y tienen la capacidad de inhibir diversas enzimas. La acción antioxidante de los flavonoides depende principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y secuestrar metales, impidiendo las reacciones catalizadoras de los radicales libres. También, los flavonoides ejercen otras acciones: diurética, antiespasmódica, antiulcerosa gástrica y antiinflamatoria (López 2002).

Los flavonoides, que poseen un gran número de grupos hidroxilos formando glicósidos, son polares, por lo que son ligeramente solubles en disolventes polares, como el metanol, etanol, acetato de etilo o agua (Mranda y Cuellar, citado por Venegas 2012)

Los flavonoides constituyen un amplio y diverso grupo de metabolitos secundarios de plantas, se encuentran en abundancia en las uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; té verde y otros. Tienen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas, asimismo, son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, en diabetes, en afecciones cardíacas, por lo que merecen ser incorporados al grupo de los nutrientes esenciales (Escamilla et al. citado por Venegas 2012).

#### - **Taninos**

Los taninos constituyen un grupo de sustancias ampliamente distribuidas en el reino vegetal, se presentan como mezclas de polifenoles, muy difíciles de separar, con el agua forman soluciones coloidales de reacción ácida y sabor astringente. De acuerdo a su comportamiento frente a los agentes hidrolíticos (principalmente ácidos minerales diluidos), los podemos dividir en: taninos hidrolizables y taninos condensados (Gutiérrez *et al.* citado por Venegas 2012).

Los taninos hidrolizables están constituidos generalmente por una molécula de un monosacárido (glucosa en la mayoría de los casos) a la cual se unen varias unidades de ácidos polifenólicos. El ácido polifenólico más simple es el ácido gálico, un trifenol que contiene además un grupo carboxilo (Gutiérrez *et al.* citado por Venegas 2012).

Los taninos condensados, resultan de la condensación (polimerización) de unidades de flavanoles, tales como la catequina y la leucocianidina, quienes cumplirían el papel de precursores. Por tratamiento con reactivos hidrolíticos, los taninos condensados no liberan sus unidades estructurales, sino que por el contrario tienden a polimerizarse aún más (especialmente en solución ácida), originando productos rojos, amorfos e insolubles, conocidos como flobafenos o rojos de tanino (Gutiérrez *et al.* citado por Venegas 2012).

Entre los factores que afectan la presencia de taninos en vegetales, tenemos: las condiciones ambientales (Torchio *et al.* 2010), genéticas o estado de maduración del fruto o la planta (Bindon y Kenedy 2011). La maduración también influye en el tipo y concentración de taninos. En la cáscara de uvas, los taninos condensados se presentan en mayor grado de polimerización conforme el estado de maduración avanza (Kennedy *et al.*, 2001); otro factor importante es la parte del fruto, así, la mayor proporción de taninos condensados en manzana se encuentra en la cáscara (Prior y Gu, 2005).

El consumo de taninos en la dieta suelen ser muy variados, tanto en estructura como en cantidad. Los vegetales y frutos tienen la capacidad de acumular taninos en la totalidad de la planta de la que provienen: semillas, frutos, madera, raíz, hojas. En condiciones normales, los taninos vegetales representan del 2 al 7% del peso fresco de la planta. Esta cantidad representa la suma de todos los tipos de taninos presentes en el vegetal. No obstante, las concentraciones pueden aumentar debido al estrés producido por el ataque de patógenos (Haslam 2007).

Los taninos son “*antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides: debido a su capacidad para formar estructuras complejas con estas sustancias*”; son “*astringentes*“, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivales. Por sus propiedades astringentes se usan por la vía externa como cicatrizantes y por vía interna como antidiarreicos; antisépticos: acción bactericida y

bacteriostática; protectores: los taninos aplicados en pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de agentes externos. (Kuklinski 2000).

- **Quinonas**

Son muy abundantes en la naturaleza, donde se utilizan como reactivos biológicos de oxidación-reducción. La coenzima Q (CoQ) es una quinona a la que se denomina ubiquinona, ya que parece ubicua, encontrándose en todos los organismos que consumen oxígeno. La coenzima Q sirve como agente oxidante dentro de las mitocondrias de las células (Según Wade (2004). Las benzoquinonas naturales *stricto sensu* no dan lugar a ninguna aplicación terapéutica (Bruneton 2001).

Como respuesta de defensa química contra el daño que ocasionan las heridas y el ataque de microorganismos patógenos en las plantas superiores, se induce la síntesis y acumulación de compuestos de bajo peso molecular, conocidos como metabolitos secundarios (entre estos Quinonas). Durante la respuesta hipersensible, algunos compuestos pertenecientes a los grupos de los alcaloides, los terpenoides y los fenilpropanoides, participan activamente matando directamente al microorganismo patógeno o restringiendo su invasión al resto de la planta. Al mismo tiempo, otros metabolitos secundarios contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal, las cuales se sintetizan durante las etapas tempranas de la respuesta de defensa. Los conjugados de fenilpropanoides con aminas se incorporan a la pared celular vegetal para aumentar su rigidez y reducir su digestibilidad por insectos y vertebrados herbívoros. Así mismo, algunos alcaloides son neurotóxicos a insectos y vertebrados herbívoros. Es así, como algunos metabolitos secundarios constituyen una parte importante de la respuesta de la defensa de las plantas sometidas a heridas y al ataque por las plagas (Sepúlveda *et al.* 2003).

**b. Métodos de determinación de polifenoles**

La cuantificación de los fenoles totales es llevada a cabo mediante dos técnicas: el método de Folin-Ciocalteu (el más empleado) y el método de Price Butler. Ambos métodos se fundamentan en reacciones de óxido reducción (Ricco *et al.* 2015).

En el método de Folin-Ciocalteu, el ión fenolato es oxidado (en medio alcalino), mientras que el reactivo fosfotúngstico-molíbdeno es reducido, formando un complejo color azul (cromóforo). Mientras que en el método de Price y Butler, también el ión fenolato es oxidado mientras que el ion férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) es reducido a ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) que se detecta mediante la formación de un complejo azul con el reactivo ferricianuro de potasio. El complejo formado de fórmula  $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$  se conoce con el nombre de azul de Prusia (Ricco *et al.* 2015).

#### ***Método de Folin–Ciocalteu***

Una alícuota (50 - 100  $\mu\text{L}$ ) del extracto es transferida a un tubo de ensayos y el volumen se lleva a 500  $\mu\text{L}$  con agua desionizada. Se adicionan a continuación 250  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1.25 mL de solución acuosa de carbonato de sodio al 20%. Luego de 40 minutos se mide la absorbancia a 725 nm. El contenido de fenoles totales se expresa como equivalentes de ácido tánico (ATE, mg ácido tánico / g material seco) o equivalentes de ácido gálico (GAE, mg ácido gálico/g material seco). Para confeccionar la curva de calibración se utiliza una solución madre de ácido tánico o ácido gálico (0.1 mg/mL). Las concentraciones finales que se usan para el ácido tánico van de 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hasta 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . En el caso del ácido gálico el rango queda comprendido entre 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hasta 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Makkar *et al.* citado por Ricco *et al.* 2015).

#### ***Método de Price y Butler***

Se toma 250  $\mu\text{L}$  del extracto y se le adicionan 25 mL de agua desionizada, seguido de 3 mL de cloruro férrico 0.1 M. Luego de 3 min se agregan 3 mL de ferricianuro de potasio 8 mM y se mezcla. Después de 15 min se lee la absorbancia a 720 nm. El contenido de fenoles totales se expresa como equivalentes de ácido tánico (ATE,mg ácido tánico/g material seco) o equivalentes de ácido gálico (GAE, mg ácido gálico/g material seco). El ensayo se estandariza con una solución madre de 0.01 M de ácido gálico (188  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (Price y Butler, citado por Ricco *et al.* 2015).

### **c. Métodos de conservación de metabolitos**

Los vegetales, al ser arrancados de su medio natural, ven alterados su equilibrio metabólico y proliferan reacciones y fenómenos que degradan la droga vegetal recolectada (Kuklinski 2000). Las causas de alteración pueden ser internas y externas:

#### - Causas de alteración interna:

*Reacciones enzimáticas:* las enzimas propias de las plantas catalizan reacciones que llevan a la degradación de la planta. Esta actuación de las enzimas es especialmente activa cuando la droga recolectada posee cantidades de agua superior al 10%. Las reacciones enzimáticas que se producen mayoritariamente son: hidrólisis de glúcidos (hidratos de carbono), de ésteres, de heterósidos; oxidaciones; condensaciones y polimerizaciones; isomerizaciones y racemizaciones (Kuklinski 2000).

*Autooxidaciones:* oxidaciones espontáneas.

*Reacciones entre diferentes componentes de la planta.*

#### - Causas de alteración externa:

El calor, las radiaciones, la humedad, el ataque de parásitos, microorganismos, insectos, etc. Todas estas causas potenciales de alteración deben ser tenidas en cuenta, sobre todo, en el proceso de almacenamiento de las drogas (Kuklinski 2000).

Hay dos procedimientos fundamentales para evitar la acción enzimática y conservar las drogas vegetales: la inhibición enzimática y la inactivación enzimática. (Kuklinski 2000).

- **Inhibición enzimática:** es un proceso reversible que consiste básicamente en eliminar el agua del vegetal hasta valores inferiores al 10%. El principal responsable de la alteración de los vegetales, una vez recolectados, es la elevada presencia de agua (hasta un 70% en las partes más carnosas y en menor cantidad en partes más secas). Al descender la cantidad de agua, las enzimas detienen su actividad, quedan inhibidas y el vegetal se conserva. Al tratar la droga conservada con agua, las enzimas pueden recuperar su actividad, por lo que es un proceso reversible.

Los procedimientos utilizados para eliminar el agua son:

- **Desecación natural:** es el procedimiento más lento y económico pero generalmente menos efectivo. (a) Desecación al aire libre y al sol, método poco utilizado en la mayoría de las especies vegetales porque puede haber alteraciones en el color y el aspecto del vegetal... (b) Desecación al aire libre y a la sombra, se trabaja con aire cálido que circula por instalaciones donde están distribuidos, principalmente en grandes bandejas, los vegetales que se desea desecar...



- Desecación artificial: el secado con calor artificial es generalmente más adecuado ya que permite el control de la temperatura, de la humedad ambiental y del tiempo que dura la operación. (a) Túneles de secado, consisten en recipientes móviles (vagonetas, bandejas) que circulan en sentido contrario al aire caliente (b) Torres de secado, consisten en bandejas que ascienden verticalmente y en forma helicoidal por una torre donde circula el aire caliente. (c) Estufa al vacío, consiste en una estufa que trabaja a una temperatura de 40°C y donde se puede practicar el vacío; la droga se coloca en el interior de unas bandejas. Se utiliza para desecar a pequeña escala (por ejemplo en los laboratorios de investigación). (d) Radiación infrarroja, las drogas se depositan en una cinta sin fin que circula dentro de unas lámparas de infrarrojo (IR). Se usa sobre todo a nivel industrial.
- Liofilización o criodesecación al vacío: es el método que reduce más la cantidad de agua de la droga. Consiste en congelar rápidamente la droga a temperaturas muy bajas, entre -40°C y -80°C, y luego de sublimar el agua aplicando el vacío y calentando. El agua pasa directamente del sólido (hielo) a vapor y la droga queda con una cantidad de agua muy baja y adquiere una consistencia esponjosa.
- Inactivación enzimática: es un proceso irreversible que consiste en la destrucción de las enzimas, que pierden así su capacidad catalizadora y al inactivarse no progresa la degradación de la droga. También recibe el nombre de estabilización de la droga. Hay varios métodos para inactivar las enzimas:
  - Con alcoholes a ebullición: es un método que está claramente en desuso ya que muchos principios activos se solubilizan con el alcohol, lo cual destruye la droga. Esta se sumerge solo unos instantes en el alcohol hirviendo.
  - Con vapores líquidos: (a) con vapor de agua, se introducen las drogas, colocadas en bandejas, dentro de una autoclave a 100-120°C. La temperatura necesaria en vegetales es superior que para estabilizar otros materiales, donde suelen bastar unos 60°C. (b) con vapores alcohólicos, es un método muy utilizado en la industria y permite trabajar a temperatura más bajas que cuando se trabaja con vapor de agua. (c) con calor seco, se introduce la droga en estufas a alta temperatura (800°C) durante unos instantes. Se utiliza en casos muy concretos ya que este tratamiento puede alterar los principios activos". (Kuklinski 2000).

### **2.2.5.Extracción de metabolitos**

Existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en los vegetales, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo.

#### **a. Percolación**

Es un método que consiste en que el menstruo (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa la masa de droga pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la droga bañada siempre por nuevas proporciones de menstruo acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva (Selles, citado por Carrión y Jara 2010)

#### **b. Maceración**

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga con el menstruo constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el menstruo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular (Selles, citado por Carrión y Jara 2010)

#### **c. Decocción**

Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla de droga más menstruo a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos (Selles, citado por Carrión y Jara 2010)

#### **d. Infusión**

Es el proceso en cual se somete a la droga previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se prepara al 5% (Selles, citado por Carrión y Jara 2010)

### **e. Digestión**

Es una maceración realizada a una temperatura suave que oscila alrededor de los 50 o 60° C” (Selles, citado por Carrión y Jara 2010). Al aumentar medianamente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos (Selles, citado por Carrión y Jara 2010)

### **2.2.6. Infusiones**

La infusión de hierbas es el proceso de extracción de compuestos químicos o sabores de material vegetal en un disolvente tal como agua, aceite o alcohol, al permitir que el material permanezca suspendido en el disolvente en el tiempo (a menudo llamado un proceso de remojo). Una infusión es un proceso químico muy simple que se usa con plantas que son volátiles y se disuelven fácilmente, o liberan sus ingredientes activos fácilmente, en agua, aceite o alcohol. Los botánicos se secan típicamente hierbas, flores o bayas (Rivera 2015).

El líquido se hierve típicamente (o presentada a otra temperatura adecuada) y después se vierte sobre la hierba, que después se deja reposar en el líquido durante un período de tiempo. El líquido puede después ser filtrada o las hiervas otra cosa eliminado del líquido. A menos que la infusión se va a consumir de inmediato, entonces puede ser embotellado y refrigerado para su uso futuro. Una infusión es también el nombre para el líquido resultante. El proceso de infusión es distinto de decocción, que consiste en hervir el material vegetal, o percolación, en la que el agua pasa a través del material (como en una máquina de café). Un método popular de la preparación de tés y tisanas. Tal método de preparación de té / "té de hierbas" normalmente implica verter agua caliente sobre la materia vegetal (como hojas o bayas secas), a la espera de un período de tiempo y después de retirar la materia de la planta antes de su consumo (Rivera 2015).

La infusión también puede referirse a la bebida de infusión en sí. A veces se usa para referirse específicamente a las tisanas, que se pueden llamar "infusiones de hierbas, pero también puede referirse a los verdaderos tés. El método de infusión difiere de decocción en que el agua no se calienta continuamente o hervida lejos como los empapa la materia vegetal. Esto puede resultar en una bebida más débil (Rivera 2015).

### **2.2.7. Mezclas**

Dentro de la industria, existe una variedad de productos elaborados mezclando dos o más ingredientes, en los cuales las características de calidad dependen de las proporciones de los componentes en su formulación, por lo cual es importante encontrar la mejor mezcla de los ingredientes utilizados (Gómez *et al.* 2015).

En el diseño de mezclas se trabaja con factores experimentales, que pueden ser productos o ingredientes con un determinado número de componentes. La variable respuesta depende de la composición final que alcance la mezcla resultante dada por el aporte relativo de cada uno de los componentes que han participado en la mezcla y no de la cantidad absoluta. Las proporciones deben sumar 1 o 100%, los factores no pueden variar independientemente sobre algún otro. Cuando se trabaja las mezclas con muy pocos productos y componentes el trabajo para obtener una mezcla no se hace complejo ya que con un simple balance de masa total y por componentes puede lograrse el resultado deseado. Sin embargo, cuando se trata de trabajos con un número apreciable de productos con varios componentes el trabajo se hace realmente complejo y tedioso (Fernández-Rodríguez *et al.* 2014).

#### **a. Aplicación del diseño de mezclas**

Existen muchas aplicaciones en la industria alimentaria, donde se desea encontrar la mezcla adecuada de componentes o ingredientes para la elaboración de un producto final. El objetivo es encontrar la formulación que mejore las características del producto y que sea aceptado por los consumidores (Rojas *et al.* citado por Gómez *et al.* 2015).

En productos tales como salsas, néctares, jugos, galletas, helados y yogures, es muy importante encontrar la mejor mezcla de los ingredientes utilizados en su elaboración. El jugo, es una bebida alimenticia, elaborada a partir de la mezcla de una o varias frutas, agua y azúcar; las bebidas compuestas de varias frutas presentan una serie de características, como la posibilidad de diferentes aromas, sabores y componentes nutricionales, a partir de las proporciones de los compuestos, es decir, cada componente le otorga una característica única al producto final (Rojas *et al.* citado por Gómez *et al.* 2015).

En la elaboración de helados, en la cual, se busca optimizar las características, buscando establecer un producto que presente la mejor aceptación sensorial, mayor rendimiento y menor costo (López Torres *et al.* citado por Gómez *et al.* 2015).

### 2.2.8. Metodología de superficie de respuesta

El uso de diseños de superficie de respuesta es la alternativa más adecuada, en experimentos cuyo objetivo es establecer la relación entre los factores y la variable dependiente, dentro de la región experimental (Gutiérrez y De la Vara 2004). Se emplean en las siguientes etapas:

- Diseño y recopilación de datos experimentales, los cuales se usan en la determinación de una ecuación matemática que se empleará para las predicciones.
- Aplicación de técnicas de regresión lineal múltiple para seleccionar la “mejor” ecuación que represente el comportamiento de los datos.
- Análisis de la superficie ajustada mediante gráficas de contorno y de otras técnicas matemáticas y numéricas.

La metodología de superficie de respuesta es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influida por varias variables, y el objetivo consiste en determinar las condiciones de operación óptima para un sistema, o determinar la región del espacio de los factores en la que se satisfacen las condiciones de operación. Con el fin de analizar mejor es posible representar gráficamente la superficie de respuesta, si la respuesta esperada se denota  $\varepsilon(y) = f(x_1, x_2) = \eta$ ; donde  $\eta$  se grafica contra los niveles de  $x_1$  y  $x_2$  entonces la respuesta se representa como una superficie sólida en un espacio tridimensional. Para visualizar mejor la forma de una superficie de respuesta, a menudo se grafican los contornos de dicha superficie. En esta gráfica, se trazan líneas de respuesta constante en el plano  $x_1, x_2$ . Cada contorno corresponde a una altura específica de la superficie de respuesta, tal gráfica es útil para estudiar los niveles de  $x_1$  y  $x_2$  que dan por resultado cambios en la forma o altura de la superficie de respuesta (Gutiérrez y De la Vara 2004).

En la mayoría de los problemas de metodología de superficie de respuesta, la forma de la relación entre la respuesta y las variables independientes se desconoce. Por ello, el primer paso en la metodología consiste en determinar una aproximación apropiada a la relación funcional entre  $\eta$  y el conjunto de variables independientes; por lo general se emplea un polinomio de orden bajo y cuando existe curvatura en el sistema debe emplearse un polinomio de mayor grado (Gutiérrez y De la Vara 2004).

### a. Metodología de superficie de respuesta para mezcla

En experimentos de mezcla, los factores son los componentes o ingredientes de una mezcla, y en consecuencia, sus niveles no son independientes. Por ejemplo, si  $x_1, x_2, \dots, x_p$  denota las proporciones de  $p$  componentes de una mezcla, entonces:

$$0 \leq x_i \leq 1; \quad i = 1, 2, \dots, p \quad \text{y} \quad x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_p = 1$$

Los diseños simplex se emplean para estudiar los efectos de componentes de mezclas en la variable de respuesta (Gutiérrez y De la Vara 2004).

### b. Técnicas de optimización

#### - Diseño de tratamientos para mezclas

Los diseños de mezclas se utilizan ampliamente en las industrias y en particular en la fabricación de productos de consumo (Zhang *et al.* citado por Puente 2016). El diseño de mezclas tiene como objetivo desarrollar un proceso, es decir que este lo menos afectado por las fuentes de variabilidad externas (Gutiérrez y De la Vara 2004).

Muchos productos se hacen mediante la mezcla de dos o más componentes, las propiedades de estos típicamente dependen de las proporciones relativas de los componentes (Kaya *et al.* citado por Puente 2015). El diseño de experimentos por mezclas ha sido utilizado para optimizar procesos; con el uso de esta herramienta es posible identificar los parámetros adecuados para cada proceso. Con base en la revisión de literatura, se encontró que el diseño de experimentos por mezclas ha sido utilizado en diversas áreas de la industria, como la alimentaria, la de la construcción, farmacéutica, entre otras. En la industria alimentaria, se desea encontrar la mezcla adecuada de componentes o ingredientes para la elaboración de un producto final (Puente 2015).

El diseño de mezclas permite encontrar las proporciones de cada componente de la mezcla y así ofrecer un producto de calidad al cliente. Sin embargo, esta herramienta no es utilizada debido a que no se conocen sus características, y tampoco hay una metodología clara para su aplicación. Se requiere primero construir un modelo de superficie de respuesta apropiado para cada respuesta y después intentar encontrar un conjunto de condiciones de operación que optimice o brinde la mejor respuesta posible del conjunto de

variables o características de calidad Para ello en la investigación se pretende optimizar las mezclas con el diseño simplex centroide de mezclas que contienen 1, 2, 3...k componentes en proporciones iguales (Gutiérrez y De la Vara Salazar 2004).

- **Diseño simplex con centroide**

Este tipo de diseño es un diseño en el sistema de coordenadas simplex que se compone de mezclas que contienen 1, 2, 3...k componentes en proporciones iguales. Los cuales tienen diferentes características que facilitan la optimización de parámetros, dependiendo del producto o proceso que se trate (Puente 2015).

### **2.2.9. Análisis sensorial**

Consiste en la realización de diversas pruebas con el fin de evaluar diferentes propiedades o atributos de un producto utilizando los sentidos (Regiero 2011). Para la realización del análisis sensorial se debe tener en cuenta:

**a. Los jueces.** Son las personas que realizan la evaluación sensorial. Se eligen según su habilidad, entrenamiento, disponibilidad e interés o motivación. Se pueden distinguir:

- Jueces expertos. Con gran experiencia, entrenamiento y sensibilidad. Conocen bien el producto concreto para el cual están especializados y la metodología de las pruebas. Suelen utilizarse para control de calidad y de procesos. En muchas ocasiones actúan en solitario o en grupos muy reducidos (Regiero 2011).
- Jueces entrenados (panelistas). Son miembros de equipos o grupos de evaluación sensorial integrados por entre 7 y 15 personas. Se trata de personas con habilidad demostrada para la detección de uno o pocos atributos, que han recibido formación y entrenamiento y con conocimientos del producto a evaluar. Participan regularmente en diversos tipos de pruebas con distintos objetivos (Regiero 2011).
- Jueces de laboratorio. Personas sin habilidad especial que han sido formadas y entrenadas y que participan ocasionalmente en pruebas sencillas.
- Jueces consumidores. Personas sin formación en análisis sensorial ni entrenamiento que se eligen al azar entre los consumidores habituales del producto en evaluación.

**b. Las pruebas.** Son procedimientos fiables, planteados según ciertas normas, para realizar la evaluación sensorial con resultados repetibles y reproducibles (Regiero 2011).

- Condiciones de realización de pruebas sensoriales: a) En la medida de lo posible deben minimizarse las siguientes fuentes de error: - Error de expectación (los jueces no deben conocer cuál es objetivo de las pruebas que van a realizar). - Error de estímulo y error lógico (todas las muestras a evaluar deben tener el mismo aspecto enmascarando otros atributos que puedan interferir con el que se va a evaluar, o que den pistas erróneas). - Efecto de halo. Consiste en la evaluación de más de una propiedad simultáneamente. El juez se forma una impresión general que puede distorsionar la apreciación de una propiedad concreta. Por ello solo se debe evaluar un atributo en cada prueba.- Efecto de la sugestión. Para evitarlo los jueces no deben verse entre sí. - Efecto de posición. Generalmente las muestras se ofrecen a los jueces al azar y en distinto orden a cada uno de ellos.

1. Las pruebas deben realizarse en instalaciones especialmente acondicionadas, en ambiente limpio, a temperatura confortable, y en horarios adecuados.
2. En cada sesión solo debe evaluarse un número de muestras que no provoque fatiga a los jueces.
3. Se elegirán vehículos adecuados para muestras (si es posible debe prescindirse de vehículos) y se ofrecerán cantidades controladas de muestra, a temperaturas óptimas en cada caso, a los evaluadores para evitar su saturación y fatiga.

### **c. Pruebas sensoriales afectivas**

Son pruebas subjetivas en las que los jueces expresan su reacción particular ante un producto (si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, si prefiere uno u otro...). Las suelen realizar jueces consumidores (suelen requerirse al menos 30) (Regiero 2011). Los tipos de pruebas afectivas pueden ser:

**Pruebas de preferencia.** Se trata de conocer si el juez prefiere una muestra sobre otra. Se presentan dos muestras y se le pregunta al juez cual prefiere. Se incluye en el cuestionario un apartado de observaciones para que el juez explique, si lo desea, en que basa su elección. Los resultados se evalúan mediante tablas de significación estadística (Regiero 2011).



**Pruebas de grado de satisfacción.** Se aplican cuando el número de muestras es mayor que 2 ó cuando se desea obtener mayor información sobre el producto. Se utilizan escalas hedónicas (miden sensaciones agradables y desagradables) que pueden ser verbales o gráficas (Regiero 2011).

*Escalas hedónicas verbales.* Los jueces describen la sensación que les produce la muestra entre las posibilidades que se le ofrecen en la escala. La escala más simple es de la tres puntos: Me gusta, ni me gusta ni me disgusta, me disgusta. La más empleada es la de nueve puntos que se puntúa (sin que la puntuación aparezca en el cuestionario) de la siguiente manera:

<b>Descripción</b>	<b>valor</b>
Me gusta muchísimo	+4
Me gusta mucho	+3
Me gusta bastante	+2
Me gusta ligeramente	+1

*Escalas hedónicas gráficas.* La descripción verbal se sustituye por la elección que los jueces realizan para cada muestra en una escala gráfica (caritas, fotografías) con puntuaciones equivalentes a las de la escala verbal.

Los valores numéricos obtenidos por el total de los jueces para cada muestra pueden ser tratados como si se tratase de una dimensión física y representada gráficamente o sometidos a análisis estadístico (análisis de la varianza, análisis de regresión, etc).

**Pruebas de aceptación.** Mide el deseo de una persona de *adquirir* un producto, además de su preferencia por él y su grado de satisfacción. Se realizan mediante cuestionarios complejos que contienen preguntas sobre el nivel socio-económico cultural del juez, además de la pregunta sobre su disposición a adquirir el producto evaluado (Regiero 2011).

### III. METODOS

#### 3.1. Ubicación y descripción del área de estudio

##### 3.1.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los ambientes del Laboratorio de Control de Calidad de Aguas de la Universidad Nacional Intercultural de la Amazonia. Para ello se recolectó las hojas de noni y guanábana que se encontraron en el distrito de Yarinacocha, región Ucayali, provincia Coronel Portillo; respecto al té verde se recolectaron del Centro Poblado La Divisoria, provincia de Padre Abad, región Ucayali.

##### 3.1.2. Descripción del área de estudio

El área de estudio corresponde al de alimentos funcionales. Siendo el tipo de la investigación aplicado, porque se utilizó los conocimientos establecidos para la optimización de mezclas de hojas de las tres especies vegetales. El nivel de la investigación es experimental, porque se manipuló las variables (porcentajes de guanábana, noni y té verde) y se evaluó el efecto (contenido de polifenoles y los atributos sensoriales) en la infusión.

#### 3.2. Identificación y descripción del material experimental

##### 3.2.1. Identificación del material experimental

- Hojas de noni
- Hojas de guanábana
- Hojas de té verde

##### 3.2.2. Descripción del material experimental

###### a. Equipos

Centrifuga MIKRO 22R (Hettich) C1110. estufa Memmert ODH6-9240 (TOMOS Heating Dryng Oven). balanza analítica Ohaus, modelo PA224, sensibilidad 0.0001 g. , espectrofotómetro Thermo Electronic, modelo G10S UV-Vis., vortex ISOLab, modelo MX-S.

###### b. Reactivos

Agua destilada desionizada (H<sub>2</sub>O<sub>dd</sub>), Folin ciocalteau, 2N (Sigma Aldrich), carbonato de sodio, acido gálico (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>), agua destilada.

### c. Materiales

Cubetas de poliestireno 1x1x4cm, botellas ámbar de 250 mL., tips, algodón, alcohol, bolsas aluminadas, micropipetas ISOLab, 5 - 50 uL, 20 - 200 uL, 100 - 1000 uL.

### 3.3. Variables

La presente investigación se realizó en dos etapas: En la primera etapa se determinó el efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de las hojas de guanábana, noni y té verde. En la segunda etapa se determinó el efecto de la mezcla de hojas de guanábana, noni y té verde en el contenido de polifenoles y atributos sensoriales de la infusión. En el Cuadro 4, se muestra la operacionalización de las variables.

**Cuadro 4** Operacionalización de variables

ETAPA	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADOR	
<b>Primera Etapa</b>	Variable independiente	Temperatura de secado	Temperatura	50, 60 y 70°C
	Variable dependiente	Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso	Concentración	mg /100 mL
<b>Segunda Etapa</b>	Variable independiente	Hojas de guanábana, noni y té verde	Mezcla de hojas de guanábana, noni y té verde	% de mezcla de las hojas
	Variable dependiente	Contenido de polifenoles totales en la infusión Atributos sensoriales	Concentración Olor, sabor, color	mg /100 mL Puntaje asignado en la evaluación

FUENTE: Elaboración propia.

### 3.4. Población y muestra

#### 3.4.1. Población

La población estuvo constituida por las hojas de guanábana y noni de las plantas que se encuentran en el distrito de Yarinacocha; mientras que para las hojas de té verde fueron las que se recolectaron del Centro Poblado - La Divisoria que cuenta con características de pertenecer a una población biodiversa (Distrito: Padre Abad, Provincia de Padre Abad, región: Ucayali, Latitud Sur: 9° 11' 48.5" S, Longitud Oeste 75° 46' 14.7" W, Altitud: 1497 msnm).

### 3.4.2. Muestra

Se trató de un muestreo por conveniencia, porque se seleccionaron las hojas jóvenes y sanas los cuales se secaron para obtener 100 gramos de producto pulverizado se requiere 1,2 kilogramos de materia prima (hojas de cada tipo de planta).

## 3.5. Tratamientos

### 3.5.1. Efecto de la temperatura en el contenido de polifenoles totales

Para determinar el efecto de la temperatura en el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de las hojas de guanábana, noni y té verde, se aplicó el Diseño Completo al Azar (para cada tipo de hoja). Siendo el modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_i$  = Contenido de polifenoles (mg/100 mL)

$T_i$  = Efecto de la temperatura de secado (50, 60 y 70°C)

$E_{ij}$  = Error experimental

### 3.5.2. Efecto de la mezcla de hojas en el contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales de la infusión

Para determinar el efecto de la mezcla de hojas en el contenido de polifenoles totales y atributos sensoriales de la infusión se aplicó la metodología de superficie de respuesta. Siendo el modelo estadístico de primer orden con interacción:

$$Y_i = B_0 + B_1.X_1 + B_2.X_2 + B_3.X_3 + B_4.X_1.X_2 + B_5.X_1.X_3 + B_6.X_2.X_3 + B_7.X_1.X_2.X_3 + E$$

Teniendo la restricción:  $X_1 + X_2 + X_3 = 1$

Donde:

$X_i$  : Fracción del componente de la mezcla (hojas de guanábana, noni y té verde)

$Y_i$  : Función respuesta (contenido de polifenoles totales o atributo sensorial)

$B_i$  : Coeficientes de regresión del modelo a estimar ( $B_0, B_1, \dots, B_i$ )

$B_0$  : Estimación del intercepto.

$B_1, \dots, B_7$  : Estimación de los coeficientes lineales.

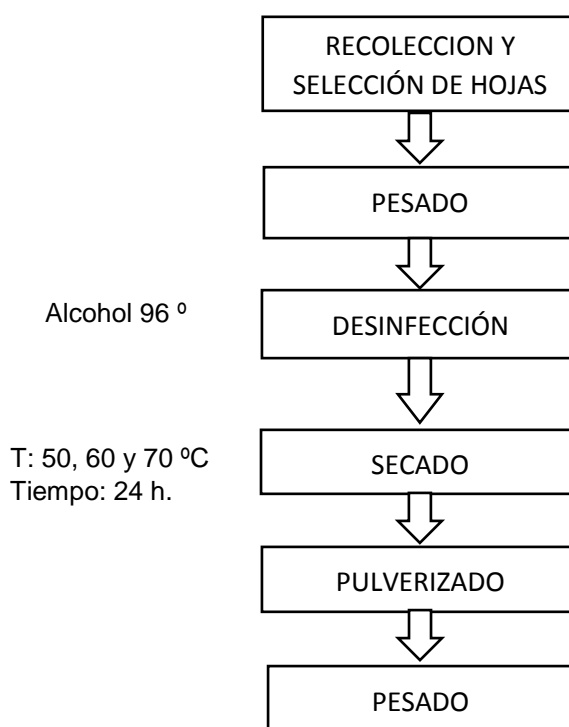
$E$  : Error experimental.

Para el tratamiento de los resultados se usó el software estadístico Statgraphics Centurión XV, con el cual se obtuvo el análisis de varianza de los datos y un análisis gráfico con el cual se hallaron los valores óptimos de las variables.

### 3.6. Metodología

#### 3.6.1. Procedimiento para la obtención del pulverizado de las hojas.

Para la elaboración del pulverizado de las hojas se trabajó según el diagrama de bloque mostrado en la Figura 4.



**FIGURA 4.** Diagrama de flujo para la obtención de la muestra pulverizada.

#### a. Recolección y selección de las hojas

La recolección de las hojas y peciolo se realizó utilizando una tijera esterilizada con alcohol. Para la selección se tuvo en cuenta la recomendación mencionada en la página web EcoAgricultor.

- **Morfología:** Hojas sanas, sin manchas ni agujeros, de color uniforme, sin presencia de patógenos.
- **Ontogenia:** se seleccionó una planta joven, debido a que según las referencias concentran la mayor cantidad de metabolitos secundarios.

- **Temporada:** la cosecha se realizó en épocas de verano, pero, en el trópico se permite extraer en época de invierno, en las primeras horas del día.

**b. Pesado**

Las hojas fueron pesadas con la finalidad de conocer la cantidad de material vegetal que se está utilizando.

**c. Desinfección**

Las hojas fueron desinfectadas con alcohol 96° antes de entrar a la estufa.

**d. Secado**

Se pesó las hojas y se colocaron en estufa por 24 horas, a 50, 60 y 70 °C, por cada muestra respectivamente, con el objeto de eliminar la humedad.

**e. Pulverizado**

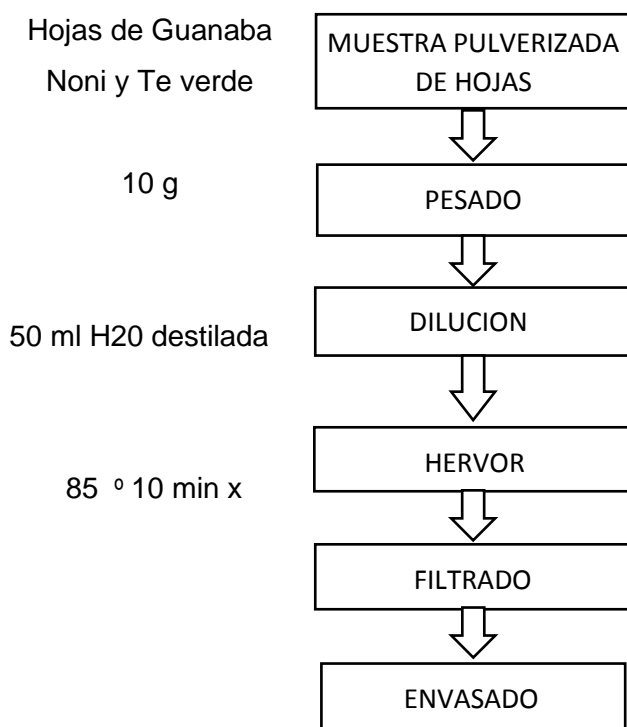
Las muestras secas se pulverizaron con un molidor, con el objeto de acceder al interior de su tejido obteniéndose en partículas pequeñas.

**f. Pesado**

El pesado se realizó para conocer el rendimiento durante el secado; además, la cantidad de muestra necesaria para el análisis del contenido de polifenoles y para la preparación de infusiones. Las hojas pulverizadas se guardaron en bolsas aluminizadas.

### 3.6.2. Preparación del extracto acuoso

Para la elaboración de la preparación del extracto acuoso se trabajó según el diagrama de bloque mostrado en la Figura 5.



**FIGURA 5.** Diagrama de Flujo de la preparación del extracto acuoso

#### a. Muestra pulverizada de hojas

Se trabajó con las muestras pulverizadas de guanábana, noni y te verde respectivamente.

#### b. Pesado

Las hojas fueron pesadas, 10 gramos considerando en los tratamientos con la finalidad de conocer la cantidad de material vegetal que se está utilizando.

#### c. Dilución

Las muestras de hojas fueron aforadas a 50 mL con agua destilada.

#### d. Hervor

Se colocó en la cocina hasta un pequeño hervor 10 min aproximadamente a 85 grados con el fin de extraer su aroma y propiedades químicas.

#### **e. Filtrado**

El extracto se filtró con el fin de extraer la parte líquida de la mezcla, con la ayuda de tela filtrante.

#### **f. Envasado**

El envasado se realizó en botellas ámbar, previamente rotuladas y se guardó en refrigeración.

### **3.6.3. Evaluación de polifenoles totales por método Folin-Ciocalteu**

Los polifenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu modificado por Sandoval *et al.* (2001).

#### **a. Preparación de la solución de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 20%**

Se preparó una solución de carbonato de sodio al 20% pesando 5 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en un matraz aforado con 25 mL con agua destilada y hasta su uso se colocó en un envase de vidrio color ámbar en refrigeración.

#### **b. Preparación del ácido gálico al 1000 $\mu\text{g/mL}$**

Se pesó 0,01 g de ácido gálico en una fiola de 50 mL aforado con agua destilada y se agitó hasta disolver por completo y hasta su uso se colocó en un envase de vidrio color ámbar a refrigeración.

#### **c. Determinación de la curva estándar**

Para la curva estándar se preparó una solución madre a 1000  $\mu\text{g/mL}$  de ácido gálico a partir de ello a diferentes concentraciones comprendidas entre 100, 200, 400, 600, 800  $\mu\text{g/mL}$  respectivamente. En cada tubo de ensayo se le adicionó 1580  $\mu\text{L}$  de agua destilada, 20  $\mu\text{L}$  de soluciones diluidas, 100  $\mu\text{L}$  de la solución de Folin – ciocalteu agitando gradualmente.

Posteriormente la reacción se neutralizó agregando 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % agitando gradualmente y finalmente se llevó a almacenamiento en condiciones de oscuridad por espacio de 2 horas a temperatura ambiente, con el fin de obtener una lectura óptima en el espectrofotómetro. En la preparación del blanco se adicionó 20  $\mu\text{L}$  de agua destilada en reemplazo de la muestra. Cumplido el tiempo de la reacción se realizó las lecturas respectivas de cada muestra en el espectrofotómetro Genesys 10 UV/Vis a una longitud de onda de 740 nm, de acuerdo al método Folin-Ciocalteu.



#### d. Cuantificación de polifenoles totales

La reacción se realizó adicionando a los tubos 1580  $\mu\text{L}$  de agua destilada, 20  $\mu\text{L}$  de dilución filtrada, se homogenizó ligeramente, seguido se agregó 100  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin – Ciocalteu y 300  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20%, finalmente se llevó a almacenamiento por espacio de 2 horas. Paralelamente se preparó el blanco con agua destilada y se procedió a trabajar bajo las mismas condiciones, este blanco sirvió para calibrar el espectrofotómetro, cumplido el tiempo en el que se dio la reacción se realizaron las lecturas respectivas de cada muestra en el espectrofotómetro a una longitud de onda 740 nm Las absorbancias que se obtuvieron fueron reemplazadas en la ecuación de la curva estándar y expresadas en equivalencia de ácido gálico (mg EAG/ 100 g muestra seca).

### 3.6.4. Procedimiento para la preparación de los extractos acuosos de la mezcla

#### a. Formulación y preparación del filtrante

La formulación de los filtrantes se realizó en base al diseño simplex centroide generado por el programa Statgraphics Centurión XV. Las hojas pulverizadas de guanábana, noni y té verde se envasaron en bolsitas filtrantes (cuya característica es ser no hidrosoluble, no aglutinante - contacto con el producto). Cada bolsita contenía 2 g de mezcla. En el Cuadro 5, se muestra la representación del diseño simplex centroide y la composición de los filtrantes.

**Cuadro 5** Representación del diseño simplex centroide aplicado. Los números de 1 – 10 representan a las mezclas

Mezclas de hojas	Té verde ( $X_1$ )	Noni ( $X_2$ )	Guanábana ( $X_3$ )
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	0
5	$\frac{1}{2}$	0	$\frac{1}{2}$
6	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
7	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$
8	$\frac{4}{6}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{6}$
9	$\frac{1}{6}$	$\frac{4}{6}$	$\frac{1}{6}$
10	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{4}{6}$

FUENTE: Elaboración propia.

#### **b. Extracción acuosa de la mezcla**

En una taza se colocó 300 mL de agua caliente (agua potable recién hervida en una olla común y que se encontró aproximadamente a 100°C), se colocó una bolsita filtrante (2 g de las muestras de hojas pulverizadas) según el diseño establecido. El tiempo de permanencia de las bolsitas en agua caliente fue de tres minutos y se agitó ligeramente la bolsita cada minuto para la preparación. Al finalizar, se filtró y el líquido se conservó en botella ámbar en refrigeración hasta su posterior análisis.

#### **c. Metodología experimental para la obtención de polifenoles**

Se tomó 20 µL de extracto al cual se le agregó 1580 µL de agua destilada y 100 µL de Folin 0.25N. Luego se mezcló y dejó reaccionar por tres minutos. Se agregó 300 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se mezcló. Se almacenó por dos horas protegiéndolo de la luz, luego se realizó la lectura a 740 nm.

La temperatura fue la ambiental (37°C), no se toma en cuenta la humedad relativa porque no es un caso de fermentación, tampoco de secado, sino es un tiempo que se deja a la muestra en reposo para que se lleve a cabo la reacción.

### **3.6.5. Análisis sensorial**

#### **a. Preparación de la infusión**

En una taza se colocó 300 mL de agua caliente (agua potable recién hervida en una olla común y que se encontró aproximadamente a 100°C), se colocó una bolsita filtrante (2 g de las muestras de hojas pulverizadas) según el diseño establecido. El tiempo de permanencia de las bolsitas fue de tres minutos y se agitó ligeramente la bolsita cada minuto para la preparación. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se procedió con la evaluación sensorial.

#### **b. Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial de la infusión (mezcla de hojas pulverizadas) se realizó utilizando los sentidos de la vista, gusto y el olfato, a cargo de un jurado compuesto por veinte panelistas semi entrenados, quienes evaluaron los atributos: Sabor, olor y color. La escala hedónica utilizada para la evaluación sensorial fue:

- 1: Me disgusta mucho
- 2: Me disgusta
- 3: No me gusta ni me disgusta mucho
- 4: Me gusta
- 5: Me gusta mucho

### **3.6.6. Optimización de la mezcla**

Con el reporte del contenido de polifenoles y los resultados de la evaluación sensorial, se procedió a tabular los datos e ingresarlos al programa del STATGRAPHICS Centurium XV, para determinar la mezcla óptima con la metodología de superficie de respuesta, mediante el diseño simplex centroide.

## **3.7. Recolección de datos**

### **3.7.1. Fuentes de información**

La presente investigación está fundamentada de datos obtenidos de artículos científicos, información bibliográfica, y experimentación propia.

### **3.7.2. Unidad experimental y unidad de medición**

Para realizar la investigación se necesitó 1.2 kilogramos de hojas frescas de cada planta, noni, guanábana y te verde con el fin de obtener 100 gramos de producto molido que será requerido para cada tratamiento.

### **3.7.3. Tipo de muestreo**

Se aplicó el muestreo no probabilístico, porque la investigación se adaptó fácilmente al tipo de muestreo intencional o de conveniencia, porque se tomó muestras teniendo en cuenta la accesibilidad y estado en que se encontraron las hojas de cada especie.

### **3.7.4. Técnicas para la recolección de datos**

Para la recolección de datos se aplicó la técnica de la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración que mostró la curva patrón de absorbancia y polifenoles respectivamente. Además, se tomó nota de las características que presentaron las reacciones y lecturas durante las pruebas.

### **3.8. Procesamiento de los datos**

Para la demostración gráfica de la curva estándar de la cuantificación de polifenoles se utilizó Excel 2016. También se utilizó el Análisis de Varianza para la cuantificación de polifenoles totales para los tratamientos de cada especie de plantas.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles

Para evaluar el efecto de la temperatura en el contenido de polifenoles totales por cada tipo de especie de hoja, se tuvo que realizar el análisis de varianza (ANOVA) con los datos del Cuadro 18 (Anexo 1).

#### 4.1.1. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de té verde

En el Cuadro 6, se muestra el análisis de varianza para evaluar el efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles del extracto acuoso de las hojas de té verde.

**Cuadro 6.** ANOVA para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de té verde por temperatura de secado

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	69609.90	2	34804.90	40.89	0.00
Error Experimental	5106.86	6	851.14		
Total	74716.80	8			

Se observa que existe una influencia altamente significativa ( $Pv < 0.01$ ) de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles totales del extracto. Esto conlleva a realizar la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, cuyo resultado se muestra en el Cuadro 7.

**Cuadro 7.** Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales (mg EAG/100 g) en el extracto acuoso de té verde.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Grupos Homogéneos <sup>1</sup>
60°C	3	244.82	a
70°C	3	392.39	b
50°C	3	454.52	b

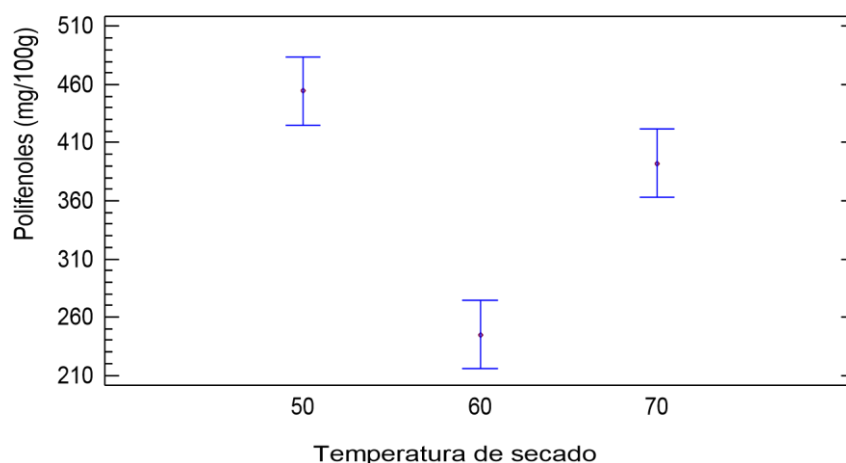
<sup>1</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

FUENTE: Elaboración propia.

Se observa la formación de dos grupos homogéneos. Un grupo formado únicamente por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de té verde cuando estas son secadas a 60°C, otro grupo formado por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de té verde cuando estas son secadas a 70°C y 50°C, entre los cuales no existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles. De este grupo, el extracto acuoso de las hojas que fueron secadas a 50°C es el que presenta mayor contenido de polifenoles (454.52 mg/100g).

El contenido de polifenoles totales encontrados en las hojas de Té verde es diferente a lo reportado por *Mora, A; Parra, J; Chaverri, JM; Arias, ML (2013)*, que determino en diferentes extractos de té verde un contenido de fenoles totales de  $18.1 \pm 0.4$  g EAG/100 g cuando la extracción lo realiza con 50% v/v (agua/metanol); de  $23.4 \pm 0.2$  g EAG/100 g cuando la extracción lo realiza con 50% v/v (agua/acetona); de  $33.4 \pm 8$  g EAG/100 g cuando la extracción lo realiza con 50% v/v (agua/etanol). Dado que el contenido de compuestos fenólicos varía de acuerdo a la marca de té verde, dicha diferencia podría deberse al método de extracción y a la procedencia de las muestras.

En la Figura 6, se muestra el comportamiento del contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de té verde por temperatura de secado.



**FIGURA 6.** Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de té verde.

Las diferencias en los constituyentes de la hoja de té se deben a varios factores como: variedad de la planta, época de zafra o cosecha, edad de la hoja, clima, tipo de suelo, prácticas de cultivo, contaminación del ambiente, condiciones de secado y procesos tecnológicos durante la producción del té (*Wang et al.* citado por *Staszewsky 2011*), métodos analíticos y tipo de solvente utilizado en la extracción (*Wang et al.* citado por *Staszewsky 2011*).

#### 4.1.2. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de guanábana

En el Cuadro 8, se muestra el análisis de varianza realizado para evaluar el efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles del extracto acuoso de las hojas de guanábana.

**Cuadro 8.** Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	333961.00	2	166980.00	37.93	0.00
Error Experimental	26411.10	6	4401.85		
Total	360372.00	8			

Se observa que la temperatura de secado influye de un modo altamente significativo ( $Pv < 0.01$ ) en el contenido de polifenoles totales del extracto. Esto conlleva a realizar la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, cuyo resultado se muestra en el Cuadro 9.

En el Cuadro 9, se muestra la comparación múltiple de medias para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de guanábana.

**Cuadro 9** Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de guanábana

Temperatura	Cantidad	Promedio	Grupos Homogéneos <sup>1</sup>
50°C	3	376.03	a
60°C	3	759.67	B
70°C	3	805.76	B

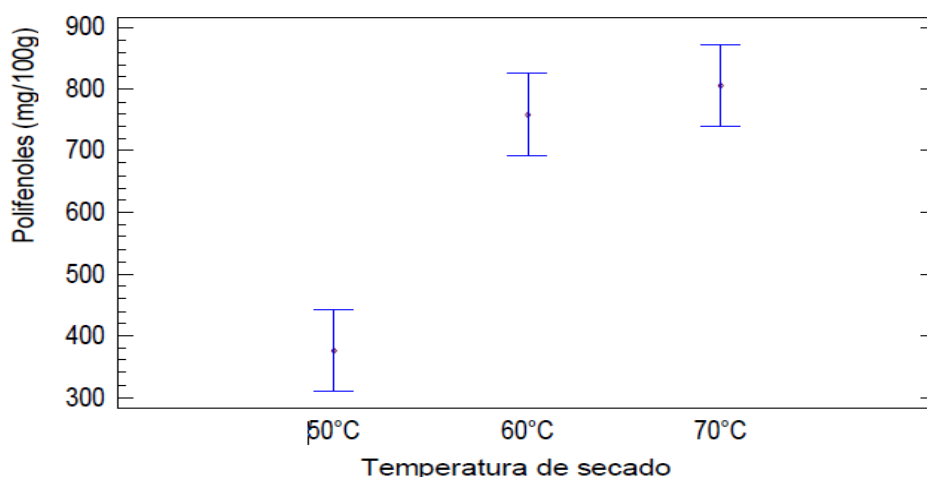
<sup>1</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

FUENTE: Elaboración propia.

Se observa la formación de dos grupos homogéneos. Un grupo formado únicamente por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de guanábana cuando estas son secadas a 50°C, otro grupo formado por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las holas de Guanábana cuando estas son secadas a 60°C y 70°C, entre los cuales no existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles. De este grupo, el extracto acuoso de las hojas que fueron secadas a 70°C es el que presenta mayor contenido de polifenoles (805.76 mg/100g).

Según (Aquino-Bolaño 2017.) Efecto de diferentes métodos de cocción sobre compuestos fenólicos y actividad antioxidante en flor comestible de gasparitos (*Erythrina americana*). Por la elevada temperatura que se alcanza, la cocción es un método efectivo para eliminar los factores antinutrimientales. No obstante, los compuestos fenólicos, al ser termosensibles, también se pueden degradar. Diversos autores han reportado que en distintas hortalizas y flores comestibles, durante su cocción, disminuye la concentración de polifenoles y antocianinas en comparación con el tejido fresco, sin embargo en otros estudios se ha observado lo contrario.

En la Figura 7, se muestra el comportamiento del contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de guanábana por temperatura de secado.



**FIGURA 7** .Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de guanábana



#### 4.1.3. Contenido de polifenoles en el extracto acuoso de noni

En el Cuadro 10, se muestra el análisis de varianza para evaluar el efecto de la temperatura de secado en el contenido de polifenoles del extracto acuoso de las hojas de noni.

**Cuadro 10** Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto de noni por temperatura de secado.

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	47792.20	2	23896.10	8.97	0.016
Error Experimental	15979.40	6	2663.24		
Total	63771.60	8			

FUENTE: Elaboración propia.

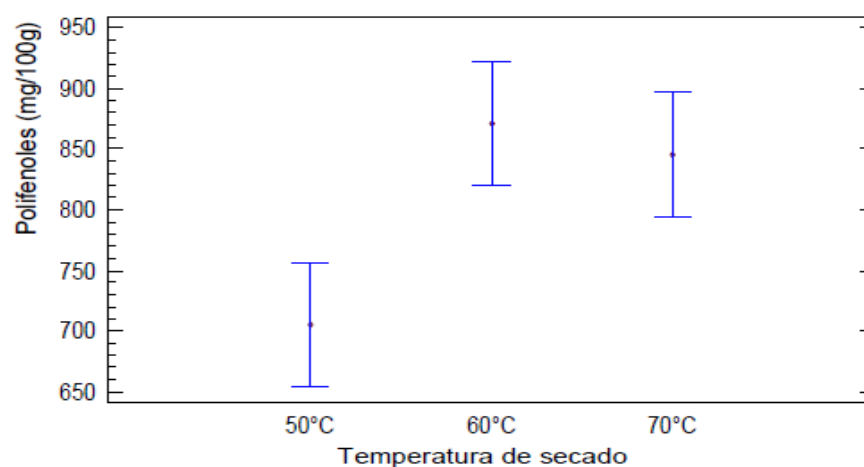
En el Cuadro 11, se muestra la comparación múltiple de medias para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de noni. Se observa la formación de dos grupos homogéneos. Un grupo formado únicamente por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de noni cuando estas son secadas a 50°C, otro grupo formado por el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas de Noni cuando estas son secadas a 60°C y 70°C, entre los cuales no existe diferencia significativa en el contenido de polifenoles. De este grupo, el extracto acuoso de las hojas que fueron secadas a 60°C es el que presenta mayor contenido de polifenoles (871.49 mg/100g).

**Cuadro 11** Comparación múltiple de medias de Tukey para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de noni por temperatura de secado.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Grupos Homogéneos <sup>1</sup>
50°C	3	705.43	a
70°C	3	845.15	b
60°C	3	871.49	b

<sup>1</sup> Letras diferentes indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

La concentración de polifenoles totales determinados en el extracto acuoso de la presente investigación es mayor a los reportados por Gallego (2016), quien encontró en los extractos etanólicos, un contenido de polifenoles totales de 336,36 mg GAE/ g peso seco para la Tara, en *C. Decapetala* (63,83 mg GAE/ g peso seco) y en las hojas del tomillo (54,39 mg GAE/ g peso seco). La menor concentración de polifenoles encontró en las hojas de noni (4,46 mg GAE/ g peso seco) y las flores de lavanda (17 mg GAE/ g peso seco). Esta diferencia podría ser explicada por la metodología empleada en la extracción; también por los criterios de obtención de las hojas y peciolas, para los que se tuvo en cuenta la morfología, ontogenia (se recolectó hojas de una planta joven, por presentar mayor cantidad de metabolitos secundarios) y temporada (se recolectó en época de invierno y en la primera hora del día). En la Figura 8, se muestra el comportamiento del contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de noni por temperatura de secado.



**FIGURA 8.** Contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni.

Del secado de hojas y del contenido de polifenoles determinado en los extractos acuosos se estableció que, para preparar las infusiones se usó hojas de noni que fueron secadas a 60°C, las hojas de guanábana que fueron secadas a 70°C y con hojas de Té verde que fueron secadas a 50°C.

#### 4.2. Contenido de polifenoles en la infusión obtenida de la mezcla de hojas

La preparación de la infusión se efectuó con el contenido del sobre de té, para ello se consideró 2 g, que es el peso comercial de los sobres de té que se encuentra en el mercado.

En el Cuadro 12, se muestra el diseño en simbología proporcionada por el Software Statgraphics y las cantidades (peso) reales de cada componente (hojas) de la mezcla.

**Cuadro 12** Cantidad de hoja por muestra de infusión, según la codificación establecida en el diseño de mezcla.

Mezclas de hojas	Codificación de muestras			Peso de hojas por muestra		
	Té verde (X <sub>1</sub> )	Noni (X <sub>2</sub> )	Guanábana (X <sub>3</sub> )	Té verde (g)	Noni (g)	Guanábana (g)
1	1	0	0	2.00	0.00	0.00
2	0	1	0	0.00	2.00	0.00
3	0	0	1	0.00	0.00	2.00
4	1/2	1/2	0	1.00	1.00	0.00
5	1/2	0	1/2	1.00	0.00	1.00
6	0	1/2	1/2	0.00	1.00	1.00
7	1/3	1/3	1/3	0.67	0.67	0.67
8	4/6	1/6	1/6	1.33	0.33	0.33
9	1/6	4/6	1/6	0.33	1.33	0.33
10	1/6	1/6	4/6	0.33	0.33	1.33

FUENTE: Elaboración propia

El Cuadro 13, muestra el contenido de polifenoles totales de la infusión preparada según los tratamientos considerados en la investigación cuyo diseño de mezclas fue establecido por el Software Statgraphics.

La infusión fue preparada considerando la presentación comercial del té, simulando un producto presente en el mercado. Para la determinación del contenido de polifenoles totales de la infusión se procedió en forma similar cuando se determinó para los extractos de las hojas por separado.

**Cuadro 13.** Contenido de polifenoles totales en la infusión preparada con la mezcla de hojas secas de Té verde, Noni y Guanábana.

Mezclas de hojas	Té verde (g)	Noni (g)	Guanábana (g)	Polifenoles totales (mg/mL)
1	2.00	0.00	0.00	147.24
<b>2</b>	<b>0.00</b>	<b>2.00</b>	<b>0.00</b>	<b>119.36</b>
3	0.00	0.00	2.00	129.06
4	1.00	1.00	0.00	130.27
5	1.00	0.00	1.00	135.73
6	0.00	1.00	1.00	155.42
7	0.67	0.67	0.67	125.73
8	1.33	0.33	0.33	135.42
9	0.33	1.33	0.33	133.91
<b>10</b>	<b>0.33</b>	<b>0.33</b>	<b>1.33</b>	<b>373.30</b>

FUENTE: Elaboración propia

Observamos que el contenido de polifenoles totales para los tratamientos (cantidad variable de hoja) es diferente para cada infusión. El mayor contenido de polifenoles totales (373.30) correspondió para la infusión de la mezcla de hojas: 0.33 g de té verde, 0.33 g de noni y 1.33 g de guanábana. Mientras que, el menor contenido de polifenoles totales (119.36) se encontró en la infusión de la mezcla de hojas: 0.0 g de té verde, 2.0 g de noni y 0.0 g de guanábana.

El mayor contenido de polifenoles totales encontrado en la infusión es menor a lo reportado por Muñoz-Velásquez *et al.* (2012) quien encontró en la infusión comercial de té verde  $1628.05 \pm 18.17$  ug eq AG/mL. Pero es mayor a lo encontrado por Muñoz Velásquez *et al.* (2012) en la infusión comercial de manzanilla entre  $61.84 \pm 2.79$  ug eq AG/mL y  $69.28 \pm 0.75$  ug eq AG/mL; en la infusión comercial de limón ( $69.91 \pm 2.00$  ug eq AG/mL y  $75.66 \pm 1.20$  ug eq AG/mL); en la infusión comercial de hierbabuena ( $150.80 \pm 10.37$  ug eq AG/mL y  $231.85 \pm 4.17$  ug eq AG/mL); en la infusión comercial de arnica ( $173.31 \pm 1.87$  ug eq AG/mL) y en la infusión comercial de boldo ( $312.71 \pm 4.44$  ug eq AG/mL).

#### **4.3. Atributos sensoriales de la infusión obtenida de la mezcla de hojas**

Las infusiones preparadas con las muestras establecidas en el diseño se sometieron a una evaluación sensorial por un grupo de 20 panelistas semientrenados. Los resultados de la evaluación de los atributos sabor, olor y color se muestran en el Anexo 6, a partir del cual se procesaron los datos, cuyo análisis de muestra los Cuadros **14, 15 y 16**.

**Cuadro 14.** Prueba de Friedman para el atributo SABOR.

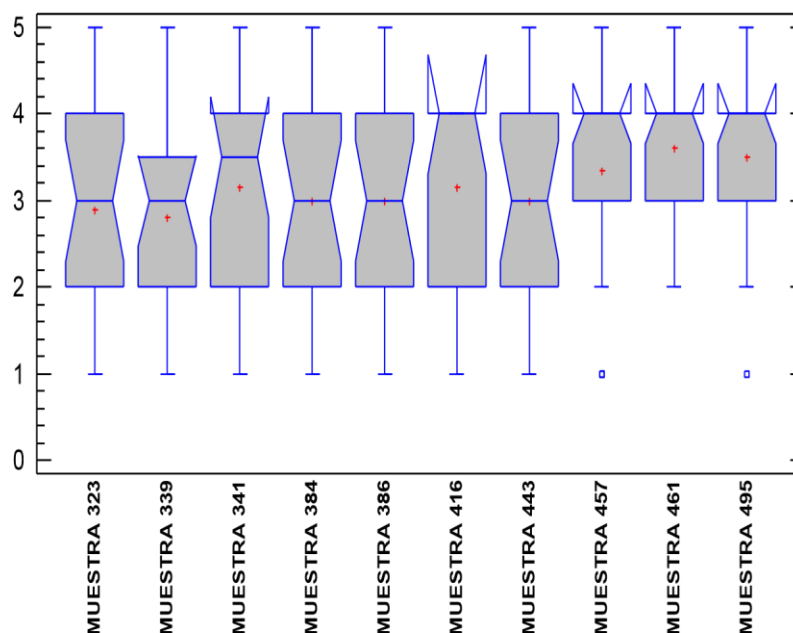
MUESTRAS DE INFUSIÓN DE HOJAS SECAS (X <sub>1</sub> : Té verde; X <sub>2</sub> : Noni; X <sub>3</sub> : Guanábana)	Tamaño de Muestra	Rango Promedio
MUESTRA 323 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	4.300
MUESTRA 339 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	3.775
MUESTRA 341 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	5.525
MUESTRA 384 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 2.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	4.775
MUESTRA 386 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	4.775
MUESTRA 416 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 1.33)	20	5.525
MUESTRA 443 (X <sub>1</sub> : 0.66; X <sub>2</sub> : 0.67; X <sub>3</sub> : 0.67)	20	4.800
MUESTRA 457 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 2.00)	20	6.525
MUESTRA 461 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	7.725
MUESTRA 495 (X <sub>1</sub> : 1.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	7.275
<b>Estadístico = 59.514</b>		<b>Pv = 1.663E-9</b>

FUENTE: Elaboración propia

La prueba de Friedman aplicada a los resultados de la evaluación sensorial del atributo SABOR de la infusión de la mezcla de hojas secas de té verde, noni y guanábana ponen de manifiesto la existencia de diferencia altamente significativa entre las muestras, siendo las muestras 457, 461 y 495 las que mayor rango presentaron. Para evaluar la diferencia entre las muestras se procedió a realizar el análisis gráfico cualitativo de caja y bigotes.

En la figura 9, se muestra el diagrama de caja para los resultados de la evaluación del atributo SABOR para las muestras de la infusión. Se puede observar el comportamiento de la mediana, de manera especial lo correspondiente a las muestras 416, 457, 461 y 495, donde el 50% de los resultados son mayores al puntaje 4 (Me gusta y Me gusta mucho).

Para la muestra 416, el 25% de los puntajes están entre 2 (Me disgusta) y 3 (No me gusta ni me disgusta) y el otro 25% de los puntajes tiene 1 (Me disgusta mucho). Mientras que para las muestras 457, 461 y 495, el 25% de los puntajes están entre 3 (No me gusta ni me disgusta) y el otro 25% de los puntajes tiene 2 (Me disgusta). Lo cual implica que las infusiones con mejor puntaje son las muestras 457 (té verde: 0.00; noni: 0.00; guanábana: 2.00), 461 (té verde: 0.00; noni: 1.00; guanábana: 1.00) y 495 (té verde: 1.34; noni: 0.33; guanábana: 0.33).



**FIGURA 9** Diagrama de caja y bigotes para el atributo SABOR

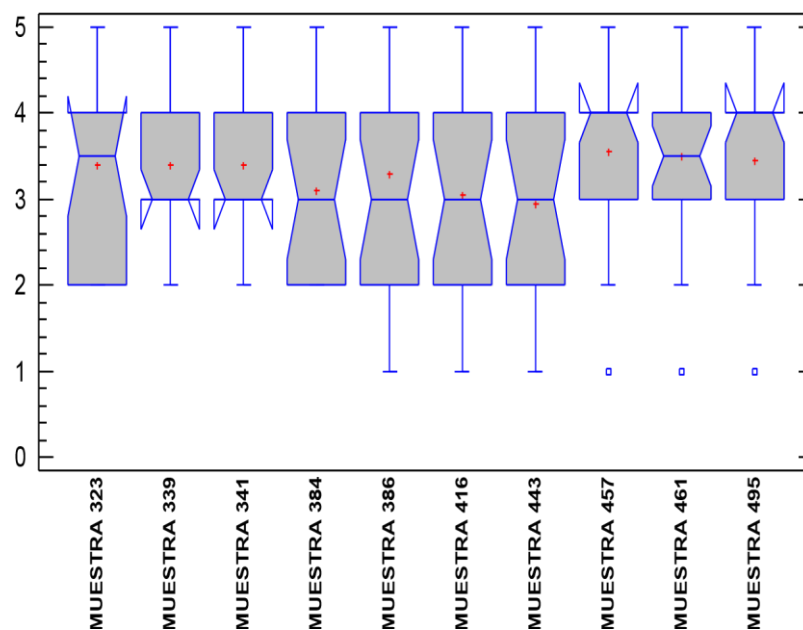
El Cuadro 15, muestra el análisis no paramétrico realizado a la evaluación de los panelistas para el atributo OLOR.

**Cuadro 15.** Prueba de Friedman para el atributo OLOR

MUESTRAS DE INFUSIÓN DE HOJAS SECAS (X <sub>1</sub> : Té verde; X <sub>2</sub> : Noni; X <sub>3</sub> : Guanábana)	Tamaño de Muestra	Rango Promedio
MUESTRA 323 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	5.95
MUESTRA 339 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	5.95
MUESTRA 341 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	5.95
MUESTRA 384 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 2.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	4.45
MUESTRA 386 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	5.45
MUESTRA 416 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 1.33)	20	4.20
MUESTRA 443 (X <sub>1</sub> : 0.66; X <sub>2</sub> : 0.67; X <sub>3</sub> : 0.67)	20	3.70
MUESTRA 457 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 2.00)	20	6.70
MUESTRA 461 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	6.45
MUESTRA 495 (X <sub>1</sub> : 1.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	6.20
<b>Estadístico = 49.435</b>		<b>Pv = 1.376E-7</b>

FUENTE: Elaboración propia

La prueba de Friedman aplicada a los resultados de la evaluación del atributo OLOR de la infusión de la mezcla de hojas secas resalta la existencia de una diferencia altamente significativa entre las muestras, siendo las muestras 495, 461 y 457 las que mayor rango presentaron. Para evaluar la diferencia entre las muestras se procedió a realizar el análisis gráfico cualitativo de caja y bigotes.



**FIGURA 10** Diagrama de caja y bigotes para el atributo OLOR

El diagrama de caja muestra el comportamiento de la mediana para los resultados del atributo OLOR de la infusión de la mezcla de hojas secas. Resalta los valores de la mediana de las muestras 457, 461 y 495.

Para las muestras 457 y 495 el 50% de las evaluaciones fueron valores mayores que 4 (Me gusta), el 25% de los datos tuvieron puntaje 3 (No me gusta ni me disgusta) y el otro 25% tuvo el puntaje 2 (Me disgusta); podríamos decir que la muestra 461 presenta el mismo comportamiento; sin embargo, la mediana está entre 3 (No me gusta ni me disgusta) y 4 (Me gusta). Por tanto, las muestras que presentaron mejores resultados para la evaluación sensorial del atributo OLOR corresponde a las muestras 457 (té verde: 0.00; noni: 0.00; guanábana: 2.00) y 495 (té verde: 1.34; noni: 0.33; guanábana: 0.33).

En el Cuadro 16, se muestra el análisis no paramétrico de Friedman realizado a la evaluación de los panelistas para el atributo COLOR.

**Cuadro 16.** Prueba de Friedman para el atributo COLOR.

MUESTRAS DE INFUSIÓN DE HOJAS SECAS (X <sub>1</sub> : Té verde; X <sub>2</sub> : Noni; X <sub>3</sub> : Guanábana)	Tamaño de Muestra	Rango Promedio
MUESTRA 323 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	3.750
MUESTRA 339 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	3.750
MUESTRA 341 (X <sub>1</sub> : 1.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	5.400
MUESTRA 384 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 2.00; X <sub>3</sub> : 0.00)	20	5.650
MUESTRA 386 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	5.400
MUESTRA 416 (X <sub>1</sub> : 0.34; X <sub>2</sub> : 1.33; X <sub>3</sub> : 1.33)	20	5.375
MUESTRA 443 (X <sub>1</sub> : 0.66; X <sub>2</sub> : 0.67; X <sub>3</sub> : 0.67)	20	5.625
MUESTRA 457 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 0.00; X <sub>3</sub> : 2.00)	20	5.650
MUESTRA 461 (X <sub>1</sub> : 0.00; X <sub>2</sub> : 1.00; X <sub>3</sub> : 1.00)	20	8.500
MUESTRA 495 (X <sub>1</sub> : 1.34; X <sub>2</sub> : 0.33; X <sub>3</sub> : 0.33)	20	5.900
<b>Estadístico = 70.047</b>		<b>Pv = 1.490E-11</b>

FUENTE: Elaboración propia

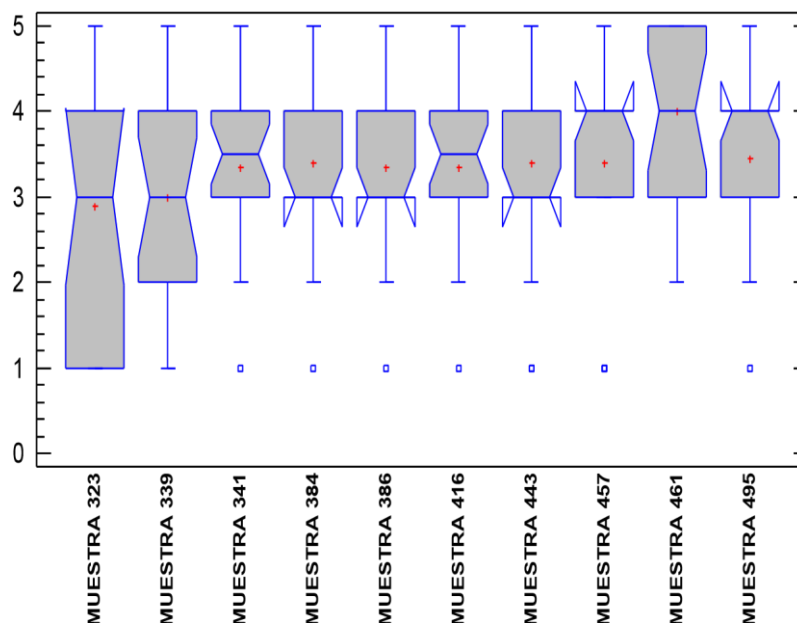
Podemos observar en la prueba de Friedman aplicada a los resultados de la evaluación sensorial del atributo COLOR de la infusión de la mezcla de hojas secas de Té verde, Noni y Guanábana que se ponen de manifiesto la existencia de una diferencia altamente significativa entre las muestras, siendo las muestras 457, 495 y 461 las que mayor rango presentaron. Para evaluar la diferencia entre las muestras se procedió a realizar el análisis gráfico cualitativo de caja y bigotes.

En la figura 11, se muestra el diagrama de caja para los resultados de la evaluación del atributo COLOR para las muestras de la infusión. Podemos observar el comportamiento de la mediana de las muestras 457, 495 y 495, donde el 50% de los resultados corresponden a los puntajes 4 (Me gusta) y 5 (Me gusta mucho). Para la muestra 457, los otros 50% de los puntajes están entre 3 (No me gusta ni me disgusta) y 4 (Me gusta). Para la muestra 461, el 25% de los puntajes están entre 4 y 3 (Me gusta y No me gusta ni me disgusta) y el otro 25% de los puntajes entre 3 y 2 (No me gusta ni me disgusta y Me disgusta). Mientras que para la muestra 495, el 25% de los puntajes están entre 4 y



3 (Me gusta y No me gusta ni me disgusta) y el otro 25% de los puntajes entre 3 y 2 (No me gusta ni me disgusta y Me disgusta).

Por tanto, la infusión con mejor puntaje para el atributo COLOR, es la muestras 457 (Té verde: 0.00; Noni: 0.00; Guanábana: 2.00).



**FIGURA 11** Diagrama de caja y bigotes para el atributo COLOR

#### 4.4. Formulación de la mezcla óptima de la infusión obtenida de la mezcla de hojas

Con los resultados del contenido de polifenoles totales en la infusión mostrada en el Cuadro 13, se procedió a evaluar en el Software estadístico Statgraphics Centurión XVII, para hallar la mezcla óptima de las hojas secas de té verde, noni y guanábana que permita obtener un alto contenido de polifenoles totales, el resultado se muestra en el Cuadro 17.

**Cuadro 17.** Optimización del contenido de polifenoles totales en la infusión

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Proporción Óptima</i>	<i>Cantidades Óptimas</i>
Guanábana	0.0	1.0	<b>0.648</b>	<b>1.296 g</b>
Noni	0.0	1.0	<b>0.352</b>	<b>0.704 g</b>
Té verde	0.0	1.0	0.000	0.00
<b>Meta: Maximizar Polifenoles Totales</b>		<b>208.135</b>	Valor óptimo	

FUENTE: Elaboración propia

Observamos que en la mezcla que permitió maximizar el contenido de polifenoles en la infusión preparada a partir de la mezcla de hojas secas de té verde, noni y guanábana, no contiene té verde, siendo las cantidades por sobre de 2 g (guanábana: 1,296 g y noni: 0.704 g). La mezcla de hojas no necesariamente mejora el contenido de polifenoles totales en las infusiones, los resultados ponen de manifiesto la presencia de un sinergismo negativo (fenómeno por el cual dos factores en combinación tienen un efecto resultante menor que la suma de los efectos esperados) al realizar la mezcla de hojas.

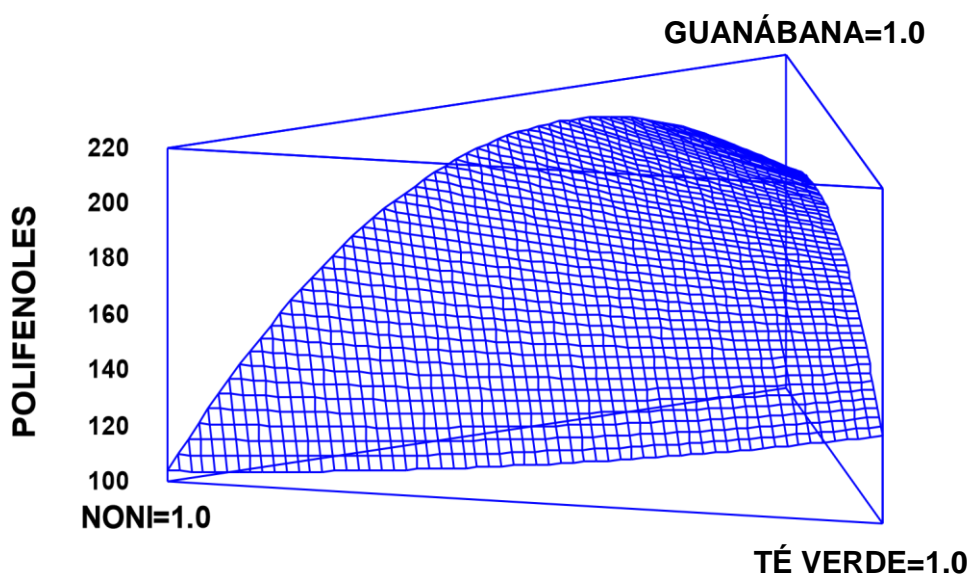
Por otro lado, los resultados de la optimización muestran que la mezcla no debe contener té verde; sin embargo se sabe que los polifenoles y flavonoides del té verde tienen efectos inhibitorios sobre el cáncer (Yang *et al.* citado por Rubio 2015), y tienen propiedades antimutagénicas (Gupta *et al.* citado por Rubio 2015). Además, el té verde es un producto natural que proporciona al ser humano beneficios para su salud. Estas propiedades saludables están estrechamente vinculadas a las sustancias antioxidantes contenidas en ellos, principalmente compuestos fenólicos. Se ha comprobado que estos compuestos antioxidantes tienen un alto potencial para la prevención y el tratamiento de enfermedades como el cáncer, de enfermedades cardiovasculares e inflamatorias y de enfermedades neurodegenerativas (Rubio 2015).

Es sabido que los polifenoles son uno de los metabolitos secundarios más comunes de las plantas y cada vez hay más evidencia de que los constituyentes de algunas bebidas poseen efectos anticancerígenos, antioxidantes y antimutagénicos (Rubio 2015). Luego, la infusión obtenida al mezclar las hojas secas: 0.648 g de guanábana y 0.704 g de noni es la que permitió obtener el mayor contenido de polifenoles totales.

La Figura 12, muestra el diagrama de la Metodología de Superficie de Respuesta aplicada a la mezcla de hojas secas de té verde, noni y guanábana. Se encontró que las

variables té verde, noni y guanábana, no presentan un modelo matemático estadísticamente significativo ( $p > 0.05$ ); sin embargo, se logró modelar a una ecuación cuadrática que se muestra en el anexo 5, en el que se amplían los resultados del análisis estadístico realizado a la mezcla

Observamos que al aumentar la proporción de té verde en la infusión el contenido de polifenoles totales se aleja de la zona de optimización (máxima altura en la Figura 11), el mismo comportamiento se detecta para la proporción de noni; sin embargo, el contenido de polifenoles se incrementa conforme la proporción de guanábana presente en la mezcla se incrementa, pero hasta un límite el cual determina la proporción óptima que se muestra en el Cuadro 17.



**FIGURA 12** Superficie de respuesta para el contenido de polifenoles totales en la infusión

La Figura 13, muestra el diagrama de contornos, lo cual es un complemento a la superficie de respuesta mostrada en la Figura 12. El diagrama de contornos muestra un comportamiento singular, donde confirma lo mencionado anteriormente. Mientras aumenta la proporción de Té verde en la infusión el contenido de polifenoles totales se aleja de la zona de optimización.



## V. CONCLUSIONES

- Se logró optimizar mediante el diseño de experimentos de mezclas las proporciones de la infusión de hojas secas y pulverizadas de guanábana (*Annona muricata*), noni (*Morinda citrifolia*) y té verde (*Camellia sinensis*) en relación al contenido de polifenoles totales, siendo las proporciones: Té verde: 0.00 (0.00 g), Noni: 0.352 (0.704 g) y Guanábana: 0.648 (1.296 g).
- El contenido de polifenoles en el extracto acuoso de las hojas secas de Té verde (*Camellia sinensis* L.), Noni (*Morinda citrifolia*) y Guanábana (*Annona muricata*) se ve afectado por la temperatura a la cual fue secado las hojas. Para las hojas de Té verde el mayor contenido de polifenoles (454.52 mg EAG/100 G) se obtuvo a 50°C; para las hojas de Noni el mayor contenido de polifenoles (871.49 mg EAG/100 G) se obtuvo a la temperatura de 60°C; mientras que para las hojas de Guanábana el mayor contenido de polifenoles (805.76 mg EAG/100 G) se obtuvo a la temperatura de 70°C.
- De las infusiones obtenidas a partir de la mezcla (2 g) de hojas secas y pulverizadas de Té verde (*Camellia sinensis* L.), Noni (*Morinda citrifolia*) y Guanábana (*Annona muricata*), la infusión que presentó el menor contenido de polifenoles corresponde a la mezcla 2 (Té verde: 0.00 g; Noni: 2.00 g y Guanábana: 0.00 g) y la infusión que presentó el mayor contenido de polifenoles corresponde a la mezcla 10 (Té verde: 0.34 g; Noni: 0.33 g y Guanábana: 1.33 g).
- Las infusiones con mejor puntaje para el atributo SABOR son las muestras 457 (Té verde: 0.00; Noni: 0.00; Guanábana: 2.00), 461 (Té verde: 0.00; Noni: 1.00; Guanábana: 1.00) y 495 (Té verde: 1.34; Noni: 0.33; Guanábana: 0.33). Para el atributo OLOR las muestras que presentaron mejores resultados fueron la muestra 457 (Té verde: 0.00; Noni: 0.00; Guanábana: 2.00) y 495 (Té verde: 1.34; Noni: 0.33; Guanábana: 0.33). Mientras que para el atributo COLOR fue la muestra 457 (Té verde: 0.00; Noni: 0.00; Guanábana: 2.00).

## VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere que cuando se desea aprovechar los polifenoles totales en un extracto acuoso de las hojas de Té verde (*Camellia sinensis* L.), Noni (*Morinda citrifolia*) y Guanábana (*Annona muricata*), se debe tener en cuenta que, el secado de las hojas de Té verde deben secarse a 50°C; las de Noni a 60°C y las Guanábana a 70°C.
- Evaluar la influencia del tiempo de obtención de los extracto de la infusión en el contenido de polifenoles totales.
- Complementar el trabajo de investigación con estudios sobre el efecto de la adición de edulcorantes, preservantes y estabilizantes en el contenido de polifenoles totales y en las características organolépticas
- Realizar estudios sobre el comportamiento del contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de las hojas de Té verde, Noni y Guanábana, durante el almacenamiento de los sobres conteniendo la mezcla de hojas.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Almajano, MP; Segovia, F. 2012. Optimización de la extracción de compuestos con actividad antioxidante en residuos de borraja. Barcelona. ES. 6p.
- Aquino-Bolaños, E.N., Á.R. Flores-Sosa, A. Capistrán-Carabarrín, Y. Ruíz-Romero, V. Velásquez-Melgarejo, J.C. Carrillo-Rodríguez y J.L. Chávez Servia. 2017. Efecto de diferentes métodos de cocción sobre compuestos fenólicos y actividad antioxidante en flor comestible de gasparitos,
- Arroyo, J; Martíñez, J; Ronceros, G; Palomino, R; Villarreal, A; Bonilla, P; Palomino, C; Quino, M. 2009. Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (Guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. *An Fac med.* 2009, 70(3): 163-167.
- Ávalos, GA; Pérez-Urria Carril E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca.* 2(3): 119-145.
- Beltrán, D. 2011. Caracterización de los efectos biológicos de los polifenoles en la inflamación y el metabolismo: nuevas perspectivas nutricionales. Tesis Dr. Reus, ES, Universitat Rovira i Virgili. 163 p.
- Cavalcante, JM. 2014. Extração de alquilfenóis da casca, fenólicos da película e efeito do processamento industrial sobre constituintes da amêndoa de castanha de caju. Tesis presentada para optar el grado de Doctor en Ingeniería Química. Universidade Federal do Ceará. Consultado 20 de setiembre de 2018. Disponible en <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/10787>
- Chicaiza, G; Pucha, M; Utiguen, P. 2003., Proyecto para la Producción y Exportación de la Guanábana en la Hacienda "María Dolores" del Cantón el Guabo. Provincia del Oro. Instituto de Ciencias Humanísticas y Económicas (ICHE). Carrera de Economía y Gestión Empresarial., Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Guayaquil- Ecuador., TESIS., 2003., Pp. 27-40.
- EcoAgricultor. Fitoterapia: cómo recolectar, secar, almacenar y usar plantas medicinales. Consultado el 28 de marzo de 2018. Disponible en <https://www.ecoagricultor.com/fitoterapia-como-recolectar-secar-almacenar-y-usar-plantas-medicinales/>
- Escalona, JC. 2011. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria. Tesis Dr. Santiago de Cuba, CU, Universidad de Oriente. 139 p.

- Fernández-Rodríguez, F; Ruilova-Cueva, MB; Hernández-Monzón, A. 2014. Programa para el diseño de mezclas de residuos agrícolas para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. *Revista Tecnología Química*. 34(2): 158-169.
- Gallego, IMG. 2016. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ingeniería de Procesos Químicos. Universitat Politècnica de Catalunya. Consultado 20 de setiembre 2018. Disponible en <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/105811/TMGGI1de1.pdf;jsessionid=62C40ADC9AE1E3806EE0B44295730AFB?sequence=1>
- Gayoso, dVS. 2014. Estudio de la calidad antioxidante de diferentes tés de Asia y Africa. Tesis para optar el Grado de Doctor. Facultad de Ciencias. Universidad de Valladolid. Consultado 20 de setiembre de 2018. Disponible en <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/9816>.
- Gómez, PMJ; Romero, LR; Molina, ARD; Terrazas, PSM; Nuñez, OO. 2015. Uso de la metodología del diseño por mezclas en el sector agrícola. *CULCyT//Mayo-Agosto*, 2015. Año 12, No 56, Especial No 1: 140-151.
- Gutiérrez PH; De la Vara, SR. 2004. Análisis y diseño de experimento. México: Mc Graw Hill.
- Hidalgo, JM. 2013. Antocianos: metabolismo y actividad biológica. Tesis para optar el Grado de Doctor. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Consultado 22 de setiembre de 2018. Disponible en <https://eprints.ucm.es/20093/1/T34345.pdf>
- Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega. Barcelona, 528 p.
- Lomelí, RSE. 2011. Efecto de infusiones herbales comerciales y naturales sobre alteraciones en el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo en un modelo de obesidad. Tesis Mag. ali. Santiago de Querétaro, MX, Universidad Autónoma de Querétaro. 96 p.
- Modafar, C; Boustani, ES. 2004. Contribución de los polifenoles a los mecanismos de defensa de las plantas. En: *Bioplaguicidas de origen vegetal*. Madrid, ES, Mundi-Prensa. 173-190.
- Mora, A; Parra, J; Chaverri, JM; Arias, ML. 2013. Determinación de la capacidad antimicrobiana del té verde (*Camelia sinensis*) contra los agentes potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 63(3): 247 – 253.
- Muñoz, AA. 2009. Bases científicas de la medicina popular, folklórica y naturista. En: Agapito F, T. y Sung, I., *Fitomedicina: 1100 Plantas Medicinales*. Lima, PE, Isabel. v. 1, p. 1-5.



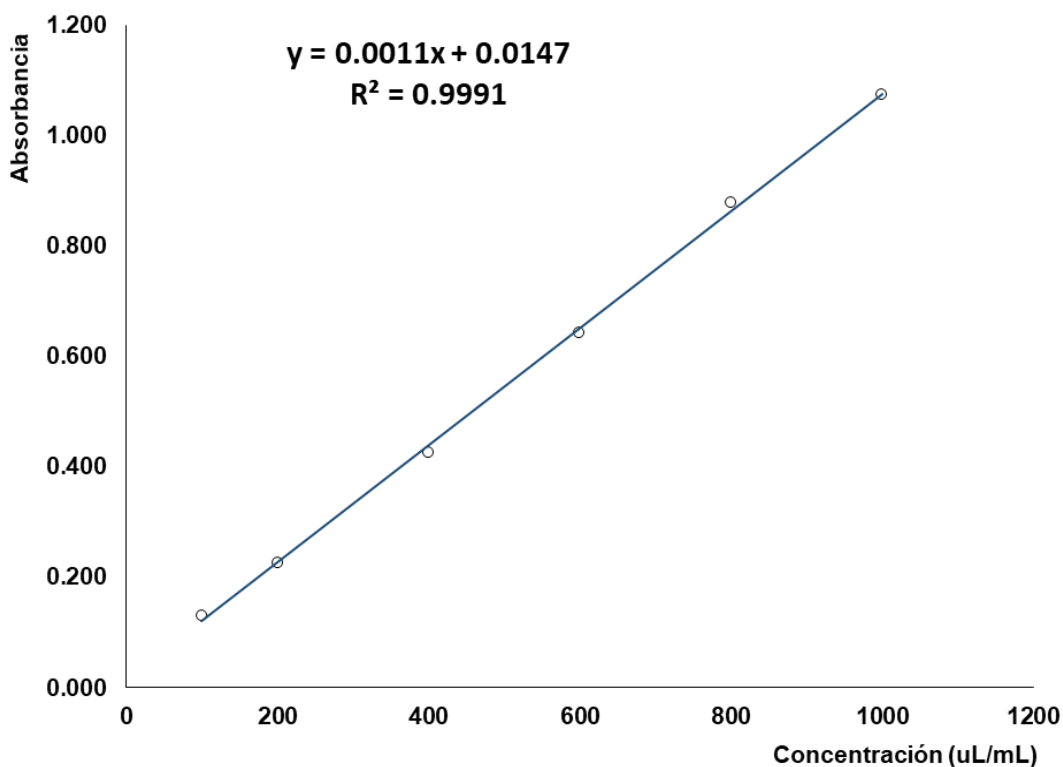
- Muñoz-Velásquez, EE; Rivas-Díaz, K; Loarca-Piña, GF; Mendoza-Díaz, S; Reynoso-Camacho, R; Ramos-Gómez, M. 2012. Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(3): 481-495.
- Puente, REJ; Romero, LR; Rodríguez, BMI; Trejo, MHA. 2015. Aplicación del diseño por mezclas en la industria alimentaria. *CULCyT//Mayo-Agosto, 2015*. Año 12, No 56, Especial No 1: 140-151.
- Regiero, RG. 2011. Conceptos Básicos. Importancia del análisis sensorial en la Industria Alimentaria. En: *Curso de Análisis Sensorial de Alimentos*. Octubre 2011. CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas). Consultado 20 de setiembre de 2018. Disponible en [https://www.google.com.pe/search?q=CURSO DE ANALISIS SENSORIAL DE ALIMENTOS](https://www.google.com.pe/search?q=CURSO+DE+ANALISIS+SENSORIAL+DE+ALIMENTOS).
- Ricco, RA; Ignacio, J; Agudelo, JA; Marcelo, LW. 2015. Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. *Lilloa*, 52(2): 161-174.
- Rivera, CG. 2015. Estudio de mercado para la producción y comercialización de infusiones de té extraídas de la flor de Jamaica. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Facultad de Especialidades Empresariales. Trabajo presentado para optar el título de Ingeniería en Comercio y Finanzas Internacionales. Consultado 20 de setiembre de 2018. Disponible en <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/3281/1/T-UCSG-PRE-ESP-CFI-148.pdf>
- Rubio, PJM. 2015. Diseño de una bebida con elevado contenido en polifenoles y estudio de su efecto sobre la evolución del estrés oxidativo en enfermos de Alzheimer. Tesis presentada para optar el grado de Doctor. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Católica de Murcia. Consultado el 28 de abril de 2018. Disponible en <http://repositorio.ucam.edu/bitstream/handle/10952/1498/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ruiz, RSG; Venegas, Casanova, EA; Chávez, GMH; Saldarriaga, CL. 2010. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. "noni" y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. *Scientia*. 2(2): 11-22.
- Sandoval, M; Okuhama, N; Ángeles, F. (13 - 15 de Agosto de 2001). Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidativa y anti-inflamatoria de plantas medicinales de la amazonía. Iquitos, Perú.
- Sarmiento, VLA. 2010. Efecto antibacteriano del extracto alcohólico y del extracto acuoso de

- Té verde (*Camellia sinensis*) sobre bacterias orales de Importancia Estomatológica, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius*. Tesis Cir. Den. Arequipa, PE, Universidad Alas Peruanas. 147 p.
- Carrión, JAV; García, GCR. 2010. Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia metódica. Tesis presentada para optar el título de Bioquímica y Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Cuenca. Consultado 28 de setiembre de 2018. Disponible en <https://core.ac.uk/download/pdf/128240970.pdf>
- Sepúlveda, JG; Porta, DH; Rocha, SM. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21(3): 355-363.
- Silva, S. 2012. Optimización del proceso de extracción supercrítica de los polifenoles de la vaina de tara (*Caesalpinia spinosa*). Tesis Qco F. Santiago de Chile. CL. Universidad de Chile. 77p.
- Soplin, TH. 2015. Propagación botánica de *Annona muricata* L. "Guanábana" bajo cuatro sustratos en Iquitos-Perú. Tesis Ing. Agr., Iquitos, PE, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 95 p.
- Staszewsky, M. 2011. Impacto de la interacción entre polifenoles de té verde y proteínas del lactosuero sobre las propiedades biológicas y funcionales de las mezclas. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Consultado el 20 de mayo de 2018. Disponible en [www.digital.bl.fcean.uba.ar](http://www.digital.bl.fcean.uba.ar)
- Tapia, CGB. 2007. Comparación de las propiedades bioquímicas y fisiológicas del té (*Camelia sinensis*) de caranavi y Chimate a partir de su composición bioquímica. Tesina para optar el título de Licenciado en Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. Universidad Mayor de San Andrés. Consultado el 28 de marzo de 2018. Disponible en <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/545/TN980.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tariq, AL; Reyaz, AL. 2012. Phytochemical analysis of *Camellia sinensis* Leaves. *International Journal of Drug Development and Research*. 4(4): 311-316.
- Tomás-Barberán, FA. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*, 10(2): 41-53.
- Ulloa, JA; Ulloa, PR; Ramírez, RJC; Ulloa, RBE. 2012. El noni: propiedades, usos y aplicaciones potenciales. *Fuente*. 4(10): 44-49.
- Vásquez, FAA; Álvarez, PE; López, DJA; Medrano, AW; De la Rosa, AL. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. *Tecnociencia*. VI(2): 84-93.

- Vásquez-Villalobos, V; Blas, R; Collantes, L; Echevarría, M; Gordillo, C; Guerrero, N; Rodríguez, R; Vásquez, J. 2012. Grado de aceptabilidad de Stevia (*Stevia rebaudiana* B.) en infusión en una bebida de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.). *Agroindustrial Science*, 2(2012): 161-172.
- Venegas, CEA. 2012. Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. Tesis para optar el grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Consultado 28 de agosto de de 2018. Disponible en [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5521/Tesis 20Doctorado 20 20Edmundo 20Venegas 20Casanova.pdf?sequence=1](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5521/Tesis%20Doctorado%20Edmundo%20Venegas%20Casanova.pdf?sequence=1)
- Vera, TAR. 2003. Infusiones heladas como bebidas alternativas en el mercado nacional. Tesis Ing. Ind. Piura, PE, Universidad de Piura. 159 p. [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/1215/ING\\_401.pdf?sequence=1](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/1215/ING_401.pdf?sequence=1)
- Villacorta, VG; Pérez, VAM. 2011. Actividad Antioxidante “in Vitro” de las Hojas y Frutos de *Morinda citrifolia* Linn. Mediante el método de secuestro de radicales libres 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Tesis QF. Iquitos, PE, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 68 p.
- Vit, P; Santiago, B; Pérez-Pérez, EM. 2014. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L. *Interciencia*. 39(5): 350-353.

## **VIII. ANEXOS**

**ANEXO 1: Determinación del contenido de polifenoles totales en los extractos de hojas secas**



**FIGURA 14** Curva patrón para la concentración de Ácido Gálico. Ecuación de regresión y Coeficiente de Correlación.

**Cuadro 18** Contenido de polifenoles totales en los extractos acuosos de las hojas secas.

Hojas	Temperatura (°C)	Lecturas (740 nm)			Concentración (ug/mL)		
		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Guanábana	50	0.549	0.363	0.373	485.73	316.64	325.73
Guanábana	60	0.870	0.830	0.851	777.55	741.18	760.27
Guanábana	70	0.111	0.098	0.101	87.55	75.73	78.45
Noni	50	0.789	0.716	0.867	703.91	637.55	774.82
Noni	60	0.925	1.042	0.953	827.55	933.91	853.00
Noni	70	0.108	0.109	0.106	84.82	85.73	83.00
Té verde	50	0.514	0.501	0.529	453.91	442.09	467.55
Té verde	60	0.281	0.285	0.286	242.09	245.73	246.64
Té verde	70	0.497	0.390	0.452	438.45	341.18	397.55

## ANEXO 2: Análisis estadístico para las hojas de Té Verde

**Cuadro 19.** Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Té Verde.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Varianza	SD	CV	SE	Mínimo	Máximo
50°C	3	454.52	162.33	12.74	2.80%	7.36	442.09	467.55
60°C	3	244.82	5.79	2.41	0.98%	1.39	242.09	246.64
70°C	3	392.39	2385.31	48.84	12.45%	28.20	341.18	438.45
Total	9	363.91	9339.59	96.64	26.56%	32.21	242.09	467.55

**Cuadro 20.** ANOVA para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de Té Verde por Temperatura de secado

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	69609.90	2	34804.90	40.89	0.00
Error Experimental	5106.86	6	851.14		
Total	74716.80	8			

**Cuadro 21.** Promedios para el contenido de polifenoles en el extracto acuoso de Té Verde por Temperatura de secado.

Temperatura	Cantidad	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
50°C	3	454.52	16.84	425.37	483.66
60°C	3	244.82	16.84	215.67	273.96
70°C	3	392.39	16.84	363.25	421.54
Total	9	3639.09			

**Cuadro 22.** Verificación de Varianza.

	Prueba	Pv
Levene's	2.61	0.15

### ANEXO 3: Análisis estadístico para las hojas de Guanábana

**Cuadro 23.** Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Varianza	SD	C.V.	SE	Mínimo	Máximo
50°C	3	376.033	9045.68	95.1088	25.29%	54.9111	316.64	485.73
60°C	3	759.667	330.967	18.1925	2.39%	10.5034	741.18	777.55
70°C	3	805.757	3828.92	61.8783	7.68%	35.7254	757.27	875.45
Total	9	647.152	45046.5	212.242	32.80%	70.7472	316.64	875.45

**Cuadro 24.** Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado.

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	333961.00	2	166980.00	37.93	0.00
Error Experimental	26411.10	6	4401.85		
Total	360372.00	8			

**Cuadro 25.** Promedio para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Guanábana por temperatura de secado.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
50°C	3	376.03	38.31	309.76	442.31
60°C	3	759.67	38.31	693.39	825.94
70°C	3	805.76	38.31	739.48	872.03
Total	9	647.15			

**Cuadro 26.** Verificación de Varianza.

	Prueba	Pv
Levene's	0.43	0.67

#### ANEXO 4: Análisis estadístico para las hojas de Noni

**Cuadro 27.** Resumen estadístico para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Varianza	SD	C.V.	SE	Mínimo	Máximo
50°C	3	705.43	4712.49	68.65	9.73%	39.63	637.55	774.82
60°C	3	871.49	3084.43	55.54	6.37%	32.06	827.55	933.91
70°C	3	845.15	192.80	13.88	1.64%	8.017	830.0	857.27
Total	9	807.35	7971.45	89.28	11.06%	29.76	637.55	933.91

**Cuadro 28.** Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en el extracto de Noni por temperatura de secado.

Fuente	S.C.	g.l.	C.M.	Fc	Pv
Tratamientos	47792.20	2	23896.10	8.97	0.016
Error Experimental	15979.40	6	2663.24		
Total	63771.60	8			

**Cuadro 29.** Promedio para el contenido de polifenoles totales en el extracto acuoso de Noni por temperatura de secado.

Temperatura	Cantidad	Promedio	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
50°C	3	705.427	29.7951	653.874	756.979
60°C	3	871.487	29.7951	819.934	923.039
70°C	3	845.15	29.7951	793.598	896.702
Total	9	807.354			

**Cuadro 30.** Verificación de Varianza

	Prueba	Pv
Levene's	0.95	0.44



**ANEXO 5: Análisis estadístico complementarios para la mezcla.**

**Cuadro 31.** Resultados estimados para el contenido de polifenoles totales considerando el modelo cuadrático.

<i>Fila</i>	<i>Valores Observados</i>	<i>Valores Ajustados</i>	<i>Residuo</i>	<i>Residuo Estándar</i>	<i>Error Estándar para Pronóstico</i>
1	147.24	131.278	15.9616	0.536829	141.695
2	133.91	149.492	-15.5819	-0.153463	114.067
3	130.27	113.293	16.9765	0.284138	134.368
4	155.42	202.686	-47.2663	-0.874534	134.368
5	119.36	103.731	15.6289	0.5246	141.695
6	135.73	182.664	-46.9336	-0.866829	134.368
7	373.3	197.152	176.148	25.5141	114.067
8	125.73	175.802	-50.0723	-0.511947	114.029
9	129.06	177.341	-48.281	-3.48467	141.695
10	135.42	152.0	-16.5801	-0.163379	114.067

**Cuadro 32.** Efectos estimados del modelo completo para el contenido de polifenoles totales.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Grado de libertad</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Fc</i>	<i>Pv</i>
Media	251362.	1	251362.		
Lineal	6812.18	2	3406.09	0.53	0.6130
Cuadrático	3780.11	3	1260.04	0.12	0.9429
Cúbico Especial	678.402	1	678.402	0.05	0.8379
Error	40929.9	3	13643.3		
Total	303563.	10			

**Cuadro 33.** Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales en la mezcla.

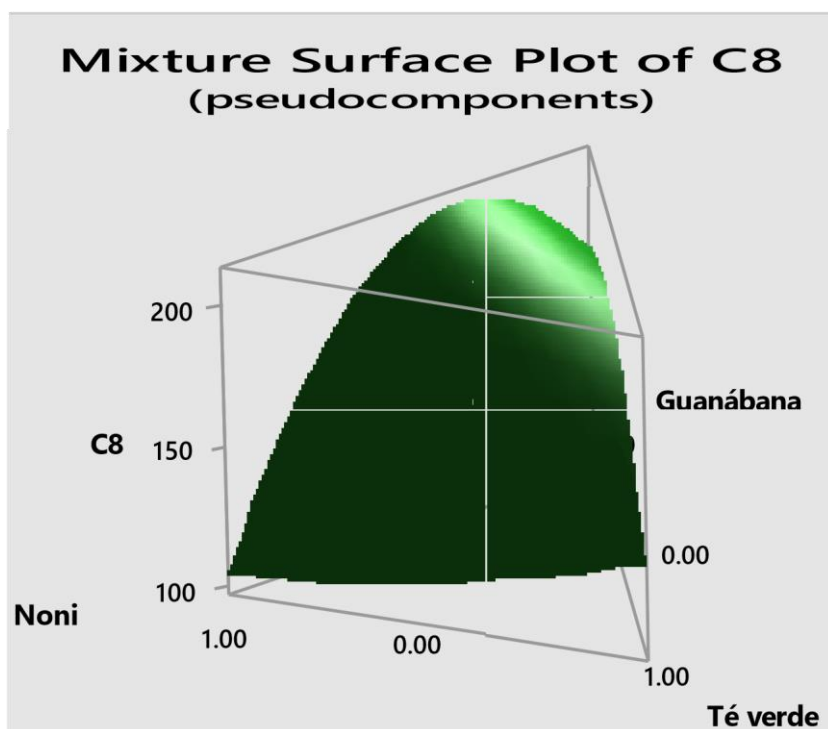
<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Fc</i>	<i>Pv</i>
Modelo Cuadrático	10592.4	5	2118.47	0.20	0.9445
Error total	41608.2	4	10402.1		
Total	52200.6	9			

**Cuadro 34.** Resultados de ajuste del modelo cuadrático para el contenido de polifenoles totales (PT) de la mezcla.

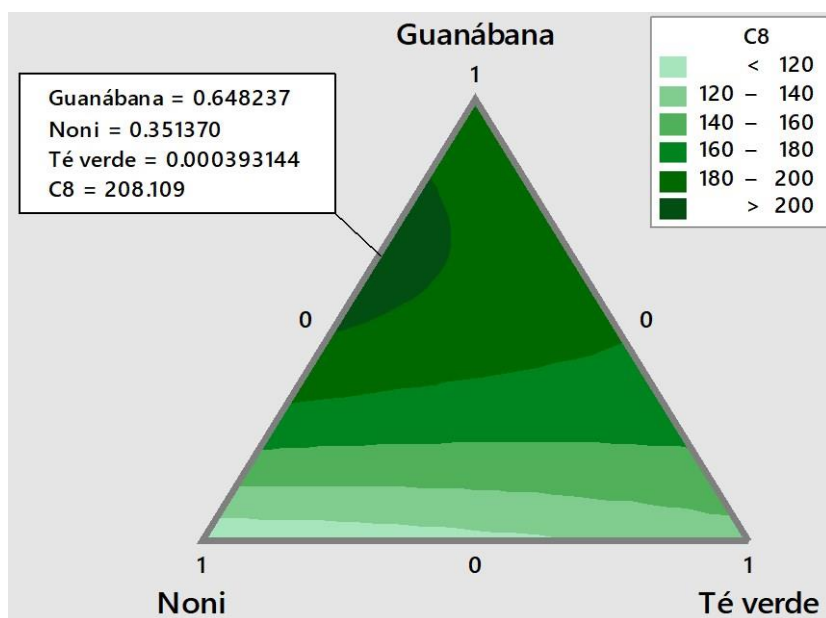
<i>Parámetro</i>	<i>Estimado</i>	<i>Error Estándar</i>	<i>Estadístico T</i>	<i>Pv</i>
A:GUANÁBANA (G)	177.341	98.3632		
B:NONI (N)	103.731	98.3632		
C:TÉ VERDE (TV)	131.278	98.3632		
AB	248.601	453.342	0.548374	0.6126
AC	113.416	453.342	0.250176	0.8148
BC	-16.845	453.342	-0.0371574	0.9721

El modelo matemático corresponde a:

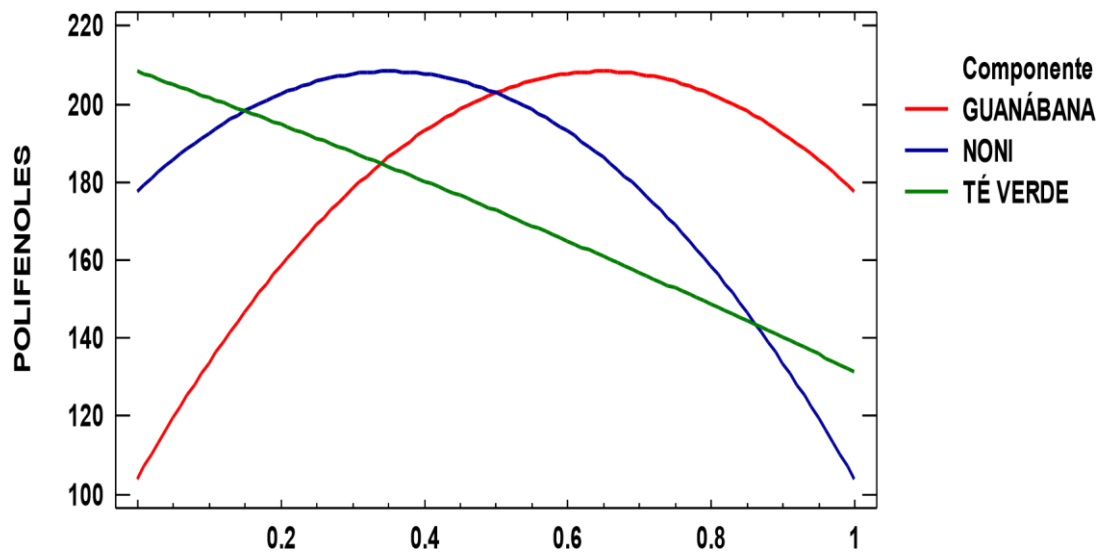
$$PT = 177.341(G) + 103.731(N) + 131.278(TV) + 248.601(G*N) + 113.416(G*TV) - 16.845(N*TV)$$



**FIGURA 15** Diagrama de superficie de respuesta para el contenido de polifenoles totales de la mezcla - MINITAB.



**FIGURA 16** Diagrama de contorno para el contenido de polifenoles totales de la mezcla - MINITAB



**FIGURA 17** Diagrama de traza para polifenoles Combinación de referencia: 0.65 0.35 0.0 los componentes de la mezcla

**ANEXO 6: Formato de análisis sensorial**

Nombre del miembro del jurado: \_\_\_\_\_

Código de la muestra óptima: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Marque con una "x" el casillero que más describa lo que Ud. siente por la muestra:

<b>Dimensión</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
SABOR	Me disgusta mucho	Me disgusta	No me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
OLOR					
COLOR					

Comentarios:

**ANEXO 7: Resultado de las evaluaciones sensoriales**

<b>Resultados del atributo SABOR</b>										
<b>Panelista</b>	<b>MUESTRA</b>									
	<b>495</b>	<b>461</b>	<b>416</b>	<b>384</b>	<b>341</b>	<b>323</b>	<b>339</b>	<b>443</b>	<b>457</b>	<b>386</b>
P1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
P2	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1
P3	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1
P4	2	3	2	2	2	1	2	1	2	2
P5	3	3	2	2	2	2	2	2	3	2
P6	3	3	2	2	2	2	2	2	3	2
P7	3	3	3	2	2	2	2	2	3	2
P8	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3
P9	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3
P10	4	4	4	3	3	3	3	3	4	3
P11	4	4	4	3	4	3	3	3	4	3
P12	4	4	4	3	4	3	3	3	4	3
P13	4	4	4	3	4	3	3	4	4	3
P14	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4
P15	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4
P16	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
P17	5	5	4	4	4	4	4	5	4	4
P18	5	5	4	4	4	5	4	5	4	5
P19	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
P20	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5

<b>Resultados del atributo OLOR</b>										
<b>Panelista</b>	<b>MUESTRA</b>									
	<b>495</b>	<b>461</b>	<b>416</b>	<b>384</b>	<b>341</b>	<b>323</b>	<b>339</b>	<b>443</b>	<b>457</b>	<b>386</b>
P1	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1
P2	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2
P3	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2
P4	2	3	2	2	2	2	3	2	3	2
P5	3	3	2	2	3	2	3	2	3	2
P6	3	3	2	2	3	2	3	2	3	2
P7	3	3	2	2	3	3	3	2	3	3
P8	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
P9	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
P10	4	3	3	3	3	3	3	3	4	3
P11	4	4	3	3	3	4	3	3	4	3
P12	4	4	3	3	3	4	3	3	4	4
P13	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
P14	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
P15	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
P16	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
P17	4	5	4	4	5	5	4	4	4	5
P18	5	5	4	4	5	5	5	4	5	5
P19	5	5	5	4	5	5	5	4	5	5
P20	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

<b>Resultados del atributo COLOR</b>										
<b>Panelista</b>	<b>MUESTRA</b>									
	<b>495</b>	<b>461</b>	<b>416</b>	<b>384</b>	<b>341</b>	<b>323</b>	<b>339</b>	<b>443</b>	<b>457</b>	<b>386</b>
P1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
P2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2
P3	2	3	2	2	2	1	1	2	1	2
P4	2	3	3	2	2	1	2	3	3	2
P5	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3
P6	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3
P7	3	4	3	3	3	2	2	3	3	3
P8	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3
P9	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3
P10	4	4	3	3	3	3	3	3	4	3
P11	4	4	4	3	4	3	3	3	4	3
P12	4	4	4	4	4	3	4	4	4	3
P13	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4
P14	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4
P15	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4
P16	4	5	4	4	4	4	4	4	4	4
P17	4	5	4	5	4	4	4	5	4	5
P18	5	5	4	5	4	5	4	5	5	5
P19	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5
P20	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5



## ANEXO 7: Registros fotográficos

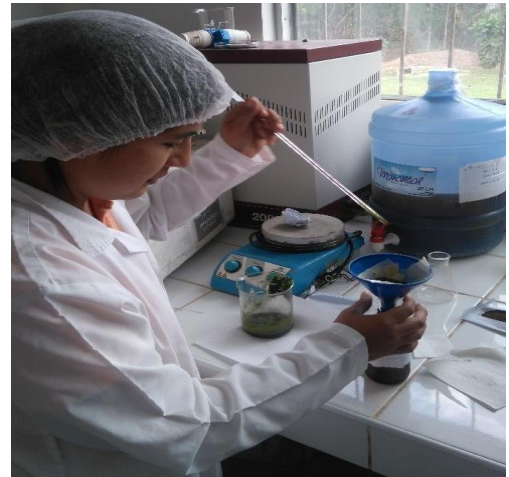
### Limpieza de hojas



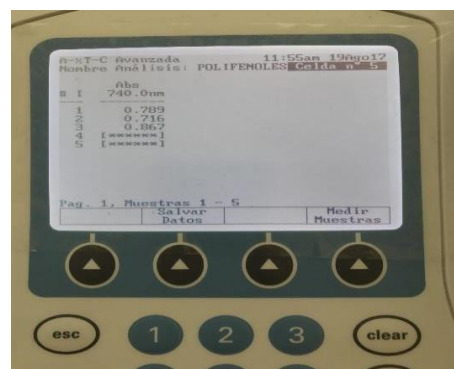
## Secado de hojas



## Preparación de extractos



## Evaluación de polifenoles en los extractos



## Evaluación de polifenoles en la infusión

