



**Pontificia Universidad
Católica del Ecuador**
Seréis mis testigos

MANABÍ

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE MANABÍ**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TRABAJO DE TITULACIÓN:

**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL A PARTIR DE LA
HOJA DE MANGO (*Mangifera indica L.*)**

PREVIO AL TÍTULO DE:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTOR:

ALCÍVAR PISCO GILMA DIANA

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN:

ING. CARLOS ENRIQUE GONZÁLEZ ARTEAGA, MG.

FEBRERO 2023

CHONE – MANABÍ – ECUADOR

CERTIFICACIÓN

MG. CARLOS ENRIQUE GONZÁLEZ ARTEAGA.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICA:

En mi calidad de tutor del trabajo de integración curricular, certifico haber revisado el presente manuscrito de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, cumpliendo la Normativa del Trabajo de Integración Curricular; en consecuencia, es apto para su presentación y sustentación.

.....

Mg. Carlos Enrique González Arteaga.

C.C. 130858210-3

ACTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador aprueba el presente trabajo de integración curricular en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí.

.....

Mg. Carlos Enrique González Arteaga.

Tutor/Presidente Del Tribunal De Sustentación

Lector 1

.....

Mg. Yandry Javier Rengifo Álava.

Lector 2

.....

Mg. Álvaro Danny Mendoza Cedeño.

Lector 3

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Este manuscrito no contiene ningún tipo de material que ha sido aceptado para la obtención de un título universitario en otra institución, excepto en forma de información de soporte que ha sido debidamente citada en mi trabajo. Este trabajo es de total responsabilidad del autor, quien declara bajo juramento que ninguna sección de este trabajo de integración curricular infringe los derechos de autor de nadie.

.....

Alcívar Pisco Gilma Diana

C.C. 131271120-1

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a distribuir este manuscrito de investigación en medios físicos y electrónicos con el fin de promover la divulgación de mis resultados a la comunidad científica y a la sociedad en general. Adicionalmente autorizo el uso de los contenidos de esta investigación como bibliografía para fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, citando como fuente de información al autor de este trabajo.

.....

Alcívar Pisco Gilma Diana

C.C. 131271120-1

DEDICATORIA

*Llegar a la meta deseada y poder cristalizar mis
anhelos me permite dedicar este trabajo a los seres que se
unieron a mi causa y a la de nuestro Padre Celestial:*

*A mis padres Xavier y Peggy, y a mis abuelitos
Johnson y Elvia por acompañarme y brindarme su aliento
espiritual con la cual me dieron la mejor lección de mi vida;
la constancia, la sencillez y la responsabilidad, valores que
jamás olvidaré.*

*A la memoria de los Ángeles de mi vida: Mg. Evelyn
Lavid Navarrete, Mg. Janino Pérez Zambrano; y Aníbal
Cedeño Zambrano; por sus consejos, por sus conocimientos y
sobre todo por su bondad y cariño.*

Gilma

AGRADECIMIENTO

El más formal de los reconocimientos a:

*La PUCE templo de la ciencia y la cultura que me
albergó durante mis años de estudio.*

*Mis Docentes, por su capacidad profesional y por su
ejemplo con los cuales ayudaron a formarme
académicamente.*

*Mis compañeros, especial agradecimiento a Cristhian
Ocampo Zambrano, Israel Figueroa Loor, y Johan
Zambrano Zambrano por su amistad, afecto y familiaridad.*

*Dios los bendiga a cada uno por ser parte de mi vida
y de este triunfo profesional.*

Gilma

Resumen

El presente trabajo se llevó a cabo mediante un estudio mixto que tuvo como objetivo la obtención de una bebida funcional a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*), aplicando como edulcorante panela. Para este fin, este estudio experimental se realizó en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, Campus Chone, durante Mayo y Septiembre de 2022, utilizando cuatro tratamientos con dos factores por dos factores: temperatura (75°C – 90°C) y tiempo (6h - 12h). Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial AxB y la prueba *Friedman*, para lo cual se efectuó un análisis sensorial con un panel semi-entrenado de 30 integrantes, y un análisis de las características físico-químicas y microbiológicas de la bebida con mayor nivel de aceptabilidad. Los resultados del análisis sensorial determinan que el T2 (10 minutos a 75°C) es la combinación más óptima ya que tiene mayor aceptabilidad. En los resultados de los análisis microbiológicos no hay presencia de *Salmonella* y *Shiguella spp.* El análisis bromatológico determina que su contenido (materia grasa 0,02%; cenizas 0,42%; proteínas 0,41%; humedad 88,03%; carbohidrato 11,12%; y energía 46,30%) garantiza la calidad alimentaria para conseguir un nuevo producto basado en la Norma INEN vigente.

Palabras clave: preparación, bebida, funcional, mango, tratamiento

Abstract

The present work was carried out through a mixed study that aimed to obtain a functional drink from the mango leaf (*Mangifera indica* L.), applying brown sugar as a sweetener. For this purpose, this experimental study was carried out at the Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Manabí Campus, Campus Chone, during May and September 2022, using four treatments with two factors for two factors: temperature (75°C - 90°C) and time (6h - 12h). A completely randomized design was applied with a bifactorial arrangement AxB and the Friedman test, for which a sensory analysis was carried out with a semi-trained panel of 30 members, and an analysis of the physical-chemical and microbiological characteristics of the drink with greater acceptability level. The results of the sensory analysis determine that T2 (10 minutes at 75°C) is the most optimal combination since it has greater acceptability. In the results of the microbiological analyzes there is no presence of *Salmonella* and *Shiguella* spp. The bromatological analysis determines that its content (0.02% fat; 0.42% ash; 0.41% protein; 88.03% moisture; 11.12% carbohydrate; and 46.30% energy) guarantees food quality to achieve a new product based on the current INEN Standard.

Keywords: preparation, drink, functional, mango, treatment

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	II
ACTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	III
DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD	IV
DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VII
RESUMEN	VIII
ABSTRACT.....	IX
TABLA DE CONTENIDOS	X
ÍNDICE DE TABLAS	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento Del Problema.....	1
1.1.1. Formulación Del Problema	2
1.2. Objetivos De La Investigación.....	2
1.2.1. Objetivo General	2
1.2.2. Objetivos Específicos.....	2
1.3. Hipótesis De Trabajo	3
1.3.1. Hipótesis Nula.....	3
1.3.2. Hipótesis Alternativa	3
2. ANTECEDENTES	3
3. DISEÑO METODOLÓGICO	8
3.1. Datos Generales	8
3.1.1. Localización y Ubicación Geográfica.....	8
3.1.2. Metodología	8
3.1.3. Materiales e Insumos	9
3.1.4. Equipos	9
3.1.5. Diagrama De Flujo De La Elaboración	10
3.1.6. Descripción Del Proceso.....	12
3.2. Metodología Del Análisis Sensorial	13

3.3. Análisis Bromatológicos	14
3.3.1. Materia grasa.....	14
3.3.1.1. Instrumental:	14
3.3.1.2. Reactivos:.....	14
3.3.1.3. Preparación de la muestra.	14
3.3.1.4. Procedimiento:	14
3.3.1.5. Cálculos:	15
3.3.2. Cenizas.....	15
3.3.2.1. Equipos:	16
3.3.2.2. Procedimiento.	16
3.3.2.3. Cálculos:	16
3.3.3. Proteínas:.....	17
3.3.3.1. Procedimiento:	17
3.3.3.2. Cálculos:	18
3.3.4. Carbohidrato:	18
3.3.4.1. Cálculos:	19
3.3.5. Humedad.....	19
3.3.5.1. Material:.....	19
3.3.5.2. Metodología:	20
3.3.5.3. Cálculos:	20
3.4. Análisis Microbiológicos	20
3.4.1. Aerobios Totales.	20
3.4.1.1. Materiales:.....	21
3.4.1.2. Procedimiento:	21
3.4.2. Escherichia Coli	22
3.4.2.1. Equipo y material.....	22
3.4.2.2. Procedimiento:	23
3.4.3. Enterobacteriaceae	23
3.4.3.1. Equipos y materiales:.....	24
3.4.3.2. Procedimiento:	24
3.4.4. Mohos Y Levaduras.....	25

3.4.4.1. Equipos y materiales:	26
3.4.4.2. Procedimiento:	27
3.4.5. Clostridium	28
3.4.5.1. Equipos y Materiales:	28
3.4.5.2. Procedimiento:	29
3.4.6. Salmonella.....	29
3.4.6.1. Equipos y Materiales:	30
3.4.6.2. Procedimiento	30
3.4.7. Shigella	31
3.4.7.1. Equipos y Materiales:	31
3.4.7.2. Procedimiento	32
3.4.7.3. Preenriquecimiento:	32
3.5. Variables	34
3.5.1. Variables Independientes	34
3.5.2. Variable Dependiente.....	34
3.6. Factores En Estudio	34
3.6.1. Niveles Del Factor A = Tiempo de Infusión de las hojas	34
3.6.2. Niveles Del Factor B = Temperatura de infusión hojas.....	34
3.7. Diseño Experimental Aplicado	34
4. RESULTADOS.....	35
4.1. Análisis Estadísticos	35
4.1.1. Análisis sensorial	35
4.1.1.1. Sabor	35
4.1.1.2. Olor	35
4.1.1.3. Color	36
4.1.1.4. Apariencia	37
4.2. Discusión.....	39
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	40
5.1. CONCLUSIONES	40
5.2. RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41
6. ANEXO	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Requisitos Físicos y Químicos de Bebida Funcional</i>	7
Tabla 2 <i>Tratamientos del Proceso Experimental</i>	34
Tabla 3 <i>Prueba Friedman para el atributo Sabor</i>	35
Tabla 4 <i>Prueba Friedman para el Atributo Olor</i>	36
Tabla 5 <i>Prueba Friedman para el Atributo Color</i>	37
Tabla 6 <i>Prueba Friedman para el Atributo Apariencia</i>	37
Tabla 7 <i>Parámetros de Análisis Microbiológicos de la Bebida Funcional</i>	38
Tabla 8. <i>Parámetros de Análisis Bromatológicos de la Bebida Funcional</i>	38

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación se orienta a estudiar la elaboración de una bebida funcional a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*) de esta forma aprovechar el extracto de la hoja por medio de la infusión de una materia vegetal en forma de una infusión y endulzado con panela para cualquier tipo de personas, importancia se le da a nivel del Ecuador a la que se le atribuyen cantidades de compuestos fotoquímicos, ácidos fenólicos, benzofeninas y antioxidantes que tiene efectos saludables en las personas que toman con frecuencia la bebida.

En algunas zonas del Ecuador los productos sobrante de los árboles frutales se desechan o se utilizan para abono desperdiciando sus compuestos botánicas, según López et al. (2015), “El uso de subproductos de origen vegetal y desechos agrícolas se ha estado incrementando de manera exponencial en las últimas décadas” por lo que la investigación ayudara al desarrollo del estudio de la hoja de Mango que se realizara por medio analíticos como la infusión por inmersión de las hojas para aprovechar todas sus cualidades.

Para obtener el mejor rendimiento en la elaboración de la bebida de las hojas se establecerá una fórmula adecuada en la que definirán el mejor tiempo y temperatura de infusión y de esta manera poder analizar las características fisicoquímicas de la bebida funcional aplicando las normativas técnicas establecidas en el Ecuador para este tipo de bebidas como la INEN 2392 y la INEN 2304.

Por lo anteriormente expuesto la propuesta expresa la solución a las hojas que no se aprovechan de los árboles de mango, estos remanentes contienen sustancia que se pueden emplear en una bebida funcional saludable en forma de un producto innovador y base para la investigación científica de los tiempos y temperaturas apropiados para infusión las hojas de estos tipos de árboles frutales para extraer adecuadamente los compuestos químicos presentes en los mismos que trasformarán el producto final en una bebida funcional saludable para todo tipo de personas.

1.1. Planteamiento Del Problema

El MAG – SIPA (2018), en su boletín situacional del mango establece “una superficie cultivada en el Ecuador de 19995 hectáreas cultivadas de los árboles de la fruta” de las cuales se aprovecha solo el fruto pero existes un desaprovechamiento de las hojas de mango las cuales según Alabi et al. (2020) contienen una gran cantidad de compuestos fitofarmacológicos beneficiosos para remediar diversas enfermedades a través de sus bioactivos nutricionales como metabolitos secundarios de importancia medicinal presentes que son alcaloides, taninos, saponinas, flavonoides y fenol que indica que la (*Mangifera indica*) posee valores de alto perfil y se puede utilizar para tratar varios tipos de enfermedades. Posee vitaminas en las hojas de

mango como la A, B, C, E y minerales en las hojas de Mango como Na, K, Ca, Mg, Fe, Zn, P, N, Mn y se utiliza en el

Las bebidas funcionales están ganando interés entre los consumidores y fabricantes de alimentos como lo expresa Samuel et al. (2018), en su artículo que este atractivo está relacionado con productos de origen vegetal y un ejemplo es la stevia que contiene cero calorías y con un sabor dulce que es 50 a 350 veces más dulce que el azúcar, lo que la convierte en una excelente opción para su uso en alimentos y bebidas para reducir el azúcar y las calorías de los productos.

La investigación se centra en la elaboración de un producto a base de hojas de mango en forma de una infusión y endulzado para cualquier tipo de personas, en el cual se estudiará el tiempo y temperatura de infusión tomando la forma de un producto innovador que no se encuentra en el mercado ecuatoriano, también de consumo diaria para cualquier tipo de personas que desee tomar una bebida funcional saludable en forma de una infusión.

Por lo expuesto anteriormente, la propuesta expresa la solución a las problemáticas del desaprovechamiento de las hojas de mango y del empleo de los compuestos de las hojas en una bebida funcional, con el uso de una infusión endulzada con panela y rica en contenidos vitamínicos que son de interés para la nutrición humana.

1.1.1. Formulación Del Problema

¿Es posible obtener una bebida funcional a partir de las hojas de mango (*Mangifera indica*)?

1.2. Objetivos De La Investigación

1.2.1. Objetivo General

Elaborar una bebida funcional a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*)

1.2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Establecer la fórmula adecuada para la obtención de una bebida funcional a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*)
- ✓ Definir tiempos y temperatura de infusión de la hoja de mango en la elaboración de una bebida funcional.
- ✓ Analizar características fisicoquímicas de la bebida funcional elaborada a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*).

1.3. Hipótesis De Trabajo

1.3.1. Hipótesis Nula

No es posible obtener una bebida funcional a partir de la infusión de las hojas de mango.

1.3.2. Hipótesis Alternativa

Es posible obtener una bebida funcional a partir de la infusión de las hojas de mango.

2. ANTECEDENTES

De acuerdo con el portal web de Interempresas Media S.A. (2021), el árbol de mango tipo es de mediano tamaño de 10-30 m de hojas perenne, árbol frutal presente en todo el trópico, con un tronco más o menos recto cilíndrico de 75 a 100 cm de ramas robustas con hojas espaciadas irregularmente color verde oscuro brillante por arriba y amarillentas por debajo, de longitudes de 10- 40 cm y de 2-10 cm de ancho. El SIPA - Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador, (2021) establece en su boletín que en 8 de las 24 provincias del país se encuentra la producción mago, concentrándose en la región costa con un rendimiento que se está incrementando en los últimos años alcanzando en el 2021 un rendimiento 7,68 toneladas /hectáreas.

La producción del mango según Nutrinews, (2020) deja un desperdicio el 35 al 60% del peso total de lo producido generando un gran volumen que influyen en el ambiente. Benítez, (2020) indica que en las industrias los materiales orgánicos sobrantes son descartados a pesar de tener compuestos polifenoles o aceites esenciales constituyendo una fuente de gran potencial, así como las hojas de mango que se las podría utilizar los extractos en la industria alimentaria, farmacéutica o cosmética por su potencial antioxidante, así como en la investigación sobre enfermedades de estrés oxidativo.

En el Ecuador según Lizarzaburo, (2019) se exporta la cosecha de las variedades de mango más importantes como la de Chupar, Tommy Atkins, de canela, Edward o Mantequilla y otras que han ido desapareciendo, pero que todavía se encuentran en pequeñas cantidades (de manzana, bolsa de chivo, de piña, alcanfor, extranjero).

Por otra parte, Gonzáles, (2021) realiza un estudio de variedades de mango en la hacienda la Fortuna en Chongón de la provincia del Guayas en la que se producen 110 ha produciendo las variedades de Tommy Atkins, Ataulfo, Kent y Haden, las cuales abarcan el 96% de la producción exportable nacional, los cuatro tipos son los preferidos en las perchas de Estados Unidos que es el principal comprador.

Castro, (2022) identifica que la hoja de mango no ha presentado un interés comercial como la fruta, por su sabor y versatilidad, sin embargo, tiene propiedades y beneficios por

concentrarse diversos compuestos químicos que ejercen diversas funciones en el organismo, encontrándose actividad antioxidante, antibacteriana, antiinflamatoria y antitumoral. Incluso, sus extractos se están usando para la fabricación de té, suplementos y otros productos complementarios para cuidar la salud. El Diario EL UNIVERSO, (2020) destaca los beneficios de las hojas de mango posee metabolitos secundarios como polifenoles y Terpenoides, los cuales ha sido conocidos por su, estas sustancias, a su vez, tienen efectos sobre la salud visual.

La proteína de la hoja de mango es su principal biomacromolècula, la cual aporta en el crecimiento, mantenimiento, regulaciòn enzimática, señalización celular y actúa como biocatalizador, su contenido en la hoja de mango es aproximadamente 171.4g.kg/materia seca de proteína, Kumar et al., (2021) y establece que la planta *Mangifera indica L.* se ha estudiado por sus beneficios para la salud, que se atribuyen a una gran cantidad de fitoquímicos, como mangiferina, seguida de ácidos fenólicos, benzofenonas y otros antioxidantes como flavonoides, ácido ascórbico, carotenoides y tocoferoles.

Wightman et al., (2020) expone que en un estudio reciente ha confirmado el efecto en humanos sanos en el que pueden mejorar la función cerebral después de un extracto de hoja de mango rico en mangiferina y los extractos en polifenoles utilizando cuantitativos electroencefalografía (EEG). Imran et al., (2017) indica que La mangiferina (2-β-D-glucopiranosil-1, 3, 6, 7-tetrahidroxi-9H-xanten-9-ona) puede ser aislado de plantas superiores, así como del fruto del mango y sus subproductos (es decir, hojas, cáscara, semilla y grano). Posee varias propiedades que respaldan la salud como antioxidante, antimicrobiana, antidiabética, antialérgico, anticancerígeno, hipocolesterolémicos, e inmunomodulador.

De acuerdo con el trabajo realizado por Medina et al., (2020) se tiene información sobre la actividad biológica de los extractos de hojas de mango de diferentes variedades de mango en las que fueron evaluadas algunas propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales en términos de contenido fenólico total, avonoides, actividad antioxidante e inhibición de las enzimas α-amilasa y α-glucosidasa. En un estudio realizado por otro Medina et al., (2018) indica que según un experimento realizado en ratas con obesidad aplicando té a partir de las hojas de mango se observó una disminución significativa en la acumulación de grasa, y otros bioactivos que tienen efectos antioxidantes y hepatoprotectores.

Según Campos, (2019) En la actualidad por el acelerado estilo de vida se ha incrementado el desarrollo de nuevos productos que aporte beneficios a la salud, los consumidores se han interesado por cambiar sus hábitos alimenticios en beneficio de sus salud y propiedades funcionales. Con el fin de prevenir y reducir el riesgo de contraer cualquier

enfermedad, los consumidores de hoy eligen sus alimentos y bebidas en función de su relación con su salud y bienestar (Vega, 2021). Guevara, (2019) en su estudio utilizó las hojas de mango con otras hojas para elaborar un filtrante para infusiones aprovechando las propiedades funcionales de estas en el procesamiento de una bebida atractiva para el consumidor, Garrido y Valdés, (2012) indica que la *Mangifera indica* se usa en la práctica etnomédica para la mejoría de la calidad de vida de pacientes con diferentes patologías y la infusión de hoja de mango es clave para regular y dar remedio natural para disminuir el azúcar en sangre, tanto la diabetes como la diabetes tipo 2 (TERRA, 2022).

De acuerdo con lo expuesto por Ordoñez et al. (2020), indican que el consumo de las infusiones se efectúa como una alternativa viable para aliviar dolencia y el tratamiento de ciertas enfermedades por parte de diferentes culturas que comúnmente han utilizado durante siglos los recursos de la naturaleza, Jiménez, (2017) expresa que las bebidas funcionales aportan nutrientes y beneficios a la salud de las personas por sus componentes fisiológicos por satisfaciendo el deseo del consumidor que buscan bebidas nutritivas y saludables. Boxler (2020), explica que las infusiones se definen como una bebida hecha de las partes blandas y secas de hojas, flores o frutos de diferentes hierbas a las que se les agrega agua caliente y se dejan reposar. Los alimentos funcionales son alimentos convencionales que se consumen como parte de la dieta diaria ejerciendo efectos benéficos al consumidor mejorando su calidad de vida.

Araya y Lutz (2017), describen que el ámbito de la nutrición ha presenciado diversos cambios asociados a las tendencias alimenticias que vive la sociedad actual. Desde este aspecto se establecido una relación directa entre la dieta y las enfermedades crónicas no transmisibles y los efectos de la nutrición en la capacidad cognitiva, inmunológica, para trabajar y el rendimiento atlético, los cuales se han convertido en temas actuales para la investigación nutricional, considerando que los consumidores buscan productos en el mercado que respalden su salud y bienestar a medida que se vuelven más conscientes del cuidado personal. Álvarez, (2022) el té e infusiones al ser básicamente agua con hierbas, las propiedades del té son prácticamente las mismas que las del agua, pero con una diferencia importante, sustancias estimulantes. Por lo que todo té es una infusión, pero no toda infusión es té, De Brasília, (2017).

Aguilar et al. (2019), manifiestan que en las bebidas de té se deben caracterizar análisis físico - químicos al determinar pH, ácidos titulables, así como el color mediante colorimetría y lograr evaluar las diferentes magnitudes. En este sentido, existe una diversidad de vegetales que son apetecidos por su potencial terapéutico frente al tratamiento de enfermedades, debido

a la presencia de compuestos fotoquímicos, los cuales han sido objeto de estudio por parte de diferentes farmacéuticas para la obtención de drogas quimioterapéuticas, debido a los efectos farmacológicos cuyo enfoque se presenta para el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y enfermedades crónico-degenerativas como es el caso de la diabetes y cáncer. A fin de obtener principios activos medicinales inocuos y eficaces, se ha intensificado la búsqueda de fitoquímicos de origen vegetal derivados de vegetales considerados como alimentos funcionales. Estos últimos son componentes cotidianos de la dieta que además de aportar nutrientes contienen fitoquímicos bioactivos que son benéficos para la salud (Gómez, 2020).

Las bebidas de fruta formuladas con probióticos y/o prebióticos con estabilidad microbiológica, proporcionan una forma conveniente de complementar las dietas diarias y de mejorar la salud e inmunidad digestivas. Dentro del mercado nacional e internacional de las bebidas enriquecidas, se observa como tendencias el consumo de bebidas, tales como: energizantes, light, orgánicas y los “blends” o mixturas de frutas. En el mercado nacional de bebidas de frutas, son pocas las marcas comerciales de néctares, zumos y bebidas refrescantes que elaboran mixturas de frutas y hortalizas enriquecidas (Flores, 2019).

Las bebidas funcionales son aquellas que tienen diversos beneficios para la salud de los consumidores, debido a que reducen el riesgo de padecer determinadas enfermedades, además de mejorar la calidad de vida porque se consumen con las mismas expectativas y son aún más valiosas si cumplen los requisitos necesarios dentro del grupo de bebidas hidratantes (Contreras et al., 2018).

Las nuevas tendencias de consumo de alimentos reflejan variaciones en el comportamiento de las personas a nivel mundial. La atención de la población por el cuidado del medio ambiente y el estilo de vida, se manifiesta en la preocupación por la presencia de enfermedades asociadas al origen de los alimentos y a la mala alimentación (Encalada et al., 2021).

Una amplia variedad de vegetales es altamente calificada por su potencial terapéutico atribuido al contenido de componentes conocidos como fitoquímicos bioactivos. En la industria farmacéutica las plantas son la materia prima más importante para la obtención de drogas quimioterapéuticas ya que exhiben efectos farmacológicos aplicables para el tratamiento de infecciones bacterianas, fúngicas y enfermedades crónico-degenerativas como diabetes y cáncer. A fin de obtener principios activos medicinales inocuos y eficaces, se ha intensificado la búsqueda de fitoquímicos de origen vegetal derivados de vegetales considerados como alimentos funcionales. Estos últimos son componentes cotidianos de la dieta que además de

aportar nutrientes contienen fitoquímicos bioactivos que son benéficos para la salud (Gómez, 2020).

Cabe destacar el papel de las hojas de mango como una importante fuente de polifenoles con importantes aplicaciones farmacéuticas debidas a su capacidad antioxidante (Sánchez et al., 2017).

A lo largo de la historia, la humanidad ha sentido curiosidad por el poder y el potencial de las plantas en la naturaleza. Los textos antiguos, en los que se da fe de los conocimientos transmitidos de generación en generación sobre los efectos beneficiosos de las plantas (Villacís, 2017).

Tabla 1

Requisitos Físicos y Químicos de Bebida Funcional

Requisito	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de Ensayo
Sólidos solubles a 20 °C, fracción másica como porcentaje (%) de sacarosa.	-	0	15	NTE INEN-ISO 2173
pH a 20 °C	-	2,0	4,5	NTE INEN-ISO 1842
Acidez titulable, como ácido cítrico a 20 °C.	g/100mL	0,1	-	NTE INEN-ISO 750

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Datos Generales

La investigación consistió en elaborar una bebida funcional utilizando hojas de mango, lo cual se realizó en su fase bibliográfica que fue donde se recopiló información que sirvió de sustento en base a trabajos previos y el desarrollo de la fase experimental se efectuará en las instalaciones de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador; Sede Manabí, Campus Chone en la carrera de Ingeniería Agroindustrial.

3.1.1. Localización y Ubicación Geográfica

El estudio se desarrolló en la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí, Campus Chone en la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, ubicado geográficamente en Latitud 0°38'1.719" S y Longitud: 80°2'13.824" O. En el sector predominan tropicales todo el año, con dos estaciones de 28°C época lluviosa y 24°C época seca.

3.1.2. Metodología

La investigación consistió en elaborar una bebida funcional utilizando hojas de mango (*Mangifera indica L.*), para lo cual se seleccionaron 2000g de hojas, luego se procedió a llevarlas a la estufa con el fin de deshidatarlas a temperatura de 40°C durante 15 y 60 °C durante un periodo similar de 15 horas, una vez deshidratadas, se procedió a triturar las hojas con lo cual se obtuvieron 70g. Una vez realizado dicho procedimiento se aplicaron dos métodos para la obtención de la bebida, en el primer método se aplicó una inmersión de hojas de mango en agua con el fin de obtener el extracto de estas a temperaturas de 75°C y 90°C ambas durante un periodo de 30 minutos, dejamos reposar la infusión por 15 minutos y luego se procedió a endulzar aplicando 100g de panela, todo esto con respecto a las pruebas que consistían en inmersión.

La segunda prueba la realizamos mediante el proceso de macerado, una vez que se procedió a deshidratar las hojas, se utilizaron 70g para realizar las pruebas de macerado las cuales se maceraron durante un tiempo de 12 horas a una temperatura 40 °C y 60°C, en una segunda prueba se pusieron en maceración las hojas durante 8 horas con temperatura 40 °C y 60°C, y por último se aplicó un tiempo de macerado de 6 horas aplicando las mismas temperaturas, es decir de 40°C y 60°C, es de mencionar que estas pruebas se realizaron con el objetivo de identificar el mejor tiempo y temperatura en el macerado debido a que no existen antecedentes previos sobre la aplicación de macerado en hojas de mango para este fin, luego del procedimiento antes mencionado y transcurridos dichos periodos, procedimos a endulzar, utilizando 100g de panela para posterior a ello realizar el envasado en presentaciones de 500

mL. Es decir que se aplicaron dos factores de estudio que consistían en determinar la mejor temperatura de deshidratado y el mejor método de obtención del extracto, a cada una de estas pruebas se les aplicó tres repeticiones con el ánimo de tener muestras con menor porcentaje de probabilidad de error y por ende mayor seguridad en los resultados que de ella se obtuvo.

En este proceso se utilizaron materiales e insumos en cantidades de acuerdo a lo que se indica a continuación:

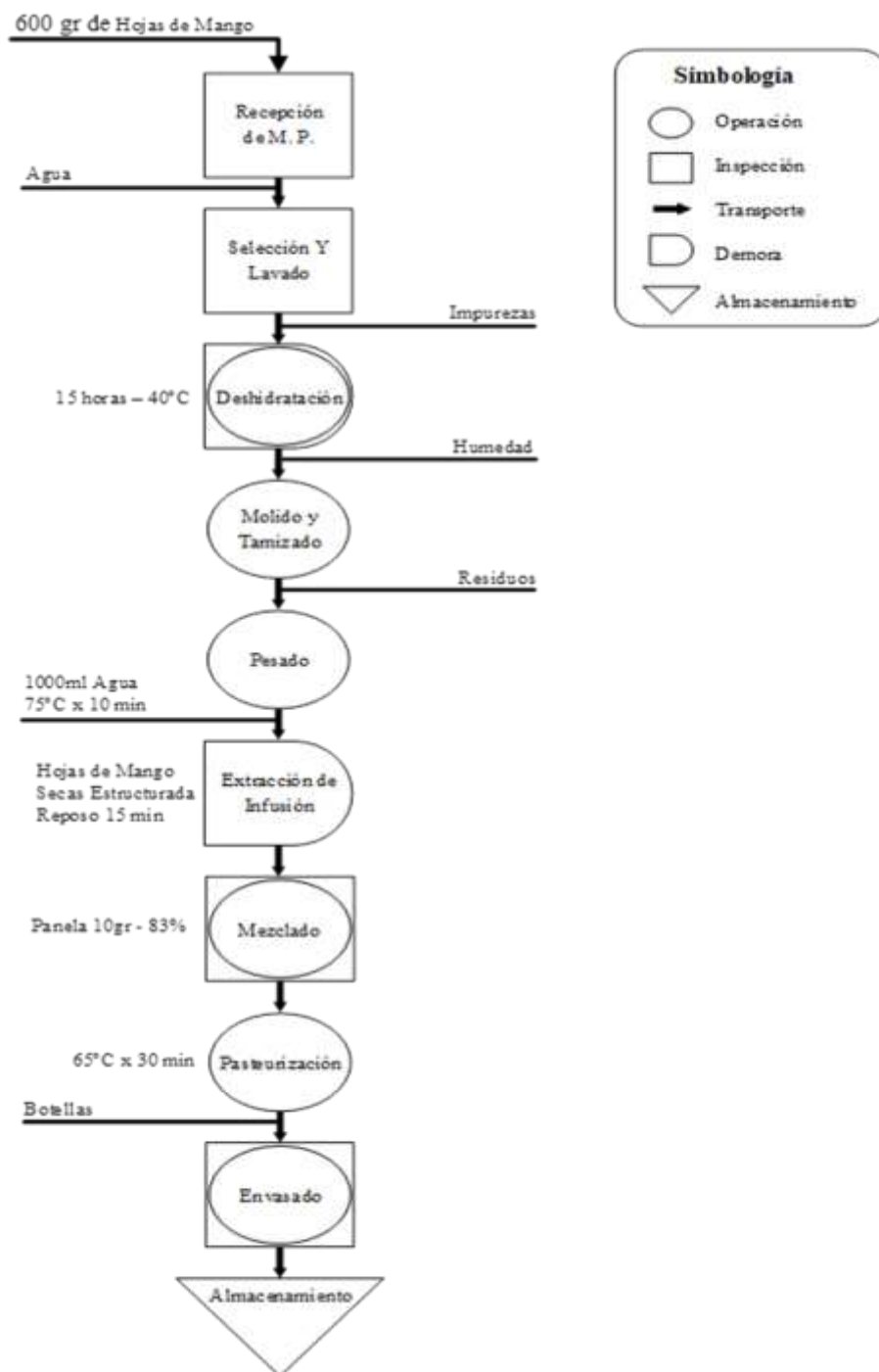
3.1.3. Materiales e Insumos

- Hojas de mango
- Agua
- Panela
- Botellas
- Embudo
- Fundas

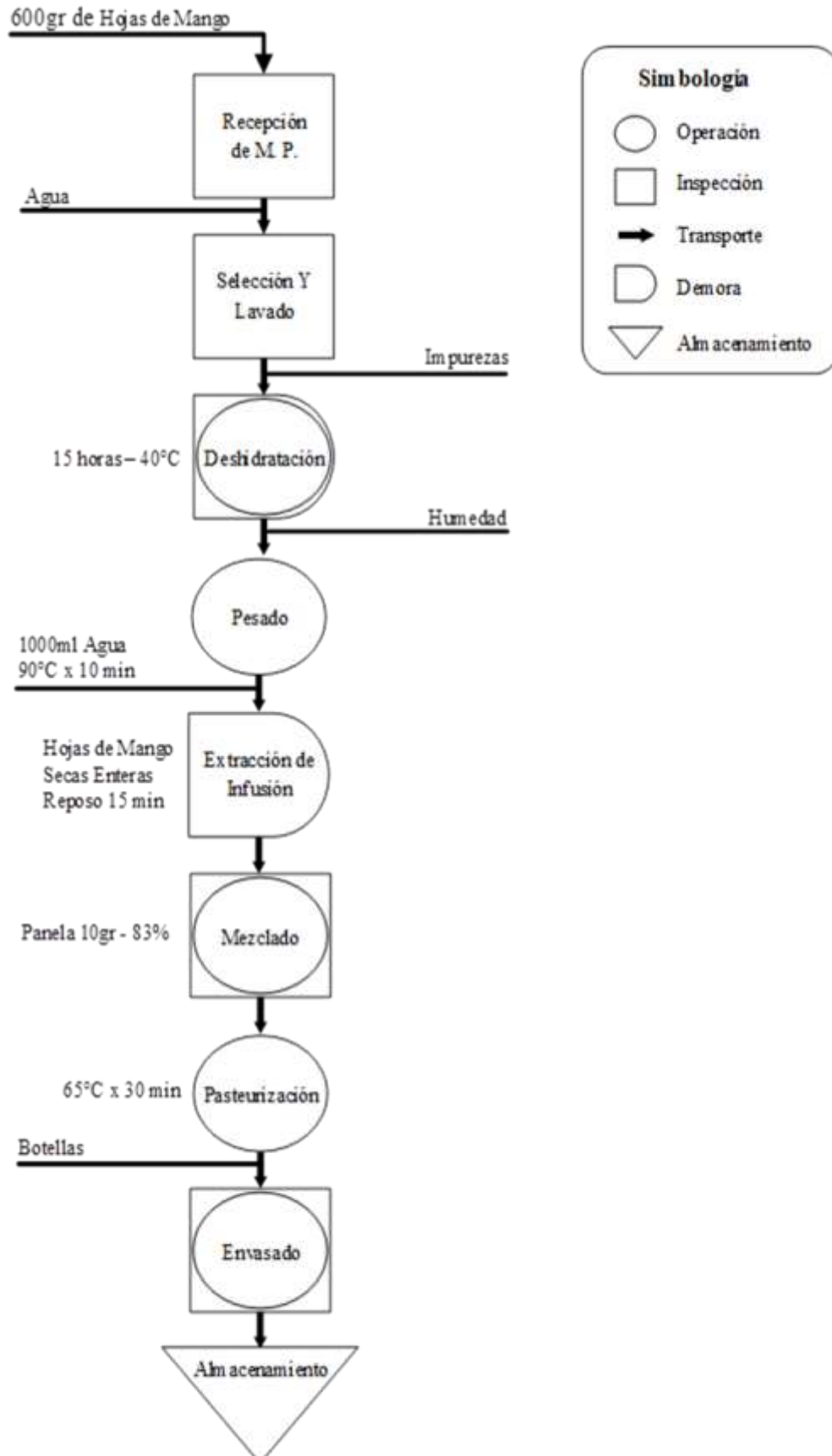
3.1.4. Equipos

- Cocina
- Ollas
- Cucharas
- Cernidera
- Gramera
- Licuadora
- Estufa
- Vasos
- Termómetro

3.1.5. Diagrama De Flujo De La Elaboración



Elaborado por: Alcívar, G. 2023.



Elaborado por: Alcívar, G. 2023.

3.1.6. Descripción Del Proceso

➤ **Recepción de la Materia Prima:**

Se receptaron 600g de hojas de mango.

➤ **Selección y Lavado:**

Se inspeccionó por separado cada materia prima, para eliminar los posibles residuos que puedan contaminar el producto final, las hojas de mango fueron lavadas para inhibir el crecimiento bacteriano.

➤ **Deshidratación:**

Las hojas de mango fueron llevadas a deshidratación en una estufa a 40°C por el lapso de 15 horas para obtener mayor concentración de los compuestos.

➤ **Molido:**

Las hojas fueron trituradas en una licuadora con la finalidad de obtener mayor concentración y eliminar los desechos que no aportan a la calidad de la bebida.

➤ **Pesado:**

La materia prima fue pesada en una balanza analítica para cuantificar la cantidad a procesar.
(Materia prima Inicial)

➤ **Extracción de la Infusión:**

Para la infusión de hojas ya se estas enteras o estructuradas se agregaron:

- 1000mL Agua -75°C x 10 min para las Hojas Estructuradas.
- 1000mL Agua - 90°C x 10 min para las Hojas Enteras.

Con un tiempo de reposo de 15 min para ambos casos.

➤ **Tamizado:**

Terminado el tiempo de reposo de las infusiones se filtró con un lienzo para eliminar la mayor cantidad de impurezas o residuos.

➤ **Mezclado:**

Se agregó Panela unos 10g para endulzar la bebida

➤ **Pasteurización:**

La bebida fue calentada hasta llegar a la temperatura de 65°C por 30 minutos con la finalidad de reducir los microorganismos patógenos y alarga la vida útil producto, la bebida de se enfrió a 4°C para inhibir el crecimiento bacteriano.

➤ **Envasado:**

En este proceso se utilizaron botellas plásticas transparente de 500 mL.

➤ **Almacenado:**

El producto final fue almacenado a 4°C.

3.2. Metodología Del Análisis Sensorial

Una vez elaborada la bebida según las cantidades antes mencionadas, se procedió a realizar el análisis sensorial con el fin de determinar cuál de ellas tiene mayor aceptación por parte del público consumidor, esto mediante citación, con el fin de que los catadores no las identifiquen en base a porcentajes o nombres se codificó a cada tratamiento y cada replica, esto para poder ser identificadas por parte del investigador y evitar un sesgo en los resultados durante el proceso de panel sensorial.

Para los paneles sensoriales con características organolépticas, se hizo recurso de un aula donde se ubicaron 30 asientos, donde los catadores antes de realizar las evaluaciones recibieron una inducción por parte del ponente, dando pauta a cada aspecto a evaluar alrededor de la mesa, frente a cada catado se encontraba 4 vasos con muestras, entre ellos 8 tratamientos, y así evaluar la relación sensorial del mejor tratamiento.

Cada catador evaluó 4 atributos sensoriales donde se exponían lo siguiente: color, olor, sabor y apariencia, estos se calificaban dentro de una escala lineal de “menos” a “mas”, que traducida al ponente correspondía a una escala del 1 al 10, siendo estas del 1 al 5 me desagrada muchísimo y del 6 al 10 me gusta muchísimo, dicha escala tenía que diferenciar a través de los sentidos entre las muestras de tratamientos y la testigo.

Diagrama de una escala sensorial lineal de 10 puntos. La escala está dividida en dos secciones de 5 puntos cada una. El extremo izquierdo está etiquetado como "Desagrada muchísimo" y el extremo derecho como "Me gusta muchísimo". Encima de la línea de la escala se encuentra el texto "código: _____".

Culminando la evaluación sensorial, se recolectaron los datos y se procedió a tabularlos, digitalarlos e interpretarlos en el programa INFOSTAT versión libre 2020 con el fin de tener el resultado con carácter estadístico.

3.3. Análisis Bromatológicos

3.3.1. Materia grasa

Según INEN 466, (1980) esta regla se constituye el procedimiento para lograr decidir el contenido de materia de grasa, además está establecido el contenido de materia grasa extrayendo la muestra por medio de un solvente orgánico, descartando los restos de disolvente, y pesar el residuo extraído.

3.3.1.1. Instrumental:

- Artefacto de sustracción Soxhlet u otro semejante
- Matraz extractor.
- Plancha eléctrica de calentamiento.
- Dedal de sustracción, de celulosa independiente de grasa.
- Estufa, con regulador de temperatura, ajustada a $103 \text{ }^\circ \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Desecador, con sulfato de calcio anhidro u otro deshidratante conveniente.
- Algodón hidrófilo, independiente de grasa.
- Báscula analítica, sensible al 0,1mg.

3.3.1.2. Reactivos:

Éter de petróleo anhidro, independiente de peróxidos y de alcohol etílico, punto de ebullición entre 40 ° a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, o cualquier otro solvente orgánico correcto.

3.3.1.3. Preparación de la muestra.

- Se homogeniza la muestra invirtiendo en ocasiones el recipiente que la tiene.
- La proporción de la muestra de harina de pescado extraída de un lote definido debería ser representativa y no debería exponerse al viento un largo tiempo.
- Las muestras para lograr hacer el ensayo tienen que posicionarse en recipiente hermético, limpio y seco (vidrio o metal) y llenarse del todo para evadir que se formen espacios de viento.
- Las muestras tienen que pulverizarse haciéndola pasar por un molino en el cual se excluya la más grande porción viable de viento a lo largo de la molienda, que no caliente mucho y graduado debido a lo cual se obtenga un tamaño de partícula tal que la muestra pase íntegramente por medio de un tamiz de apertura 1mm (INEN 154).

3.3.1.4. Procedimiento:

- La decisión debería desarrollarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

- Lavar cuidadosamente el matraz de sustracción y secarlo en la estufa a $103 \text{ }^\circ \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, a lo largo de 30 minutos. Dejar enfriar en el desecador y pesar con alrededor de al 0,1mg.
- Pesar con alrededor de al 0,1 miligramo, alrededor de 5 gramo de muestra y colocarlos en el dedal de sustracción en tal forma que no se pierda el material. Remover humedad conforme con la Regla INEN 464.
- Poner algodón hidrófilo en la parte preeminente del dedal e meter en el extractor Soxhlet.
- Añadir alrededor de 100m³ de éter de petróleo anhidro y calentar el reverbero eléctrico debido a lo cual el disolvente gotee a partir del condensador al centro de dedal, a una rapidez de al menos 150 gotas por min.
- Conservar constante el volumen del disolvente y avanzar la sustracción a lo largo de 6 a 8 horas, dependiendo del contenido de grasa de la muestra.
- Terminada la sustracción, recobrar el disolvente por destilación en el mismo artefacto y después borrar los restos de disolvente, colocando a lo largo de 1 hora en la estufa calentada $103 \text{ }^\circ \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$; enfriar hasta temperatura ambiente en el desecador y pesar.
- Repetir el calentamiento por periodos de 30 minutos, enfriando y pesando, hasta que la diferencia entre los resultados de 2 operaciones de pesaje continuas no exceda de 0,2 miligramo.

3.3.1.5. Cálculos:

El contenido de grasa en la harina de pescado se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$G = \frac{m_1 - m_2}{m} \times 100$$

Siendo:

G= contenido de grasa

m1= masa de extracción, con grasa extraída, en g.

m= masa de material, tomada en el ensayo, en g.

m2= masa de matraz de extracción vacío, en g.

3.3.2. Cenizas.

Según INEN 467, (1980) es el residuo obtenido luego de incinerar la muestra, en las condiciones escritas en la presente regla.

3.3.2.1. Equipos:

- Crisol de porcelana, o de otro material invariable a las condiciones del ensayo.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustado a $550^{\circ} \pm 15^{\circ}\text{C}$.
- Desecador, con óxido de calcio u otro deshidratante correcto.
- Pinza para la cápsula.
- Báscula analítica, sensible al 0,1mg.

3.3.2.2. Procedimiento.

- La decisión debería efectuarse por duplicado sobre las mismas muestras preparadas.
- Calentar el crisol de porcelana vacío en la mufla ajustada a $(550^{\circ} \pm 15^{\circ}\text{C})$, a lo largo de 30 minutos. Enfriar en el desecador y pesar con alrededor de al 0,1mg.
- Transferir al crisol y pesar, con alrededor de al 0,1mg, 4 gramo a 5g de la muestra.
- Poner el crisol con su contenido alrededor de la puerta de la mufla abierta y mantenerla ahí a lo largo de pocos min, para evadir pérdidas por proyección de material, lo cual podría suceder si el crisol se incorpora de manera directa a la mufla.
- Incorporar el crisol en la mufla $(550^{\circ} \pm 15^{\circ}\text{C})$ hasta obtener cenizas de un color gris claro o hasta que el peso sea constante. No tienen que fundirse las cenizas.
- Sacar de la mufla el crisol con la muestra, dejar enfriar en el desecador y pesar tan rápido haya alcanzado la temperatura ambiente, con alrededor de al 0,1mg.

3.3.2.3. Cálculos:

El contenido de cenizas en muestra, en base seca, se calcula mediante la ecuación.

$$C = \frac{100 (m_3 - m_1)}{(100 - H)(m_2 - m_1)}$$

Donde:

C= contenido de cenizas.

m1= masa del crisol, en g.

m2= masa de crisol con la muestra en g.

m3= masa del crisol con las cenizas, en g.

H= porcentaje de humedad en la muestra.

3.3.3. *Proteínas:*

Según INEN 465 (1980), Es la proporción de nitrógeno total, expresado convencionalmente como contenido de proteínas y definida por medio de métodos normalizados. Se establece el contenido de proteína bruta por medio del procedimiento Kjeldhl.

- Aparato Kjeldhl, u otro similar para digestión y destilación, pudiendo incluir analizador automático y semiautomático.
- Matraz Kjeldhl.
- Matraz Erlenmeyer.
- Bureta 50 m³
- Balanza analítica, sensible al 0,1mg.

3.3.3.1. **Procedimiento:**

- La decisión debería desarrollarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Pesar, con aproximación al 0,1 miligramo, alrededor de 0,5g de muestra y transferir al matraz Kjeldhl.
- Añadir 0,7 de óxido de mercurio (0,65 gramo de mercurio metálico), 15g de sulfato de potasio o sulfato de anhidro, 25 m³, de ácido sulfúrico concentrado.
- Agitar el matraz y colocarlo en forma inclinada en la hornilla del artefacto Kjeldhl. Calentar delicadamente hasta que no se observe formación de espuma e incrementar el calentamiento rotando el matraz muchas veces a lo largo de la digestión. Luego de que el contenido presente un aspecto límpido, seguir el calentamiento a lo largo de 30 min y dejar enfriar.
- Añadir alrededor de 200 m³, de agua destilada, enfriar la mezcla hasta una temperatura inferior a 25 °C y aumentar m³ de la solución alcalino (o de tiosulfato de sodio); agitar y mezclar para agilizar el mercurio.
- Añadir varias granallas de zinc o perlas de vidrio para evadir proyecciones a lo largo de la ebullición.
- Inclinarse el matraz y verter por sus paredes, cuidadosamente, para que se formen 2 capas, 75 m³, de la solución concentrada de hidróxido de sodio (o más grande porción, si fuere primordial, para conseguir un elevado nivel de alcalinidad).
- Velozmente conectar el Kjeldhl al condensador por medio de la ampolla de destilación. El extremo de salida del condensador debería sumergirse a 50 m³, de la

solución 0,1 de ácido sulfúrico contenido en el matraz Erlenmeyer, a la cual se han añadido unas gotas de solución alcohólica de rojo de metilo.

- Agitar el matraz Kjeldahl hasta mezclar enteramente su contenido y después calentar.
- Destilar hasta que todo amoníaco haya pasado a la solución acida contenida en el matraz Erlenmeyer, (lo que consigue luego de destilar al menos 250m³).
- Utilizando la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, titular el contenido en el matraz Erlenmeyer.
- Hacer un solo ensayo el blanco con todos los reactivos, sin la muestra, utilizando en un espacio de ésta 2g de azúcar y siguiendo el mismo método descrito desde 7,2, para cada decisión o serie de determinaciones.

3.3.3.2. Cálculos:

$$P = 8,75 \frac{(V_1 N_1 - V_2 N_2) - (V_3 N_1 - V_4 N_2)}{m}$$

Siendo:

P= contenido de proteínas

V1= volumen de la solución de ácido sulfúrico empleado para recoger el destilado de la muestra en cm³.

N1= normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

V2= Volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cm³.

N2= normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

V3= volumen de la solución de ácido sulfúrico empleado para recoger el estilado del ensayo en blanco en cm³.

V4= volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación del ensayo en blanco, en cm³.

m= masa de la muestra, en g.

8,75= 6,25 x 0,014 x100.

3.3.4. Carbohidrato:

Según INEN 2225, (2000) en esta regla está establecido el procedimiento para lograr decidir el contenido de carbohidratos.

3.3.4.1. Cálculos:

El contenido de carbohidrato, expresado como porcentaje en masa se determina por:

$$W = \frac{A \times m_0 \times V}{A_0 \times m_0 \times V_0} \times 100$$

Donde:

A= área del pico de carbohidrato individual de la solución del ensayo.

A= área del pico de carbohidrato, individual en la solución madre.

m= masa, en gramos, de la porción ensayo en la solución de ensayo, expresado en base seca.

m= masa, en gramos del carbohidrato, de la solución madre.

V= volumen, en cm³, de la solución de ensayo

V= volumen en cm³, de la solución madre

3.3.5. Humedad

Según INEN 49, (2015) Esta regla tiene por objeto entablar el procedimiento para lograr establecer el contenido de humedad por pérdida de masa. La decisión de Humedad es una técnica para usar en la exploración de alimentos, para ver la calidad del alimento, así como su falsificación a lo largo de su procesamiento.

3.3.5.1. Material:

- Cristalizador de vidrio o pesa filtro con tapa, de alrededor de 50 mm de diámetro por 25 mm de elevación, lavado y secado.
- Pinzas para crisol.
- Guantes aislantes de calor
- Desecador con desecante independiente de humedad
- Tamices de 0,841 mm y 0,177 mm
- Mortero y pistilo
- Báscula analítica con sensibilidad de 0,1 miligramo.
- Estufa con regulador de temperatura de 110 °± 2 °C.

3.3.5.2. Metodología:

Poner en la estufa el cristizador sin tapa y dejar secar hasta masa constante, sacar de la estufa, enfriar en un desecador y medir la masa.

En el cristizador tarado, situar 10 gramo de muestra, medir la masa con una sensibilidad de 0,1 miligramo.

Si la pérdida de masa a 110 °C es inferior a 0,01 % (fracción de masa), que corresponde a la diferencia en masa (P2 - P3) de menos de 1 miligramo, tomar 50 gramo de muestra y utilizar un cristizador de un tamaño tal, como para permitir obtener una capa tan flaca como sea viable.

Poner el recipiente con muestra destapado en la estufa a una temperatura de 110 °± 2 °C.

Luego de secar la sal, cubrir el cristizador (con la tapa antes tarada) y poner en un desecador y dejar enfriar.

Medir la masa del cristizador sin tapa, con una sensibilidad de 0,1 miligramo según la regla vigente, para de esta forma obtener masa constante; o sea, hasta que 2 medidas consecutivas, realizadas en el intervalo de una hora, no difieran en bastante más de 0,2 miligramo.

3.3.5.3. Cálculos:

El contenido de humedad en la sal se determina mediante la siguiente fórmula:

$$H = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

Donde:

H es el porcentaje de humedad expresada en fracción de masa;

P₁ es la masa del cristizador sin tapa tarado en gramos;

P₂ es la masa del cristizador tarado sin tapa más muestra en gramos;

P₃ es la masa del cristizador tarado sin tapa más muestra desecada en gramos.

3.4. Análisis Microbiológicos

3.4.1. Aerobios Totales.

Según INEN 1529-5, (2006) se usó un procedimiento nutritivo sólido de inoculación para que los microorganismos en la muestra del alimento se reproduzcan para conformar

colonias particulares visibles para hacer un conteo en el que se hace una separación decimal en una suspensión inicial de la muestra en la que se inocula el medio nutritivo a 30°C por 72 horas y se hace a contar las colonias contando los microorganismos por gramos o por centímetro cúbico de alimento.

3.4.1.1. Materiales:

- Pipetas serológicas de punta ancha de 1,5 cm³ Y 10 cm³ graduadas en 1/10 unidades
- Cajas Petri de 90 mm x 15mm.
- Erlenmeyer y/o frasco de boca ancha de 100 cm³, 250 cm³, 500 cm³ y 1000 cm³ con tapa de rosca autoclavable.
- Tubos de 150mm x 16mm
- Gradillas
- Contador de colonias
- Balanza de capacidad no superior a 2500 g y de 0,1 g de sensibilidad.
- Baño de agua regulado a 45° ±1°C
- Incubador regulable (25°C-60°C)
- Autoclave
- Refrigeradora para mantener las muestras y medios de cultivo
- Congelador para mantener las muestras a temperatura de -15°C a -20°C

3.4.1.2. Procedimiento:

- Para cada dilución el ensayo se va a hacer por duplicado. En todas las cajas Petri bien identificadas se depositará 1 cm³ de cada dilución. Para cada depósito se utilizará una pipeta distinta y esterilizada.
- Rápidamente, verter en todas las placas inoculadas alrededor de 20 cm³ de agar para recuento en placa-PCA, fundido y templado a 45°C ± 2°C. La aumento del medio no debería pasar de bastante más de 45 min desde la preparación de la primera dilución.
- Cuidadosamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén: 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y 5 veces en el opuesto.
- Como prueba de esterilidad verter agar en una caja que contenga el diluyente sin inocular. No debería de haber desarrollo de colonias.

- Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.
- Invertir las cajas e incubarlas a $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas.
- No amontonar bastante más de 6 placas. Las pilas de placas tienen que estar separadas entre sí de los muros y del techo de la incubadora.
- Pasado la era de incubación elegir las placas de 2 diluciones consecutivas que presenten entre 14 y 300 colonias y usando un contador de colonias, contar cada una de las colonias que hayan crecido en el medio, inclusive las pequeñas, empero, se debería tener cuidado para no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados, para esto usar lupas de más grande incremento.
- Las colonias de incremento difuso tienen que considerarse como una sola colonia si el aumento de esta clase de colonias cubre menos de un cuarto de placa; si cubre más la caja no va a ser captada presente en el ensayo.
- Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

3.4.2. *Escherichia Coli*

Según INEN 1529-8, (2016) en este procedimiento de decisión del *Escherichia Coli* se utilizó la técnica del recuento que se basa en la implementación de un agar cristal violeta - rojo neutro bilis (VRB) o uno parecido para plantar en hondura mediante una placa a una temperatura de $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ para productos refrigerados y $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ para productos que se mantienen a temperatura ambiente por una 24 ± 2 h.

3.4.2.1. Equipo y material

- Equipo habitual en un laboratorio microbiológico. En especial:
- Pipetas serológicas de punta ancha de 1,5 y 10 cm^3 graduadas en 1/10 de unidad.
- Cajas Petri.
- Autoclave.
- Incubador regulable, rango de temperatura de $25-70\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Báscula de capacidad no inferior a 2500 gramo y de 0,1 gramo de sensibilidad.
- Cuenta colonias.
- Tarros de boca ancha de 250, 500 y 1000 cm^3 con tapa de rosca autoclavable.
- pH-metro.
- Erlenmeyer de 500 y 1000 cm^3 .

3.4.2.2. Procedimiento:

- Usando una pipeta estéril pipetear por duplicado alícuotas de 1cm³ de todas las diluciones decimales en placas Petri correctamente identificadas. Empezar por la dilución de menor concentración.
- Rápidamente, verter en todas las placas Inoculadas alrededor de 20 cm³ de agar cristal violeta-rojo netro-bilis (VRB) o parecido recientemente preparado y temperado a 45± 2°C. La agregación del medio de cultivo no debería pasar bastante más de 15 min desde la preparación de la primera dilución.
- Suavemente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa desplazamiento de vaivén, 5 veces. Repetir este proceso, sin embargo en sentido opuesto.
- Como control de esterilidad del medio, verter la porción del agar en una placa sin inóculo.
- Dejar reposar las placas para que se dosifique el agar. Después verter en el área otros 6 cm³ de agar aún fundido y dejar dosificar.
- Invertir las placas e incubarlas a 30± 1°C para productos refrigerados y a 35± 1°C para productos que se mantienen a temperatura ambiente, por solo 24 ±2 horas.
- Pasado la era de incubación, elegir las placas que presenten 30-150 colonias e inspeccionar con luz transmitida. Contar cada una de las colonias de 1-2 mm de diámetro (mínimo de 0,5mm) de color rojo amoratado rodeadas por un halo rojizo.
- Para controlar rutina de planta, generalmente no se necesita, en especial con productos que contengan otros azúcares que la lactosa, proceder como posteriormente se sugiere.
- Elegir un número de colonias iguales a la raíz cuadrada del total de colonias típicas.
- A todas estas colonias inocularlas en tubos personales que contengan 10cm³ de caldo BGBL de concentración fácil y un tubo Durhan.
- Incubar a 30± 1°C para productos refrigerados y a 35± 1°C para productos que se mantienen a temperatura ambiente, a lo largo de 24-48h.

3.4.3. *Enterobacteriaceae*

Según INEN 1529-13, (2013) este procedimiento se fundamenta en la función de las *Enterobacteriaceae*, de generar ácidos desde la glucosa por lo cual se usó la técnica de recuento

en placa por siembra en hondura, en agar cristal violeta-rojo neutro-bilis-glucosa (VRBG) o parecido, y una temperatura de incubación $37\pm 1^\circ\text{C}$.

3.4.3.1. Equipos y materiales:

- La vidriería debería aguantar esterilizados reiteradas y todo el material debería estar perfectamente limpio y estéril.
- Pipetas serológicas de punta ancha, rango temperatura de 25 a $70\pm 1^\circ\text{C}$.
- Autoclave.
- Báscula de capacidad no inferior a 2.500g y de sensibilidad.
- Contador de colonias.
- Tarros de boca ancha de 250,500 y 100 cm^3 con tapa de rosca autoclavable.
- pH-metro.
- Erlenmeyer de 500 y 1000 cm^3
- Papel whatman N°.2 en cuadrados o tiras pequeñas.
- Placas de Petri, de vidrio o de plástico, de diámetro 90mm a 100mm.
- Asa de platino, níquel o cromo no tienen que ser usados.
- Medios de cultivo y reactivos: como se expresa en la NTE INEN 1529-1. Preparación de medios de cultivo.
- Caldo triptona soya (CTS).
- Medio glucosa sal.
- Agar nutritivo.
- Agar cristal violeta- rojo neutro- bilis- glucosa (VRBG).
- Solución acuosa al 1% de dihidrocóloruro de tetramil parafenilen-diamina.
- Vaselina líquida estéril.

3.4.3.2. Procedimiento:

Revitalización de las Enterobacteriaceae. Agitando ocasionalmente, conservar los tubos de las diluciones decimales a temperatura de laboratorio 20°C a 25°C , por 2 horas. Esta fase utilizar a alimentos que han sufrido tratamientos de conservación (químicos o físicos).

Hacer las diluciones en caldo soya triptona desde la suspensión mamá (10-1), usar una totalmente nueva pipeta estéril para cada dilución.

Siembra. Tomar 2 placas de Petri estériles. Utilizando una pipeta estéril, transferir a cada placa 1mL de la muestra si el producto es líquido, o 1 mL de la suspensión inicial en la situación de otros productos.

Verter en cada placa Petri inoculada alrededor de 10mL de medio de VRBG antes fundido y templado a 44 °C a 47 °C en el baño María.

La era transcurrida entre la inoculación de las placas de Petri y el instante en que se vierte el medio en las placas no tienen que exceder los 15 minutos. Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio de cultivo con movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar 5 veces en sentido de las agujas de reloj; repetir este proceso, empero en sentido opuesto.

Este paso se hace para eludir el aumento y propagación, para poder hacer condiciones anaeróbicas. Dejar que se solidifique.

Invertir las placas Petri e incubarlas a 37 °C a lo largo de 24 ± 2 h.

Recuento de colonias.

Contar las colonias propiedades que son de color rosa a rojo o púrpura (con o sin halos de precipitación).

Si en la mitad o bastante más de la mitad del área de las placas hay incremento invasivo desechar la placa. Si menos de la mitad del área está cubierta, contar las colonias en la parte clara y extrapolar de tal forma que el número corresponda al área total de la placa.

Si las placas de cada una de las diluciones tienen dentro bastante más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la proporción de muestra.

Selección de colonias. Continuamente que hace falta de ensayos confirmatorios, dichos tienen que ser hechos desde colonias anteriormente seleccionadas y purificadas.

Del tal de colonias típicas, presuntas, elegir el bien recluido, en un número equivalente a la raíz cuadrada, con un mínimo de 5.

A todas estas colonias inocularlas individualmente, en tubos que contengan agar nutritivo inclinado o PCA. Incubar a 37 °C por 24 ± 1 h.

Hacer extensiones de éstos subcultivo, revisar su pureza (solo bacilos Gram negativos) y utilizarlos para hacer pruebas complementarias.

3.4.4. Mohos Y Levaduras.

Según INEN 1529-10, (2013) para el aumento de mohos y levaduras usamos la técnica del recuento en placa por siembra en hondura en un medio de formado por levadura, glucosa y sales minerales a una temperatura de incubación de 22°C a 25°C.

3.4.4.1. Equipos y materiales:

- La vidriería debería soportar esterilizadas reiteradas y todo el material debería estar perfectamente limpio y estéril.
- Placas Petri
- Pipetas serológicas de boca ancha de 1,5 cm³ y 10 cm³ graduadas en 1/10 de unidad.
- Esparcidores.
- Medios de cultivos.
- Agar sal-levaduras de Davis o semejante.
- Se puede añadir de forma opcional clorhidrato de clortetraciclina. una vez que existe sobre incremento bacteriano podría ser un problema (por ejemplo, las carnes crudas), se ofrece utilizar cloranfenicol (50mg/l), elaborar el medio de base, con solo 50 miligramo de cloranfenicol, se dispense en porciones de 100ml y se esteriliza. Elabora además un 0,1% (en masa concentración) solución de clorhidrato de clortetraciclina en agua (relativamente inestables en solución, que debería ser recién preparada) y esterilizar por filtración. Justo antecedente de utilizar, adicionar 5ml de esta solución asépticamente a 100 mL del medio de base, y verter en placas.
- La gentamicina no es aconsejable, debido a que se ha reportado que puede provocar inhibición de varias especies de levaduras.
- Con el propósito de que los mohos exhiban su morfología completa, en especial los pigmentos que generan comúnmente requieren rastrear los recursos que no tienen la posibilidad de estar presentes en DRBC (Dichloran-rose bengal chloramphenicol agar).
- Aumento opcional de Tergitol. A fin de evadir el incremento desmesurado de Mucoraceae en placas de agar, la aumento de tergitol (1ml/l) al medio de cultivo es recomendada.
- Dichloran glicerol 18% (concentración de masa) agar (DG18); usado para productos con actividad de agua inferior o igual a 0,95.

3.4.4.2. Procedimiento:

Gracias a la inmediata sedimentación de las esporas en la pipeta, conservar la pipeta en una postura horizontal (no vertical) colocarse Una vez que se llena con el volumen apropiado de la suspensión inicial y diluciones. Agitar la suspensión inicial y diluciones con el objetivo de eludir la sedimentación de microorganismos que tienen dentro partículas.

Inoculación e incubación. Sobre una placa de agar anteriormente fundido, usando una pipeta estéril, transferir, 0,1mL de la muestra si es líquido, o 0,1mL la suspensión inicial en la situación de otros productos. Sobre una placa de agar, usando una pipeta estéril fresco, transferir 0,1mL de la dilución decimal (10) dilución (producto liquido), 0,1mL de la dilución (otros productos). Para facilitar el recuento de bajas poblaciones de levaduras y mohos, los volúmenes tienen la posibilidad de llegar hasta 0,3ml de una dilución 10 de muestra, o de la muestra de prueba, si es líquido podría ser extendido en 3 placas. Repetir estas operaciones con diluciones posteriores, usando una pipeta estéril nueva para cada dilución decimal. Si se supone un veloz aumento de mohos se supone, prolongar el líquido sobre el área de la placa de agar con un esparcidor estéril hasta que el líquido esté enteramente absorbido en el medio.

Además, se inoculan las placas por el procedimiento de vertido, sin embargo, en esta situación las equivalencias de los resultados van a ser validados comparativamente con la inoculación en área, además la discriminación y la diferenciación de los mohos y levaduras no son admisibles.

El procedimiento de difusión en el área puede ofrecer más grande enumeración. La técnica de propagación de placa permite la máxima exposición de las células al oxígeno atmosférico y previene cualquier peligro de inactivación térmica de los propágulos fúngicos. Los resultados tienen la posibilidad de depender del tipo de hongos.

Incubar las placas preparadas aeróbicamente, con las tapas mejores en postura vertical en la incubadora $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a lo largo de 5 días. Si se necesita, deje las placas de agar parado con luz natural difusa a lo largo de 1 día a 2 días. Se propone incubar las placas en una bolsa de plástico abierta con la intención de no contaminar la incubadora en la situación de la difusión de los mohos de los platos.

Recuento y selección de colonias para la afirmación. Leer las placas entre 2 días y 5 días de incubación. Elegir los platos que tienen dentro menos de 150 colonias y contarlas. Si dichos

mohos son de veloz aumento podría ser un problema, al instante del conteo, por esto se propone de hacer un recuento a los 2 días y de nuevo luego de 5 días de incubación.

Contar las colonias de levaduras y las colonias de mohos por separados, si se necesita. Para la identificación de levaduras y mohos, elegir superficies de aumento de hongos e inspeccionar con el microscopio o inocular correcto para su retiramiento.

3.4.5. Clostridium

Según INEN 1529-18, (2013) en este estudio del Clostridium se requirió la utilización de la técnica de recuento en tubos y el medio de cultivo a utilizar, el agar TSN o el agar Triptosa - Sulfito - Cicloserina (TSC) para el cultivo de los clostridium por el calor o el gélido, basándose en 3 propiedades de los clostridium, como lo es la alta tolerancia a la polimixina y neomicina, el poder reductor del sulfito y el incremento a 44°C.

3.4.5.1. Equipos y Materiales:

Para que haya uniformidad en los resultados, se necesita que los elementos de los medios sean de una calidad uniforme y de nivel analítico o, paralelamente, se debería usar medios enteros deshidratados, reconstituir y utilizarlos según las indicaciones del fabricante.

Estructura y preparación de los medios de cultivo y reactivos.

- Agar TSN.
- Agar triptosa-sulfito-cicloserina TSC.
- Agar peptona 0,1%
- Medio SIM
- Reactivo de Kovacs
- Tubo para el diagnóstico de *CI. Perfringens* (CPT)
- Medio tioglicolato fluido.
- Vaselina líquida.

Materiales. La vidriería y utensilios que se usen en los ensayos tienen que ser de material inerte y resistente a esterilización reiteradas, además, tienen que estar perfectamente limpios y estériles.

- Pipetas bacteriológicas de boca ancha graduadas en 1/10 cm³.
- Tubos de ensayo de 22mm x200mm
- Tubos de ensayo de 12mm x120mm
- Tarros con tapa de rosca para muestra

- Jarras anaeróbicas o cualquier otro tipo correcto para cultivo anaeróbico.
- Incubador 46 °C
- Contador de colonias.

3.4.5.2. Procedimiento:

- En tubos que contengan agar TSN fundido y temperado entre 44°C a 47°C, de cada dilución decimal, pipetear por duplicado volúmenes de 1 cm³, introduciendo la pipeta hasta el fondo y dejando caer la muestra al retirar la pipeta con desplazamiento helicoidal ascendente. Usar una totalmente nueva pipeta estéril para cada dilución.
- Colocar los tubos en pie en un baño de agua gélida para que el agar se solidifique velozmente.
- Incubar a 46°C por 16h a 18 h.
- Recuento de colonias
- Escoger ambos tubos de la dilución que contengan entre 30 ± 10 colonias negras, contarlas y calcular el número de unidades formadoras de colonias (células vegetativas y esporos) por gramo o centímetro cúbico de alimento. Una vez que la siembra fue en placas, hacer al recuento velozmente luego de abrirlas, previamente que las colonias empalidezcan.
- Si parte de los tubos permanecen del todo ennegrecidos y es complicado contar las colonias recluidas propiedades, hacer el recuento en ambos tubos de la dilución rápida más alta y, aunque el número sea menor de 15, anotar la media aritmética de dichos 2 valores.
- Si todos los tubos tienen dentro bastante más de 40 colonias, contar en los tubos inoculados con la dilución más alta.
- Si no hay desarrollo de colonias propiedades en los tubos sembrados con muestras no diluidas (liquidadas) o con la suspensión inicial (10-1), anotar: “no se observan las colonias”.

3.4.6. Salmonella

Según INEN 1529-15, (2013) para la decisión de la salmonella se aplican placas de petri con medios de agar selectivos específicos rígidos para la formación de colonias típicas

para lograr hacer el conteo, estas pertenecen a el núcleo familiar de las Enterobacteriaceae siendo enorme negativa.

3.4.6.1. Equipos y Materiales:

- Molino de carne para laboratorio, provisto de placas crivadas, cuyos orificios no excedan de 4mm de diámetro.
- Licuadora de 8000 a 45000 rpm, con vasos de metal o vidrio autoclavable, de capacidad correcta.
- Equipo para esterilizar medios de cultivo y material: autoclave, almogadillas de asbesto, membranas filtrantes, bujías de porosidad correcta.
- Estufa de secado, con regulador de temperatura.
- Incubadora, con regulador de temperatura, para cultivos a 37° C.
- Baño de agua, con regulador de temperatura.
- Incubadora o baño de agua para cultivos entre 42°C y 43° C.
- Microscopio.
- Refrigeradora.
- Báscula de 0,1 gramo de sensibilidad.

3.4.6.2. Procedimiento

- Diluyentes. Los líquidos de dilución empleados para el objeto de esta regla son:
- Agua peptona tamponada. Para colorantes alimentarios de pH > 6; productos del océano: crustáceos (camarones, cangrejos, etc), moluscos (bivalvos, caracoles), pescados; carnes y productos cárnicos; huevos pasteurizados, líquido o en polvo, productos con huevo; gelatinas y postres de gelatina; frutas y vegetales desecados; productos de panadería; pastas alimenticias; quesos.
- Caldo de soya triptica con 0,5% de K₂SO₃ Para ajos y cebollas en polvo. El sulfito de potasio se incorpora al caldo previo a esterilizarlo.
- Caldo de soya triptica. Para especias como; comino, pimienta, páprika, apio, perejil, tomillo, etcétera, vegetales en hojuelas, levadura seca.
- Agua destilada estéril. Para productos desecados con elevado contenido en firmes solubles como por ejemplo, leche en polvo, productos desecados para bebés, etcétera.
- Caldo nutritivo. Para productos de repostería.

- Leche desnatada en polvo reconstituida. Para caramelos, chocolates y productos de confitería.
- Pre-enriquecimiento. Elaborar el homogeneizado con 25g de muestra y 225 cm³ de diluyente, y si se necesita, ajustar el pH a $6,8 \pm 0,2$ con una solución estéril de hidróxido de sodio 1 N, ó de ácido clorhídrico 1N, o de fosfato tripotásico al 8% (K₃PO₄-7H₂O).

3.4.7. Shigella

Según INEN 1529-16, (2013) el procedimiento para la decisión del Shigella se fundamenta en la utilización del agar XLD que tiene Xilosa, en el cual las colonias aparecen rojas gracias a la inviabilidad de fermentar la xilosa, hablamos de multiplicar las células bacterianas.

3.4.7.1. Equipos y Materiales:

Requisitos básicos: Toda la vidriería y utensilios que se usen en los ensayos tienen que ser de material inerte y resistente a esterilizaciones reiteradas, además, tienen que estar perfectamente limpios y estériles.

- Molino de carne para laboratorio, provisto de placas crivadas, cuyos orificios no excedan de 4 mm de diámetro.
- Licuadora de 8 000 a 45 000 rpm, con vasos de metal o vidrio de capacidad correcta, Autoclavable.
- "Stomacher" para masajear las muestras.
- Equipo para esterilizar material, medios de cultivo y reactivos: autoclave y equipo para esterilizar por filtración.
- Estufa de secado con regulador de temperatura.
- Incubadora, con regulador de temperatura, para cultivos a 37°C.
- Microscopio.
- Refrigeradora.
- Báscula de 0,1 gramo de sensibilidad.
- Mechero Bunsen.
- Gradillas o tuberas.
- Materiales diversos: Cucharas, cuchillos, pinzas, tenedores, espátulas, tijeras, sacabocados, etcétera.

- Tubos de ensayo de 150 mm x 20 mm; 160 mm x 16 mm; 120 mm x 12 mm, 100 mm x 12 mm.
- Probetas graduadas.
- Pipetas bacteriológicas de punta ancha graduadas en 1/10 de cm³.
- Placas Petri de vidrio de 100 mm x 15mm
- Erlenmeyer.
- Tarros para muestreo con tapas de rosca.
- Autoclavable.
- Pipetas Pasteur.

3.4.7.2. Procedimiento

Las muestras que han sufrido tratamientos de conservación y que las células de Shigella permanecen debilitadas, procediendo desde el preenriquecimiento.

Las muestras que no han sufrido tratamientos de conservación y que tienen dentro diminuto número de células no debilitadas de Shigella, someterlas a enriquecimiento selectivo.

En muestras que no han sufrido tratamientos físicos o químicos de conservación y que tienen dentro un número apreciable de células no debilitadas de Shigella, proceder desde Siembra en placas de agar selectivos-diferenciales, sin someterlas a preenriquecimiento ni a enriquecimiento selectivo.

3.4.7.3. Preenriquecimiento:

- Muestras con procedimiento de conservación. En un tarro de boca ancha con tapa de rosca, asépticamente, pesar en pequeños pedazos $25 \pm 0,1$ gramo de muestra, conseguidos de las diferentes regiones de la unidad de muestra y aumentar 225 cm³ de caldo TSB. Si la muestra es líquida, transferir 25 cm³.
- En una licuadora, homogeneizar entre 15 000 y 20 000 rpm por no bastante más de 2 min, iniciar con escasas revoluciones. Omitir la trituración si la muestra es líquida, pulverulenta, molida o triturada, éstas tienen que ser agitadas para suspender la muestra. Si la muestra es menor de 25 gramo, hacer proporcionalmente la dilución y considerar en el resultado.
- Ajustar el pH del homogeneizado a $6,8 \pm 0,2$ con una solución estéril de hidróxido de sodio 1 N ó de ácido clorhídrico 1 N o de fosfato tripotásico al 8% (K₃PO₄. 7H₂O).
- Cubrir el tarro, agitando ocasionalmente, dejar a temperatura ambiente a lo largo de 2 h.
- Enriquecimiento selectivo:

- Muestras sin procedimiento de conservación que tienen dentro diminuto número de células no debilitadas. En todos 2 tarros, de boca ancha y con tapa de rosca, de las diferentes regiones de la unidad de muestra, pesar asépticamente $25 \pm 0,1$ gramo, en pequeños pedazos.
- Adicionar 225 cm^3 de caldo GN a uno de los tarros, y 225 cm^3 de caldo selenito cistina al otro.
- Homogeneizar
- Ajustar el pH a $6,8 \pm 0,2$ procediendo según 8.4.3, cubrir los tarros y avanzar con el numeral
- Muestras provenientes del cultivo de preenriquecimiento. Al término de las 2 h de incubación, transferir 10 cm^3 a un matraz que contenga 100 cm^3 de caldo GN, y otros 10 a otro con 100 cm^3 de caldo selenito-cistina. Cubrir los tarros y mezclar suavemente.
- Desapretar las tapas 1/4 de vuelta e incubarlos entre 35 y 37°C , por 16 ± 2 horas y seguir.
- Siembra en placas de agares selectivos-diferenciales.
- Muestras sin procedimiento de conservación que tienen dentro destacable número de células no debilitadas. Se debería intentar siguiendo la Regla vigente que se muestra lo indicado, pipetear $0,5 \text{ cm}^3$ en el área seca de todas 2 placas particulares de los agares XLD, MAC y SS. Con una varilla en L, extender uniformemente el inóculo sobre el área del agar hasta que sea absorbido por el medio.
- Muestras provenientes del cultivo de enriquecimiento selectivo. De todos los cultivos de enriquecimiento selectivo, con un asa, plantar en estría en el área seca de placas de agar XLD, MAC y SS, de manera se obtengan colonias bien recluidas (primer subcultivo).
- Invertir las placas e incubar entre 35 y 37°C a lo largo de 24 h, y a los tarros de los cultivos en GN y selenito-cistina incubados otras 24 horas.
- Analizar las placas. Si el incremento es pobre y no aparecen colonias sospechosas de Shigella, incubar otras 24 h y después examinarlas. Concluidas las 24 h extras de incubación de los cultivos de enriquecimiento selectivo, hacer un segundo subcultivo.
- Aspecto de las colonias de Shigella en los medios de agar selectivos
- Agar XLD. Las colonias típicas de Shigella son del mismo color que el medio de cultivo, transparentes, principalmente de 1 mm de diámetro. Las colonias con centro negro no son del género Shigella y tienen la posibilidad de pertenecer a los géneros Proteus, Salmonella o Citrobacter.

- Agar SS, agar MAC. Las colonias típicas de Shigella son incoloras y transparentes.

3.5. Variables

3.5.1. Variables Independientes

- ✓ Tiempo de Infusión.
- ✓ Temperatura de Infusión.

3.5.2. Variable Dependiente

- ✓ Análisis Sensorial.
- ✓ Químicos.
- ✓ Bromatológicos.

3.6. Factores En Estudio

3.6.1. Niveles Del Factor A = Tiempo de Infusión de las hojas

- ✓ A1 = 6 horas
- ✓ A2 = 12 horas

3.6.2. Niveles Del Factor B = Temperatura de infusión hojas.

- ✓ B1= 75 °C
- ✓ B2= 90°C

3.7. Diseño Experimental Aplicado

El diseño experimental que se utilizó en la investigación es un diseño completamente al Azar (DCA) bifactorial A x B, con tres réplicas por tratamiento, dando un total de 27 unidades experimentales.

Tabla 2

Tratamientos del Proceso Experimental

Tratamiento	Código	Descripción
T1	A1B1	6 horas + 75°C
T2	A1B2	6 horas + 90°C
T3	A2B1	12 horas + 75°C
T4	A2B2	12 horas + 90°C

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

4. RESULTADOS

4.1. Análisis Estadísticos

4.1.1. Análisis sensorial

4.1.1.1. Sabor

De acuerdo con los resultados expuestos en la Tabla 3, de la prueba de Friedman del atributo sabor se puede apreciar que en cada uno de los casos no se encontraron diferencias significativas ($p=0,5033$) entre los valores registrados para los tratamientos en estudio, encontrándose una misma aceptabilidad en este parámetro en cada uno de los catadores, considerando que para este atributo los catadores consideraron como Bueno el cual representó más del 60% de los catadores y Muy Bueno con valores que oscilaron entre 20 y 37% para cada uno de los tratamientos en estudio, a pesar de haber diferencias significativas entre ellas el tratamiento T1 tuvo un mayor margen de aceptabilidad.

Tabla 3

Prueba Friedman para el atributo Sabor

T1	T2	T3	T4	T ²	P
2,75	2,40	2,53	2,32	0,79	0,5053
Tratamiento	Suma	Media	n		
T1	82,50	2,75	30		A
T2	72,00	2,40	30		A
T3	76,00	2,53	30		A
T4	69,50	2,32	30		A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,050$)

4.1.1.2. Olor

Al analizar el comportamiento del atributo sensorial Olor (Tabla 4), se puede apreciar que para este atributo no se encontraron diferencias significativas ($p=0,9164$) entre los promedios registrados para los tratamientos en estudio, dando como respuesta en ninguno de los tratamientos se encontró influencia alguna del tiempo y la temperatura con las que se desarrolló este experimento.

En relación a los resultados de las categorías consideradas para este parámetro se obtuvo que los valores fueron mayoritariamente representativos para la categoría de aceptación de

Bueno con promedios que se encontraron por superiores a 73%. Consecutivamente se puede apreciar que los catadores mostraron una preferencia de aceptación de Muy Bueno con valores de 20 a 23%, respectivamente en cada uno de los tratamientos en estudio. Tanto el tratamiento T1 y T4 suman igual margen de aceptabilidad.

Tabla 4

Prueba Friedman para el Atributo Olor

T1	T2	T3	T4	T²	P
2,55	2,37	2,53	2,55	0,17	0,9164
Tratamiento	Suma	Media	n		
T1	76,50	2,55	30		A
T2	71,00	2,37	30		A
T3	76,00	2,53	30		A
T4	76,50	2,55	30		A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,050$)

4.1.1.3. Color

Con relación a los resultados de la evaluación sensorial, del atributo color (Tabla 5), no se encontraron diferencias significativas ($p=0,9164$), entre los valores promedios registrado para cada uno de los tratamientos en estudio, indicando que en cada uno de los casos los catadores presentaron una misma percepción del color en cada uno de los tratamientos.

De acuerdo con los resultados del panel sensorial, se obtuvo que de acuerdo con las valoraciones dadas por los catadores se puede apreciar que los tratamientos en estudio mostraron una categoría de aceptación de Bueno, la misma que representan valores porcentuales superiores al 60%. El tratamiento T1 obtuvo mayor porcentaje de aceptabilidad.

Tabla 5*Prueba Friedman para el Atributo Color*

T1	T2	T3	T4	T²	P
2,62	2,58	2,47	2,33	0,36	0,7810
Tratamiento		Suma	Media	n	
T1		78,50	2,62	30	A
T2		77,50	2,58	30	A
T3		74,00	2,47	30	A
T4		70,00	2,33	30	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,050$)

4.1.1.4. Apariencia

La tabla 6 muestra los resultados del parámetro “Apariencia”, se puede apreciar que los resultados no mostraron diferencias significativas ($p=0,8569$) entre los valores registrados para cada uno de los tratamientos, encontrándose que a pesar de encontrar variaciones entre tiempo y temperatura los catadores no encontraron diferencias entre la apariencia del producto final de cada tratamiento, calificándolo en su mayoría como Bueno y muy bueno.

Tabla 6*Prueba Friedman para el Atributo Apariencia*

T1	T2	T3	T4	T²	P
2,60	2,58	2,43	2,38	0,26	0,8569
Tratamiento		Suma	Media	n	
T1		78,00	2,60	30	A
T2		77,50	2,58	30	A
T3		73,00	2,43	30	A
T4		71,50	2,38	30	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,050$).

De acuerdo con los resultados derivados del panel sensorial, se puede apreciar que el tratamiento con mayor aceptación fue el T1, considerando los valores registrados en cada uno de los parámetros sensoriales evaluados en esta investigación, por lo que se escogió como el producto que se caracterizó mediante análisis microbiológicos y bromatológicos.

Tabla 7

Parámetros de Análisis Microbiológicos de la Bebida Funcional

Ensayo	Unidades	Resultados
<i>E. Coli</i>	UFC/g	<1x10
Aerobio Totales	UFC/g	1,1x10 ³
Enterobacterias	UFC/g	<1x10
Salmonella	-	No Detectado/25g
<i>Shiguella Spp</i>	-	No Detectado/25g
<i>Clostridium Spp</i>	UFC/g	<1x10
Mohos	UFC/g	<1x10
Levaduras	UFC/g	<1x10

En los resultados microbiológicos efectuados al mejor tratamiento T1, se determinó que no hubo presencia de Salmonella en los análisis de la bebida funcional de hojas de mango así como no se contó con la presencias de la cepa de *Shiguella Spp*, De la misma manera los valores registrado para los demás microorganismos se encontraron por debajo de los requerimientos con la Norma INEN 2381 y 2392, lo que indica que el proceso de obtención de la bebida y materia prima cumplieron con los requisitos de inocuidad, lo que permite mantener la estabilidad del producto previo al consumo.

Tabla 8. Parámetros de Análisis Bromatológicos de la Bebida Funcional

Ensayo	Unidades	Resultados
Materia Grasa	%	0,02
Ceniza	%	0,42
Humedad	%	88,03
Proteínas	%	0,41
Carbohidratos	%	11,12
Energía	Kcal/g	46,3

Los resultados del análisis bromatológico de la bebida funcional de hojas de mango, se identificaron que los porcentajes alcanzados en la Materia grasa fueron de 0,025; Cenizas

0,42%; Humedad 88,03%; Proteína 0,41%; Carbohidratos 11,12%; y Energía 46,30Kcal/g en la dieta diaria.

4.2. Discusión.

Al establecer la fórmula adecuada para la obtención de una bebida funcional se comprobó que en las pruebas sensoriales respecto a sabor, olor, color y apariencia que no hubieron diferencias significativas según la pruebas de Friedman en función del tiempo y temperatura, lo que indica que los panelistas no tuvieron predilección por un tratamientos en los diferentes atributos, de igual manera Loza et al. (2018), expresaron en su estudio de en su bebida funcional de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión en función de los mismos factores (temperatura y tiempo) en los parámetros sensoriales sabor, olor, color y apariencia no hubo diferencia en la significación de los tratamientos.

Así mismo Contreras (2019), realizó un análisis sensorial afectivo, en una bebida funcional, evaluando la influencia de los mismos factores en los atributos sabor, olor, color y apariencia, los resultados arrojaron también que no hubo diferencias significativas, de igual manera Loza et al. (2018), en su bebida funcional en función de los mismos factores (temperatura y tiempo) en los parámetros sensoriales sabor, olor, color y apariencia no hubo significancia. Por lo que el experimento al definir tiempos y temperatura de infusión en la elaboración de una bebida funcional no presento alguna diferencia relevante ante las variables del proceso.

Por el contrario, Guevara (2019) en un estudio realizado en la Universidad Nacional De Cajamarca sobre la infusión filtrante de hojas de mango y otros agregados establecen diferencias significativas en los diferentes atributos de los parámetros sensoriales en función de los factores temperatura y tiempo.

Se analizó las características fisicoquímicas de la bebida funcional elaborada a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*). En lo que respecta a la calidad microbiológica y al igual que los parámetros bromatológicos estaban dentro de rangos aceptables citados en las Normativas técnicas ecuatorianas INEN 2381 y 2392.

Los parámetros bromatológicos están en los rangos de aceptabilidad, debido a que, según la diversa bibliografía sobre la influencia de la temperatura y tiempo en la calidad bromatológica sobre las características organolépticas, así como lo demuestra en un estudio de la universidad de Ambato sobre elaboración de té de guayusa con la adición de ácido cítrico.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Se concluye que aplicando la fórmula para elaboración una bebida funcional que a partir de la obtención mediante el método de infusión de las hojas de mango con el método de infusión se obtiene mejores resultados en el sabor del jugo ya que se evita la rancidez en el mismo.
- Se concluye que la mejor bebida es el T₁ en el que se aplicó 75°C en la infusión durante 6 horas y posteriormente se realizó un análisis sensorial por medio de pruebas hedónicas, teniendo como combinación óptima para la elaboración de la bebida funcional de hojas de mango.
- Al analizar las características fisicoquímicas de la bebida funcional elaborada a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*) se realizó siguiendo lo determinado por las normas INEN 2381 y 2392 concluyendo que el jugo se encuentra en los parámetros según dichas normas.

5.2. RECOMENDACIONES

- Es necesario al aplicar las temperaturas no excederse en tiempo ya que puede sufrir deterioro de las propiedades de la bebida por lo tanto se recomienda utilizar las temperaturas y tiempos descritas en la presente investigación, dando pie a generación de nuevas investigaciones con otros estados de madurez de la hoja de mango.
- Se recomienda evaluar la influencia de los factores tiempo y temperatura en los parámetros fisicoquímicos sin descuidar el aspecto microbiológico de la bebida funcional a base de hoja de mango pues sabemos que la hoja de mango se encuentra permanentemente expuesta a factores que pueden afectar estructuralmente a la misma.
- Se recomienda extender los resultados del presente tema hacia la facción medicinal por los muchos artículos que refieren que la bebida de hojas de mango puede satisfacer la necesidad fisiológica para ciertas enfermedades y lograr que los consumidores deseen buscar opciones nutritivas, refrescantes, naturales, estimulantes y saludables en la infusión realizada dentro de la investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M., García, N., J., Sosa, M., y Cerón, A. (2019). Atributos de calidad en diferentes bebidas a base de té: caracterización fisicoquímica y colorimétrica. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 4. Obtenido de <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/131.pdf>
- Álvarez, A. (2022). *Descubre las bebidas más saludables después del agua*. Obtenido de La Vanguardia: <https://www.lavanguardia.com/comer/tendencias/20210601/7494702/bebidas-mas-saludables-agua.html>
- Araya, H. y Lutz, M. (2017). Alimentos Funcionales y Saludables. *Revista Chilena de Nutrición*, 30(1), 8-14. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182003000100001>
- Benítez, J. (2020). *Caracterización química y funcional de los extractos de hojas de mango, olivo y hollejo de uva tinta obtenidos a partir de extracción con líquidos presurizados y sus aplicaciones en el campo de la biomedicina*. Tesis, Universidad de Cádiz. Obtenido de <https://rodin.uca.es/handle/10498/23398>
- Boxler, M. (2020). *Infusiones de Plantas Aromáticas y Medicinales*. Obtenido de Publicaciones Regionales INTA: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_infusiones_de_plantas_aromticas_y_medicinales.pdf
- Boxler, M. (2020). *Infusiones de Plantas Aromáticas y Medicinales*. Obtenido de Publicaciones Regionales INTA: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_infusiones_de_plantas_aromticas_y_medicinales.pdf
- Campos, Y. (2019). *Formulación y elaboración de una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja (Citrus sinensis)*. Universidad Nacional De Cajamarca, Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Perú. Obtenido de <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/3031>
- Castro, D. (2022). *6 beneficios de las hojas de mango que posiblemente no conocías*. Obtenido de Mejor con Salud: <https://mejorconsalud.as.com/beneficios-hojas-mango/>
- Contreras, E. y Purisaca, J. (2018). Elaboración y evaluación de una bebida funcional a partir de yacón (*Smallantus sonchifolius*) y piña (*Ananas comusus*) endulzado con stevia. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Santa].

<https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/3060/47077.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

De Brasilia, A. (2017). *¿Qué es el Té?* Obtenido de Alou Thé: <https://alouthe.com/que-es-te/>

Echeverría, D. (2022). 6 beneficios de las hojas de mango que posiblemente no conocías. Revista sobre buenos hábitos y cuidados para tu salud Obtenido de Mejor con Salud: <https://mejorconsalud.as.com/beneficios-hojas-mango/>

EL UNIVERSO. (2020). *6 beneficios de las hojas de mango que posiblemente no conocías*. Obtenido de Diario el Universo: <https://www.eluniverso.com/larevista/2020/08/22/nota/7949704/6-beneficios-hojas-mango-que-posiblemente-no-conocias/>

Encalada-Añazco, R. F., Peñaherrera-Vásquez, D. L., y González-Illescas, M. L. (2021). Los superalimentos como tendencia del mercado: Un análisis de las oportunidades para las empresas exportadoras. *Innova Research Journal*, 6(2), 157-179. <https://doi.org/10.33890/innova.v6.n2.2021.1627>

Flores, C. A. (2019). Efecto de la concentración de extracto de hojas de Moringa (*Moringa oleífera*) y Chía (*Salvia hispánica* L.) sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida funcional. [Tesis de pregrado, Universidad Privada Antenor Orrego]. http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/5573/1/RE_ALI_CARLOS.FLORES_CONCENTRACION.EXTRACTO.MORINGA.CHIA_DATOS.pdf

Garrido, G., y Valdés, M. (2012). Avances en las investigaciones farmacológicas y toxicológicas con el extracto acuoso de la corteza del árbol del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista de Farmacología de Chile*, 5(2), 63-93. Obtenido de <https://www.researchgate.net/publication/256706048>

Gómez, M. (2020). *La ciencia de los productos naturales en el descubrimiento de fármacos*. Instituto De España Real Academia Nacional De Farmacia. ISBN: 978-84-122587-0-7 Depósito Legal: M-25254-2020. <https://www.ranf.com/wp-content/uploads/academicos/discursos/numero/gomezerranillos>

- González, J. (2021). *Seis variedades de mango apetecen más al mercado*. Obtenido de DIARIO EL Comercio: <https://www.elcomercio.com/actualidad/ecuador/mango-fruta-mercados-costa-economia.html>
- Guevara, A. (2019). *Elaboración de una Infusión Filtrante A Base de Hojas de “Mango” (Mangifera Indica L.), “Cola De Caballo” (Equisetum Bogotense L.) Y “Estevia” (Stevia Rebaudiana Bert.) Para Evaluar Su Aceptabilidad Sensorial*. Tesis, Universidad Nacional de Cajamarca, Perú. Obtenido de <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/3250>
- Imran, M., Arshad, M., Butt, M., Kwon, J., Arshad, M., y Sultan, M. (2017). Mangiferin: a natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids in health and disease*, 16(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0449-y>
- INEN - ISO 1842. (2013). *Determinación de pH (IDT)*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización - Organización Internacional de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_1842_extracto.pdf
- INEN - ISO 2173. (2013). *Determinación de Sólidos Solubles - Método Refractométrico (IDT)*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización - Organización Internacional de Normalización: <https://silo.tips/download/quito-ecuador-norma-tecnica-ecuatoriana-nte-inen-iso-21732013-extracto>
- INEN - ISO 750. (2013). *Determinación De La Acidez Titulable (IDT)*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización - Organización Internacional de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_750_extracto.pdf
- INEN 1529-10. (2013). *Control Microbiológico De Los Alimentos. Mohos Y Levaduras Viables. Recuentos En Placa Por Siembra En Profundidad*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-10-1.pdf
- INEN 1529-13. (2013). *Control Microbiológico De Los Alimentos. Enterobacteriaceae. Recuento En Placa Por Siembra En Profundidad*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-13-1R.pdf>

- INEN 1529-15. (2013). *Control Microbiológico De Los Alimentos Salmonella. Método De Detección*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-15-1R.pdf>
- INEN 1529-16. (2013). *Control Microbiológico De Los Alimentos Shigella. Método De Detección*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-16-1R.pdf>
- INEN 1529-18. (2013). *Control Microbiológico De Los Alimentos. Clostridium Perfringens. Recuento En Tubo Por Siembra En Masa*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-18-1R.pdf>
- INEN 1529-5. (2006). *Control Microbiológico De Los Alimentos. Determinación De La Cantidad De Microorganismos Aerobios Mesófilos. Rep.* Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://ia802906.us.archive.org/16/items/ec.nte.1529.5.2006/ec.nte.1529.5.2006.pdf>
- INEN 1529-8. (2016). *Control Microbiológico De Los Alimentos. Detección Y Recuento De Escherichia Coli Presuntiva Por La Técnica Del Número Más Probable*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-8-1.pdf
- INEN 2225. (2000). *Determinación de Contenido de Carbohidratos Libres y Totales*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2225.pdf>
- INEN 2304. (2017). *Refrescos o Bebidas No Carbonatadas. Requisitos*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2304-1.pdf
- INEN 2392. (2017). *Hierbas Aromáticas. Requisitos*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2392-2.pdf
- INEN 465. (1980). *Determinación de Proteína Bruta*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_465.pdf
- INEN 466. (1980). *Determinación de la Materia Grasa*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/466.pdf>

- INEN 467. (1980). *Determinación de Ceniza*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/467.pdf>
- INEN 49. (2015). *Determinación de la Humedad*. Obtenido de Instituto Ecuatoriano de Normalización: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_49-1.pdf
- Interempresas Media, S.L. (2021). *Mango, Magnifera Indica / Anacardiaceae*. Obtenido de <https://www.frutas-hortalizas.com/Frutas/Presentacion-Mango.html>
- Jiménez, M. (2017). *Las Bebidas Funcionales Como Respuesta A Un Consumidor Cada Vez Más Preocupado Por La Salud*. Obtenido de docplayer.es: <https://docplayer.es/55062983-Las-bebidas-funcionales-como-respuesta-a-un-consumidor-cada-vez-mas-preocupado-por-la-salud.html>
- Kumar, M., Saurabh, V., Tomar, M., Hasan, M., Changan, S., Sasi, M., . . . Mekhemar, M. (2021). Mango (*Mangifera indica* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. *Journal Antioxidants*, 10(2), 299. <https://doi.org/10.3390/antiox10020299>
- Lizarzaburo, G. (2019). *Temporada de mangos: Conoce las cuatro variedades más vendidas*. Obtenido de Diario Expreso: <https://www.expreso.ec/actualidad/economia/temporada-mangos-conozca-cuatro-variedades-vendidas-ecuador-1616.html>
- MAG – SIPA. (2018). Boletín Situacional del Mango. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería – Sistema de Información Pública Agropecuaria: http://sipa.agricultura.gob.ec/boletines/situacionales/2018/boletin_situacional_mango_2018.pdf
- Medina, N., Queiròza, J., Rocha, S., Lopes, R., Castro, M., Mafra, C., . . . Duarte, H. (2018). Mango leaf tea promotes hepatoprotective effects in obese rats. *Journal of Fuctional Foods*, 49, 437 – 446. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.010>
- Nutrinews. (2020). *Utilización del mango y sus subproductos en producción animal*. Obtenido de nutrinews.com: <https://nutrinews.com/utilizacion-del-mango-y-sus-subproductos-en-produccion-animal/>
- Ordoñez, E., López, A., y Reátegui, D. (2020). Infusiones de plantas medicinales: Actividad antioxidante y fenoles totales. *Agroindustrial Science*, 10(3), 259 - 266. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.03.06>

- Ordoñez, E., López, A., y Reátegui, D. (2020). Infusiones de plantas medicinales: Actividad antioxidante y fenoles totales. *Agroindustrial Science*, 10(3), 259 - 266. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.03.06>
- SIPA - Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. (2021). *Boletín Situacional del Mango*. http://sipa.agricultura.gob.ec/boletines/situacionales/2021/boletin_situacional_mango_2021.pdf
- Vega, S. (2021). *Bebida funcional de guaraná (Paullinia cupana), coca (Erythroxylum coca), arándanos (Vaccinium corymbosum) y su capacidad antioxidante*. [Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión]. Obtenido de <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/handle/20.500.14067/4372>
- Villacís J. (2017). Etnobotánica y sistemas tradicionales de salud en Ecuador. enfoque en la Guayusa (*Ilex guayusa* Loes). *Etnobiología*, 15(3), 79-88. <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/129/128>
- Wightman, E., Jackson, P., Foster, J., Kan, J., Wiebe, J., Gericke, N., y Kennedy, D. (2020). Acute Effects of a Polyphenol-Rich Leaf Extract of *Mangifera indica* L. (Zynamite) on Cognitive Function in Healthy Adults: A Double –Blind, Placebo- Controlled Crossover Study. *Journal Nutrients*, 12(8), 2194. <https://doi.org/10.3390/nu12082194>

ANEXOS

Fotografía 1: Pesaje y selección de hojas.



Fotografía 2: Limpieza de las hojas



Fotografía 3: Proceso previo a la deshidratación



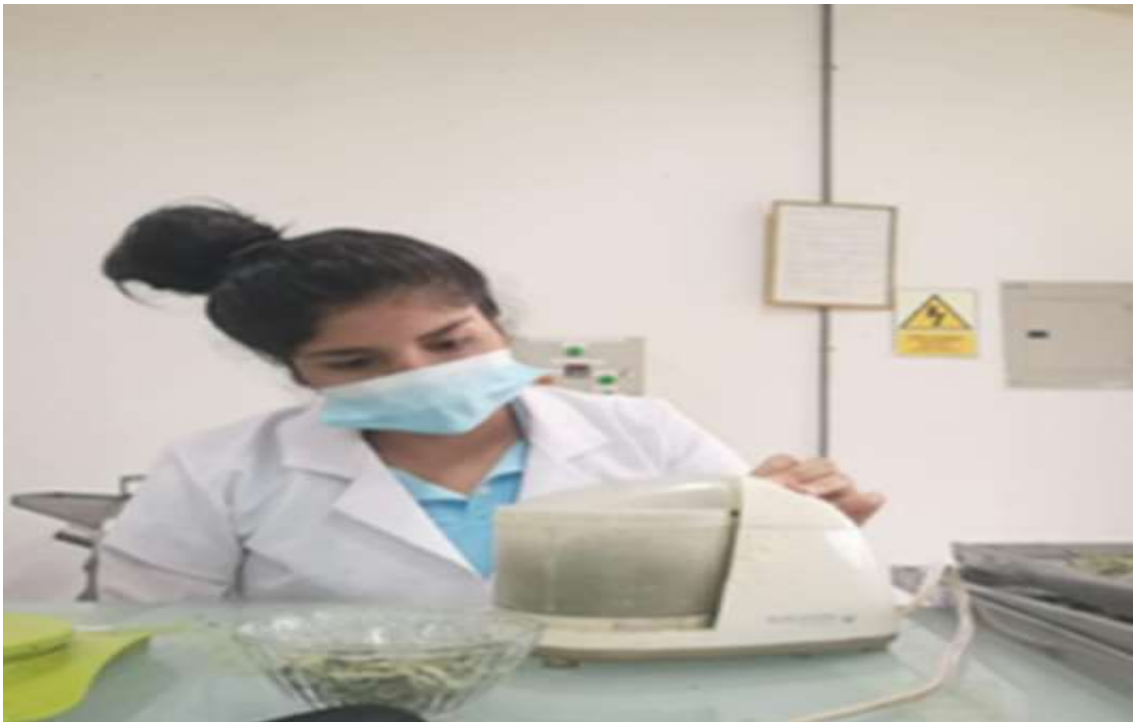
Anexo 4: Deshidratación en una estufa a 40°C por el lapso de 15 horas.



Fotografía 5: Trituración de las hojas



Fotografía 6: Reducción de Partículas para una mayor concentración



Fotografía 7: Pesaje de Panela



Fotografía 8: Pesaje de las hojas trituradas



Fotografía 9: Control de la temperatura



Fotografía 10: Cocción de la Materia Prima



Fotografía 11: Control de Endulzamiento



Fotografía 12: Control de temperatura de enfriamiento



Fotografía 13: Envasado del producto final



Fotografía 14: Producto final



Fotografía 15 Presentación de Producto para la catación



Fotografía 16: Prueba de captación 1



Fotografía 17: Voluntario para catación



Fotografía 18: Prueba de catación 2



Fotografía 19: Valorando las propiedades organolépticas



Fotografía 20: Prueba de catación 3



Fotografía 21: Realizando la valoración



Fotografía 22: Prueba de catación 4



Fotografía 23: Catadores



Fotografía 24: Voluntarios para la prueba de catación.



Anexo 1: Pruebas microbiología de la bebida de hojas de mango



Uleam
UNIVERSIDAD LAICA
ELOY ALFARO DE MANABÍ

Laboratorio CE.SE.C.C.A

INFORME DE LABORATORIO

IE/CESECCA/58592

INFORMACIÓN DEL CLIENTE

CLIENTE: BETA, SILMA ALCIVAR PESCO
 ATENCIÓN: BETA, SILMA ALCIVAR PESCO
 DIRECCIÓN: CHONE
 ESPECIE: N/A
 TIPO DE ENVASE: BOTELLA DE PLÁSTICO
 No. CAJAS: N/A
 UNIDADES/PESO: 2/500ml
 MARCA: N/A
 PAIS DE ORIGEN: N/A
 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA: BEBIDA FUNCIONAL DE HOJA DE MANGO

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO

FECHA MUESTREO: N/A
 FECHA DE INGRESO: 02/06/2023
 FECHA INICIO DE ENSAYO: 02/06/2023
 FECHA FINALIZACIÓN ENSAYO: 09/06/2023
 FECHA EMISIÓN RESULTADOS: 14/06/2023
 FACTURA: 028-003-4372
 ORDEN: 58592
 TIPO DE PRODUCTO: N/A

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADO	INCERTIDUMBRE % (n=3)	MEMORIA		MÉTODO DE ANÁLISIS
					Minima	Maxima	
E. Coli	N/A	MPN/g	<1x10	-	-	-	PERCESECAM04 Método de Referencia AGAC 02 21, 2016, MF 20
Aerobios Totales		MPN/g	1,1x10 ⁷	-	-	-	PERCESECAM16 Método de Referencia FDU-CF (ANEXO) Cap. 5, 2008
Enterobacterias		MPN/g	<1x10	-	-	-	PERCESECAM16 Método de Referencia AGAC 02 21, 2016, MF 20
Salmonela		-	No Detectado/27g	-	-	-	PERCESECAM04 Método de Referencia FDU-CF (ANEXO) Cap. 5, 2008
Shigella spp		-	No Detectado/27g	-	-	-	PERCESECAM04 Método de Referencia SAM CAP 16 FTA
Coarctium spp		MPN/g	<1x10	-	-	-	PERCESECAM13 Método de Referencia SAM CAP 16 FTA
Moho		MPN/g	<1x10	-	-	-	PERCESECAM05 Método de Referencia AGAC 02 21, 2016, MF 20
Lactobac		MPN/g	<1x10	-	-	-	PERCESECAM01 Método de Referencia AGAC 02 21, 2016, MF 20

Observaciones:

- Muestras recibidas Por: El cliente (X) El Laboratorio ()
- Nota 1 Las resultados reportados corresponden únicamente a las unidades analizadas en el laboratorio. Este reporte no debe ser reproducido total o parcialmente, excepto con la autorización escrita del laboratorio.
- Nota 2 El laboratorio CE.SE.C.C.A es responsable por la confiabilidad de la información y los resultados obtenidos en la muestra recibida o tomada por el laboratorio.
- Nota 3 Para la declaración de la conformidad se ajustará el resultado al resultado con el laboratorio de la localización. Esto permite obtener una participación de confianza del 95%.
- Nota 4 Para mayor información y sugerencias consulte a través de la página web www.uleam.edu.ec o al correo electrónico uleam.comercial@uleam.edu.ec.

N/A: No aplica
 ND: No detectable

Ing. Pamela Espinoza Pantoja
 Jefa de Laboratorio
 CESECCA



Ing. Fernando Vitero Pierrago
 Inspector General
 CESECCA

Tel: 593-05-2620953/2678211
 Av. Chirimón-Vía San Mateo
www.uleam.edu.ec

Uleam

Anexo 2: Pruebas de Laboratorio



Uleam
UNIVERSIDAD I.A.C.A.
ELOY ALFARO DE MANABÍ

Laboratorio CE.SE.C.C.A

INFORME DE LABORATORIO

IEICESECCA/58582

INFORMACIÓN DEL CLIENTE

CLIENTE: SRTA. GILMA ALCIVAR PISCO
 ATENCIÓN: SRTA. GILMA ALCIVAR PISCO
 DIRECCIÓN: CHONE
 ESPECIE: N/A
 TIPO DE ENVASE: BOTTLEJA DE PLASTICO
 N.º CAJAS: N/A
 UNIDADES/PESO: 2/500ml
 MARCA: N/A
 PAIS DE DESTINO: N/A
 IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA: BEBIDA FUNCIONAL DE HOJA DE MANGO

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO

FECHA MUESTREO: N/A
 FECHA DE INGRESO: 03/04/2022
 FECHA INICIO DE ENSAYO: 03/04/2022
 FECHA FINALIZACIÓN ENSAYO: 06/04/2022
 FECHA EMISIÓN RESULTADOS: 14/04/2022
 FACTURA: 028-053-4173
 ORDEN: 58582
 TIPO DE PRODUCTO: N/A

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE U (n=1)	NORMA		MÉTODO DE ANÁLISIS
					Mínimo	Máximo	
Materia Seca	N/A	%	0,02	-	-	-	PERCEPCION Método de Referencia AOAC 84.01. 2015 9205.06 NTE 9204-485 1981
Cenizas		%	0,42	-	-	-	PERCEPCION Método de Referencia AOAC 84.01. 2015. 9205.06. 9205.02 NTE 9204-485 1981. AACCI-10.04 1999
Humedad		%	98,03	-	-	-	PERCEPCION Método de Referencia AOAC 84.01. 2015 824.01
Proteína		%	0,41	-	-	-	PERCEPCION Método de Referencia AOAC 84.01. 2015 2001.11 NTE 9204-485 1981
Carbohidratos		%	11,12	-	-	-	Calculo
Energía		Kcal/g	45,30	-	-	-	Calculo

Observaciones:

Muestras recibidas Por: El cliente (X) El Laboratorio ()

Nota 1 Las resultados reportados corresponden únicamente a las muestras analizadas en el laboratorio. Cada reporte no debe ser reproducido total o parcialmente, excepto con la aprobación escrita del laboratorio.

Nota 2 El laboratorio CE.SE.C.C.A es responsable por la confiabilidad de la información y los resultados obtenidos en la muestra recibida o tomada por el laboratorio.

Nota 3 Para la declaración de la conformidad se considerará el resultado con el intervalo de la incertidumbre. Esto permite obtener una probabilidad de confianza del 95%.

Nota 4 Para queries, reclamos o sugerencias realízalos a través de la página web: www.uleam.edu.ec o el correo electrónico: plata.cececca@uleam.edu.ec.

N/A: No aplica
 ND: No detectable

Ing. Patricia Saitana Ponce
 Jefa Técnica de Laboratorio
 CESECCA



Dr. Fernando Veloz Plánciga
 Director General
 CESECCA

Tel: 593-05-2429053 / 2478211
 Av. Circunvalación Vía San Mateo
uleam.cececca@uleam.edu.ec

Uleam

Fecha: Agosto, 2021

Página 1 de 1

Anexo 3: Cuestionario de la catación

INSTRUCCIÓN PARA LA CATACIÓN

Gracias por aceptar participar en esta prueba de catación de una bebida funcional a partir de la hoja de mango (*Mangifera indica L.*) endulzado con panela.

Nombre: _____

Sexo: _____

Proceda a degustar y valorar cada muestra, tome el tiempo que crea necesario. Evalúe: color, olor, sabor y apariencia. Antes de pasar a degustar la siguiente muestra no olvide de tomar un sorbo de agua.

HACER UNA MARCA VERTICAL (NO PUNTO) QUE CORRESPONDA A SU VALORACIÓN.
SABOR.

OLOR.

COLOR.

APARIENCIA.
