



## Informe técnico final

Nombre del proyecto	Ingredientes naturales funcionales de alto valor agregado a partir de subproductos de la industria agroindustrial del apio.
Código del proyecto	PYT-2016-0622
Nº de informe	3
Período informado	desde septiembre del 2017 hasta el Enero del 2018
Fecha de entrega	16 de Febrero 2018

## INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
  
- Sobre la información presentada en el informe:
  - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
  - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
  - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
  - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero y ser totalmente consistente con ella.
  
- Sobre los anexos del informe:
  - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
  - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
  - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información
  
- Sobre la presentación a FIA del informe:
  - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
  - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
  - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.

## CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES .....	4
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO.....	4
3.	RESUMEN DEL PERÍODO ANTERIOR.....	5
4.	RESUMEN DEL PERÍODO INFORMADO .....	6
5.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO.....	7
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	8
7.	RESULTADOS ESPERADOS (RE).....	9
8.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS .....	23
9.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO.....	23
10.	HITOS CRÍTICOS DEL PERÍODO .....	26
11.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	27
12.	DIFUSIÓN.....	28
13.	CONCLUSIONES .....	28
14.	ANEXOS.....	30

## 1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Distribuidora Biofresco Ltda
Nombre(s) Asociado(s):	
Coordinador del Proyecto:	Oscar Celis Toledo
Regiones de ejecución:	Región Metropolitana
Fecha de inicio iniciativa:	Diciembre 2016
Fecha término Iniciativa:	Diciembre 2017

## 2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto			
Aporte total FIA			
Aporte Contraparte	Pecuniario		
	No Pecuniario		
	Total		

Acumulados a la Fecha		Monto (\$)
Aportes FIA del proyecto		
1. Aportes entregados	Primer aporte	
	Segundo aporte	
	Tercer aporte	
	n aportes	
2. Total de aportes FIA entregados (suma N°1)		
3. Total de aportes FIA gastados		
4. Saldo real disponible (N°1 – N°2) de aportes FIA		
Aportes Contraparte del proyecto		
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario	
	No Pecuniario	
2. Total de aportes Contraparte gastados	Pecuniario	
	No Pecuniario	
3. Saldo real disponible (N°1 – N°2) de aportes Contraparte	Pecuniario	
	No Pecuniario	

## 2.1 Saldo real disponible en el proyecto

Indique si el saldo real disponible, señalado en el cuadro anterior, es igual al saldo en el Sistema de Declaración de Gastos en Línea (SDGL):

SI	X
NO	

## 2.2 Diferencia entre el saldo real disponible y lo ingresado en el SDGL

En el caso de que existan diferencias, explique las razones.

No existen diferencias entre el saldo real disponible y lo ingresado en el sistema SDGL plataforma de rendición.

## 3. RESUMEN DEL PERÍODO ANTERIOR

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos en el período anterior a este informe. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Durante el periodo de trabajo comprendido en este informe, se procedió a llevar a cabo las actividades indicadas en el objetivo específico 3 y 4 del plan operativo (Evaluación del mejor proceso de molienda y granulometría apropiado para desarrollo de sopa instantánea, y Formulación de productos alimenticios y su evaluación física y química y biológica). Además, se analizaron los resultados del objetivo específico 2 (Determinar el mejor procesamiento de las materias primas utilizando al menos 2 alternativas de secado. Estudio de Secado y Vida Útil). El secado se llevó a cabo utilizando aire caliente a tres temperaturas (45, 55, 65 °C), se modeló utilizando modelos empíricos. Posteriormente se formuló dos productos, sopa deshidratada de apio y jugo isotónico de apio. A la sopa deshidratada de apio se le calculó el contenido de fibra dietética, sodio y se realizó análisis de humedad, estabilidad de la suspensión, y las constantes reológicas fundamentales función de la viscosidad (índice de consistencia (k), índice de comportamiento reológico (n)). El jugo isotónico de apio se caracterizó capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales. Se analizó la cinética de secado a través de modelamiento matemático. Para el proceso de secado el modelo de Wang and Singh mostró mejor calidad de ajuste sobre los datos experimentales, con un r2 de 0,944 y valores de SSE, RMSE y  $\chi^2$  de 0,0006, 0,0251 y 0,0007 respectivamente. Para la sopa

deshidratada de apio se obtuvo un contenido de fibra dietética de 3,64% de la DDR, el contenido de polifenoles totales (%), la humedad fue de 7,42%, las constantes reológicas  $k$  y  $n$  fueron de 6,21 Pa·sn y 0,18 respectivamente, esto indica que el fluido es un líquido no-Newtoniano de tipo pseudoplástico. El jugo de apio obtuvo una capacidad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH de 6,27%. Además, se determinó la capacidad antioxidante del jugo de apio mediante los ensayos ORAC-FL y ORAC-PGR. Al relacionar ambos métodos (ORAC-FL y ORAC-PGR), estos no se correlacionan, obteniéndose volares de; a 35°C R2: 0,28; 45°C R2: 0,40; 55°C R2: 0,56, esto porque cada método entrega información diferente acerca de la CA. ORAC-FL, entrega información sobre la estequiometría de los antioxidantes presentes en los extractos, en cambio ORAC-PGR da a conocer la reactividad éstos. Adicionalmente se obtuvo su actividad hipoglicemiante de los ingredientes, para lo cual previamente se debió obtener un extracto de las hojas secas de apio, las cuales al determinar la actividad de las enzimas alfa amilasa y alfa glucosidasa no obtuvo diferencias significativas con el control negativo.

#### 4. RESUMEN DEL PERÍODO INFORMADO

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos en el período informado. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

Durante el periodo de trabajo comprendido en este informe, se completaron las actividades contempladas en el plan operativo, para esto se procedió a llevar a cabo las actividades indicadas en el objetivo específico 4 y 5 (Determinar la concentración de apigenina presente en muestra de jugo de apio mediante HPL, Determinar calidad organoléptica y aceptabilidad de sopa instantánea de apio mediante evaluación sensorial, Determinar calidad organoléptica y aceptabilidad del jugo de apio mediante evaluación sensorial y Determinar vida útil de harina de apio y del jugo isotónico pasteurizado.

Se determinó la concentración de apigenina que contiene el jugo isotónico a base de apio mediante la técnica analítica HPLC-DAD, como se observa en la tabla (anexo 37) se estableció que la cantidad de apigenina libre que contiene por 100 ml de jugo isotónico es de 8,05 mg. Se ha reportado que las apigeninas presentan actividad antioxidante, antiinflamatoria y anticancerígena. (Mencherini et al, 2007) (Arango et al, 2013).

Para los test sensoriales de calidad se utilizaron jueces entrenados, los resultados

obtenidos para la valoración de calidad de la sopa instantánea, se evaluó el color, aroma, sabor, textura, y la calidad total obteniendo un promedio de 6,2; 6,6; 6,5; 6,0 por atributo respectivamente y 6,4 para la calidad total, esto significa que el producto fue evaluado como “Bueno” cumpliendo con los estándares de calidad sensorial.

En el caso del jugo isotónico de apio, características como el color, aroma, sabor, textura, se obtuvo un promedio de 6,7; 5,9; 5,8; 6,2 respectivamente por parámetro, esto significa que el producto fue evaluado como “Bueno” pero cercano a “Muy bueno” para los atributos de color y textura y como “Satisfactorio” cercano a “Bueno” para los atributos de aroma y sabor. Con respecto a la calidad total esta fue evaluada como “Bueno” con un promedio de 6,1, esto da cuenta de que el jugo isotónico de apio cumple con los estándares de calidad sensorial a pesar de que en el perfil descriptivo el olor y el sabor fueron evaluados como más intensos.

Por otro lado, se evaluó la vida útil de la harina la cual posee un promedio de 14,42% de humedad, durante 90 días se almacenó en bolsas multicapas de papel Kraft a temperatura ambiente ( $20 \pm 5^\circ \text{C}$ ), con una humedad relativa  $< 65\%$  aumentando su humedad a 14,86%. Cumpliendo con el máximo de humedad permitido por el RSA que es un 15% (RSA, 1998).

Para determinar la vida útil del jugo se realizaron ensayos microbiológicos y sensoriales. Se Observó que el jugo se mantiene con una carga microbiológica aceptable hasta los 98 días y sensorialmente se mantuvo aceptable hasta el día 49, siendo es valor considerado como su vida útil en condiciones de almacenamiento de  $4^\circ\text{C}$ .

## 5. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Generar Ingredientes Naturales de Subproductos del procesamiento agroindustrial del Apio para la industria alimentaria.

## 6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

### 2.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

<b>Nº OE</b>	<b>Descripción del OE</b>	<b>% de avance a la fecha</b>
1	Caracterización de las materias primas.	100%
2	Determinar el mejor procesamiento de las materias primas utilizando al menos 2 alternativas de secado. Estudio de Secado y Vida Útil.	100%
3	Evaluación del mejor proceso de molienda y granulometría apropiado para desarrollo de sopa instantánea y al menos otra aplicación.	100%
4	Formulación de productos alimenticios y su evaluación física y química y biológica.	100%
5	Evaluación sensorial de los productos elaborados y estudio de vida útil.	100%

## 7. RESULTADOS ESPERADOS (RE)

### 3.1 Cuantificación del avance de los RE a la fecha

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
1	2	Características nutricionales con alto contenido en Fibra Soluble y Microbiología adecuada para ingrediente alimentario	Parámetros de calidad de ingredientes	-	Obtenido	Según RSA para Harinas RAM $<3 \times 10^5$ Salmonella $< 0$ $<35$ mg de sodio por porción).	Abril 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Los Objetivos para esta actividad se cumplieron, los cuales indican y dan un punto basal, descriptivo de las materias primas utilizadas en este proyecto, con el fin de la elaboración de un ingrediente funcional.								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Caracterización de materia prima proximal, microbiológica (comparación de materias primas obtenidas). Se muestran los resultados citados en los anexos 1, 2 y 3								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	1	Isotermas de adsorción similares a las de harinas de productos vegetales	Modelamiento de cinética de secado	-	Obtenido	Obtener la descripción del proceso cinético de secado de las materias primas	Mayo 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Esta actividad radica principalmente en la obtención de la cinética de secado, así como también el estudio de secado de este producto, el cual bajo condiciones industriales toma gran relevancia obtener datos como la monocapa o el ajuste de la cinética con modelamientos matemáticos específicos para el secado.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
<p>Se detalla la información obtenida de la previa del estudio de secado, información vital a la hora de escalar procedimientos unitarios de procesamiento, considerando el nivel de humedad inicial registrada por el apio en condiciones normales. Las curvas de secado son modeladas matemáticamente para obtener parámetros fisicoquímicos relevantes. información detallada en anexos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11</p>								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	2	Secado y granulometría adecuada para su estabilidad en solución	Tamaño de partícula (Mesh)	-	Obtenido	Harina con tamaño de partícula 65 mesh	Septiembre 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Esta actividad radica principalmente en la obtención de harina de apio seca, así como también el tamaño de partícula de la materia prima seca molida, el cual toma gran relevancia en la estabilidad del producto.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 12 y 34								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
3	1	Estabilidad estándar de sopa de apio y jugo	Estabilidad en suspensión de harina y solución de jugo	-	Obtenido	No debe presentar grumos ni separaciones de fase en 1 hora u estabilidad estándar según RSA en jugo	Junio 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Obtener parámetros de estabilidad definidos como calidad exigida en sopas instantáneas y jugos estándar. Previo establecimiento de la formulación de la sopa de apio (Anexo 13).								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información sobre la estabilidad de la sopa crema de apio se muestra en el Anexo 14 y la información de estabilidad del jugo de apio se muestra en los anexos 21 y 22.								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
3	2	Viscosidad de sopa de apio según parámetros comerciales	Viscosidad (cp)	Índice de consistencia(k), índice de comportamiento reológico(n)	Obtenido	3000 a 6000 cp (60°C Spindle n°6 velocidad aprox. 50 rpm)	Junio 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinación de la viscosidad de la formulación, la cual debe ser similar al estándar para este tipo de productos (parámetro comercial).								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La determinación de viscosidad de la formulación, y los índices de consistencia y comportamiento reológico se desarrollan más profundamente en los anexos 17, 18 y 19.								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)				% de avance a la fecha	
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)		Fecha alcance meta
3	3	Disminución en el porcentaje de polifenoles totales de muestra seca según cinética de secado a 3 temperaturas	Polifenoles totales (CFT) (eq de ácido gálico mg/L)	$y = 0,0896x - 0,0083$ $R^2 = 0,9967$ Curva de calibración ácido gálico	Obtenido	Disminución de un 30% máximo de los polifenoles en relación a su parámetro de muestra.	Julio 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Determinación del contenido de polifenoles totales de las muestras, posterior al secado con 3 temperaturas. Se observa una baja disminución de polifenoles totales que dan cuenta de una leve disminución de su capacidad antioxidante, producto del proceso de secado.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
<p>La determinación de polifenoles totales en las formulaciones se determina mediante la realización de una curva de calibración de ácido gálico, la cual entrega la relación proporcional entre la concentración y la disminución de absorbancia, la cual se puede extrapolar para determinar la disminución de los polifenoles en la muestra de formulación (Anexo 24 y 25)</p>								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
4	1	Capacidad antioxidante de infusión a partir de hojas de apio y en preparación de jugo de apio.	Eq. De ácidos gálico (mg/L), DPPH, ORAC <sub>PGR</sub> y ORAC <sub>FL</sub>	$\% \text{Inhibición} = \left( \frac{A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestras}}}{A_{\text{blanco}}} \right) \times 100$	Obtenido	Mejorar o igualar valores de capacidad antioxidante para el producto evaluado. (Infusión de té y preparación de jugo)	Julio 2017	100 %
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Determinar la capacidad antioxidante de la infusión de hojas de apio, mediante la obtención del porcentaje de inhibición del radical DPPH y mediante los métodos ORAC<sub>PGR</sub> y ORAC<sub>FL</sub>. Se expone como principal indicador de comparación la capacidad antioxidante del té negro y verde (1013 mg/L y 570 mg/L según corresponde en sus variedades Darjeeling y Ceylán).</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
<p>La capacidad antioxidante de la infusión se determinó utilizando tres métodos DPPH, ORAC-FL y ORAC-PGR. Los tres métodos fueron analizados y comparados. La información se detalla en los anexos 26, 27, 28, 29, 30, 31 y 32</p>								

N o O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)				% de avance a la fecha	
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)		Fecha alcance meta
4	2	Fibra dietética total mayor al 20% de las dosis diarias de referencia por porción según RSA.	mg	$\% = \frac{\text{harina obtenida}}{100 \text{ gr apio fresco}}$	Obtenido	Dosis mayor al 20% de las dosis de referencia por la RSA	Julio 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinar el contenido de fibra dietética presente en 100 gramos de muestra de apio fresco, mediante la utilización de la regla de tres. Se espera obtener una cantidad adecuada de fibra dietaria para que represente la posibilidad de un mejorador de etiqueta.								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 32, 33, 34,								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
4	4	Humedad total correspondiente a lo indicado en la RSA	% de humedad en relación a la diferencia de pesos (muestra seca)	$X_{hh} = \frac{\text{masa agua}}{\text{masa total}}$	Obtenido	Humedad 15% (RSA) >14,42% harina de apio 8%(RSA) >7,42±0,00 1% sopa crema de apio	Julio 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Determinar la humedad total de las formulaciones. La humedad para las harinas está normada por la RSA y esta debe ser menor al 15% y para la sopa de apio menor al 8%.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
<p>Se determinó la humedad total, tanto de la harina de apio como de la formulación de la sopa de apio. (Anexo 34 y 35).</p>								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
4	5	Concentración de apigenina en formulación de jugo.	Concentración apigenina	mg/100 ml jugo	Obtenido	8,05 mg/100 ml jugo	Enero 2018	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinar la concentración de apigenina presente en muestra de jugo de apio mediante HPLC.								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 37								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
4	6	Actividad enzimática de $\alpha$ -amilasa y $\alpha$ -glucosidasa	% de actividad enzimáticas	Disminución de la actividad >50%.	Obtenido	No existen diferencias significativas con el control negativo.	Ago sto 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Determinar la humedad total de las formulaciones. La humedad para las harinas está normada por la RSA y esta debe ser menor al 15% y para la sopa de apio menor al 8%.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
<p>Se determinó la humedad total, tanto de la harina de apio como de la formulación de la sopa de apio. (Anexo 34 y 35).</p>								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcanzada meta	
5	1	Presentar una alta aceptación general y panel entrenado en evaluación sensorial.	Escala arbitraria para aceptabilidad.	-	Obtenido	Aceptabilidad general de la sopa de apio es de 6,35 en la escala arbitraria de evaluación sensorial.	Noviembre 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinar calidad organoléptica y aceptabilidad de sopa instantánea de apio mediante evaluación sensorial								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 38								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
5	2	Presentar una alta aceptación general y panel entrenado en evaluación sensorial.	Escala arbitraria para aceptabilidad.	-	Obtenido	Aceptabilidad general del jugo de apio es de 6,14 en la escala arbitraria de evaluación sensorial.	Noviembre 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinar calidad organoléptica y aceptabilidad del jugo de apio mediante evaluación sensorial								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 39								

Nº O E	Nº R E	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
5	3	Vida útil o de anaquel de los productos evaluados.	Días	-	Obtenido	90 días para harina de apio y 49 días para jugo isotónico.	Diciembre 2017	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Determinar vida útil de harina de apio y del jugo isotónico pasteurizado.								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
La información se entrega en el Anexo 34								

## 8. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS

Especificar los cambios y/o problemas en el desarrollo del proyecto durante el período informado.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
Cambio en la formulación de la sopa de apio	Aumentar el contenido de fibra dietética y la capacidad antioxidante de la formulación.	Aumentar la cantidad de harina de apio e incorporar a la formulación glutamato monosódico para intensificar los sabores. Finalmente se mejoró la apariencia logrando un color característico a apio incorporando a la formulación colorante verde.

## 9. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

### 9.1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas en el período del informe

#### Objetivo específico 2

**Determinar el mejor procesamiento de las materias primas utilizando al menos 2 alternativas de secado. Estudio de Secado y Vida Útil.**

Se analizaron los resultados obtenidos de los tratamientos de secado, se observa que a medida que las temperaturas son más elevadas, los tiempos de secado decrecen, alcanzando a los 300 minutos a 65°C, 420 minutos a 55°C y a 540°C a 45°C la humedad de equilibrio. La curva de secado presentó una tendencia exponencial. El secado se llevó a cabo utilizando aire caliente a tres temperaturas (45, 55, 65 °C), se modeló utilizando modelos empíricos, se calculó la difusividad efectiva del agua y la energía de activación. Se calculó el coeficiente difusional del agua (Dwe) para las tres temperaturas, la cual corresponde a la pendiente de la recta al graficar el Ln (MR) versus tiempo. Los valores obtenidos se encuentran dentro de lo establecido para la mayoría de alimentos, estos son valores que van desde el rango de 10-13 a 10-6 m<sup>2</sup>/s, siendo estos 6,04±0,77, 9,69±0,61, 12,21±1,74 (\*10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>) para las tres temperaturas 45°, 55° y 65°C respectivamente. Se graficó el Ln(Dwe) versus 1/T, se muestra en la figura 12, con los valores del coeficiente difusional para cada temperatura, del ajuste lineal se obtuvo con un r<sup>2</sup> de 0,9686 la energía de activación de 27,8 (kJ/mol-1) y el factor de Arrhenius de 2,3×10<sup>-5</sup> m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>. Estos valores se encuentran dentro del rango obtenidos para distintos alimentos por (Erbay,2009), esto es desde 12,38 a 82,93 kJ/mol. Para el proceso de secado el modelo de Wang and Singh mostró mejor calidad de ajuste sobre los datos experimentales, la difusividad presentó dependencia con la temperatura con valores de 6,04, 9,69 y 12,21 x10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> a 45, 55 y 65°C respectivamente y el valor de la energía de activación fue de 27,8 kJ/mol-1.

### **Objetivo específico 3**

#### **Evaluación del mejor proceso de molienda y granulometría apropiado para desarrollo de sopa instantánea y al menos otra aplicación.**

Se extrajo el jugo de los tallos del apio con una extractora marca Somela modelo JE 3000, la cual trabaja mediante una hoja de acero que gira y desmenuza las hojas y pequeños tallos de apio en pequeñas partículas, usando la fuerza centrífuga, y un colador de acero que separa la pulpa (torta de apio) del jugo. Se secó la torta de apio en estufa con aire convectivo a una temperatura de 65°C durante 180 minutos, tiempo suficiente calculado mediante el estudio de secado para llegar a humedad inferior a 15% (RSA, 1998). Posteriormente se molió y se tamizó, obteniendo una harina de tamaño de partícula 65 mesh. Se formularon dos productos, sopa deshidratada de apio y jugo isotónico de apio. A la sopa deshidratada de apio se le calculó el contenido de fibra dietética, sodio y se realizó análisis de humedad, estabilidad de la suspensión, y las constantes reológicas fundamentales función de la viscosidad (índice de consistencia (k), índice de comportamiento reológico (n)). El jugo isotónico de apio se caracterizó mediante de osmolalidad, pH, acidez total, sólidos solubles, capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales. Para la sopa deshidratada de apio se obtuvo un contenido de fibra dietética de 3,64% de la DDR, el contenido de sodio fue de 298,8 mg/100 ml de producto reconstituido, la humedad fue de 7,42%, las constantes reológicas k y n fueron de 6,21 Pa·sn y 0,18 respectivamente, esto indica que el fluido es un líquido no-Newtoniano de tipo pseudoplástico. Se midió el contenido de fenoles totales, mediante el ensayo Folin Ciocalteu, a una muestra de jugo de apio disuelta en agua en la cantidad utilizada en el jugo isotónico de apio, esta presentó  $6,74 \pm 0,1$  mg de ácido gálico equivalente por 100 ml de jugo isotónico de apio. Existe una correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos en este estudio dan cuenta de que el jugo isotónico de apio presenta una capacidad antioxidante medida el cual puede ser atribuido en parte a los ácidos fenólicos y flavonoides presentes en el jugo de apio extraído.

### **Objetivo específico 4**

#### **Formulación de productos alimenticios y su evaluación física y química y biológica.**

Con las hojas de apio secadas a tres temperaturas (35, 45 y 55°C), se realizaron cuatro infusiones por cada temperatura de secado, a diferentes tiempos de extracción: 3, 5, 7 y 10 minutos. A las 12 infusiones obtenidas se les midió la capacidad antioxidante (CA) mediante el ensayo ORAC-FL. A mayor temperatura de exposición de las hojas, aumenta la degradación de los componentes en una muestra vegetal, incluyendo los antioxidantes. La calidad de los antioxidantes de las hojas secadas a mayor temperatura es diferente, se observa una disminución de la CA a medida que aumenta el tiempo de extracción. Otro método descrito es ORAC modificado, donde la molécula sonda es cambiada y se utiliza pirogalol rojo. Se midió la CA de las infusiones obtenidas con hojas secadas a diferentes temperaturas (35, 45 y 55°C) y a diferentes tiempos de extracción (3, 5, 7 y 10 min.). Al relacionar ambos métodos (ORAC-FL y ORAC-PGR), estos no se correlacionan, obteniéndose volares de; a 35°C R2: 0,28; 45°C R2: 0,40; 55°C R2: 0,56, esto porque cada método entrega información diferente acerca de la CA. ORAC-FL, entrega información sobre la estequiometría de los antioxidantes presentes en los extractos, en cambio ORAC-PGR da a conocer la reactividad éstos. Con estas dos metodologías, se puede mencionar que la temperatura de secado seleccionada será 35°C, ya que se puede decir que hay mayor presencia de antioxidantes en las infusiones, siendo el máximo de extracción entre 7 y 10 minutos, para ORAC-FL. Pero los antioxidantes más reactivos están presentes en las infusiones realizadas a los 3, 5 y 7 minutos de extracción. Puesto que es necesario tener más evidencia del

comportamiento de la CA de las infusiones, se utilizó también la metodología DPPH (Anexos 24, 25, 26, 27, 28 y 29). Para este análisis, los resultados de CA están medidos en % de inhibición del radical DPPH por parte de los antioxidantes presentes en las infusiones. El mayor % de inhibición se obtuvo en las infusiones realizadas con hoja secada a 45°C y un tiempo de extracción de 7 minutos ( $21 \pm 1\%$  inhibición).

La fibra dietética teórica proveniente del apio es de 0,91 gramos por porción de 14 gramos. Para declarar a un alimento como “buena fuente” de fibra dietética, la condición requerida es que la porción del consumo habitual contenga entre un 10% y 19,9% de la dosis diaria recomendada (DDR) (RSA, 1998), la crema de apio aporta un 3,64%. Por lo tanto, no puede ser declarada como buena fuente de fibra total. De acuerdo a lo expuesto anteriormente, el contenido de harina de apio adicionado en la sopa crema de apio no es el suficiente para que este alimento obtenga el descriptor de “Buena fuente de fibra”, según la reglamentación chilena, sin embargo, su contenido es mayor que la de productos similares del mercado. La humedad de la crema de apio medida en triplicado fue de  $7,42 \pm 0,01\%$ , esta es adecuada ya que no supera el máximo establecido por RSA de un 8%.

El jugo de apio obtuvo una osmolalidad de 289 mOsm/kg, pH de 3,63, acidez titulable de 0,25 g de ácido cítrico/100 g muestra, 6,88 °Brix, capacidad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH de 6,27%.

#### Concentración de apigenina

Se ha reportado que el apio posee apigenina, Existe evidencia de que este flavonoide tiene propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas. Se determinó la concentración de apigenina que contiene el jugo isotónico a base de apio mediante la técnica analítica HPLC-DAD, como se observa en la tabla (anexo 37) se estableció que la cantidad de apigenina libre que contiene por 100 ml de jugo isotónico es de 8,05 mg.

### **Objetivo específico 5**

#### **Evaluación sensorial de los productos elaborados y estudio de vida útil.**

En relación a este objetivo, es la viabilidad técnica del punto de vista organoléptico de los productos que se han desarrollado, para ello se evaluaron distintos parámetros mediante una escala lineal no estructurada. Además, se evaluó aroma, color, sabor y textura, además de la calidad total mediante escala numérica de 7 puntos con 9 jueces entrenados en gustos básicos a los que se les realizó previamente una inducción. Se obtuvo para ambos productos un promedio de aceptabilidad mayor al esperado. Adicionalmente, se realizó un test sensorial con personal de FIA obteniendo una alta aceptación.

Por otro lado, se evaluó la vida útil de la harina la cual posee un promedio de 14,42% de humedad, durante 90 días se almacenó en bolsas multicapas de papel Kraft a temperatura ambiente ( $20 \pm 5^\circ \text{C}$ ), con una humedad relativa  $< 65\%$  aumentando su humedad a 14,86%. Cumpliendo con el máximo permitido por el RSA que es un 15% (RSA, 1998).

La vida útil del jugo está determinada por diversos factores, entre ellos se encuentran la proliferación de microorganismos, cambios en las propiedades organolépticas como cambios de sabor y color, así como también la degradación de compuestos antioxidantes. Para determinar la vida útil del jugo se realizaron ensayos microbiológicos y sensoriales. Se Observó que el jugo se mantiene con una carga microbiológica aceptable hasta los 98 días y sensorialmente se mantuvo aceptable hasta el día 49, siendo es valor considerado como su vida útil en condiciones de almacenamiento de 4°C.

## 9.2 Actividades programadas y no realizadas en el período del informe

Todas las actividades planificadas fueron desarrolladas según la carta gantt y plan operativo del proyecto.

## 9.3 Actividades programadas para otros períodos y realizadas en el período del informe

Todas las actividades realizadas este periodo han fueron programadas para este periodo.

## 9.4 Actividades no programadas y realizadas en el período del informe

No existen otro tipo de actividades desarrolladas no programadas.

## 10. HITOS CRÍTICOS DEL PERIODO

Hitos críticos	Fecha programada de cumplimiento	Cumplimiento (SI / NO)	Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)
Obtención de estudios de secado y vida útil de productos	Septiembre 2017	SI	Anexo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11
Obtención de ingrediente final con granulometría adecuada	Septiembre 2017	SI	Anexos 12 y 34
Obtención de producto final con 3 temperaturas de secado para materia prima Té de apio	Octubre 2017	SI	Anexo 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23.

Evaluación Organoléptica de sopa instantánea, té de apio y jugo de apio.	Noviembre 2017	SI	Anexo 21, 22, 38 y 39.
Evaluación de actividad Biológica de los productos desarrollados	Diciembre 2017	SI	Anexo 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 36 y 37.

**10.1. En caso de hitos críticos no cumplidos en el período, explique las razones y entregue una propuesta de ajuste y solución en el corto plazo.**

Todas las actividades planificadas fueron desarrolladas y sus hitos críticos fueron cumplidos.

**11. CAMBIOS EN EL ENTORNO**

Indique si han existido cambios en el entorno que afecten el proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros

No ha habido cambios del entorno en este periodo de tiempo.

## 12. DIFUSIÓN

### 12.1 Describa las actividades de difusión programadas durante el período:

**No existen actividades de difusión durante el periodo.**

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada

### 12.2 Describa las actividades de difusión realizadas durante el período:

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes*	Documentación Generada*

\*Debe adjuntar en anexos material de difusión generado y listas de participantes

## 13. CONCLUSIONES

### 13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos hasta la fecha permitirán alcanzar el objetivo general del proyecto?

Los resultados obtenidos validan nuestra hipótesis en este trabajo, el cual radica en generar alimentos/ingredientes viables funcionales para matrices alimentarias a partir de residuos agroindustriales de apio.

### 13.2 ¿Considera que el objetivo general del proyecto se cumplirá en los plazos establecidos en el plan operativo?

El objetivo General del proyecto se cumplió dentro de los plazos definidos, generando el conocimiento de las operaciones unitarias que están definidas en esta iniciativa.

### **13.3 ¿Ha tenido dificultades o inconvenientes en el desarrollo del proyecto?**

Para evaluar las capacidades biológicas, como lo es la capacidad hipoglicemiante de la harina de apio. Frente a esto, se elaboró un extracto de este, para emular las condiciones necesarias para la actividad de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa. La medición de la actividad enzimática debe ser bajo una solución. A pesar de utilizar una mezcla de solventes adecuada, no se obtuvo actividad hipoglicemiante, actividad que, dicho sea de paso, no había sido registrada en el estado del arte, pero se ha registrado actividad de estas enzimas con polifenoles de hortalizas. Lamentablemente los resultados no fueron favorables, lo que pensamos fue por efectos del secado de las muestras.

### **13.4 ¿Cómo ha sido el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?**

El equipo técnico ha efectuado el trabajo de buena manera, lo que se ha sido resuelto en realizar las actividades según la carta de programaciones del plan operativo.

### **13.5 En relación a lo trabajado en el período informado, ¿tiene alguna recomendación para el desarrollo futuro del proyecto?**

El proyecto tiene como finalidad lograr a nivel prototipo semi industrial ingredientes funcionales a partir de subproductos de apio, los cuales son nuevos a nivel local y otros a nivel mundial. El desafío en este aspecto es lograr una comercialización de estos, para romper las barreras comerciales de alimentos con actividad funcional comprobada en esta iniciativa. Para ello, formar redes para encontrar partners, más que clientes, en este desarrollo técnico comercial es fundamental para un caso de éxito de estos productos. En función de esto, y no directamente relacionado con las actividades de este proyecto es que hemos tenido reuniones comerciales con importantes marcas del medio como lo son DAILY alimentos, que poseen una gama de productos que puede ser de interés, así como jugos naturales y funcionales PRIMAL para desarrollo de shot naturales en base a aestos ingredientes. Actualmente se desarrollan actividades de I+D para su inserción en el mercado tanto local, como internacional.

### **13.6 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).**

No hay nada relevante que informar.

## 14. ANEXOS

Realice y enumere una lista de documentos adjuntados como anexos.

**Anexo 1:** Caracterización de la materia prima (hojas de apio) mediante análisis proximal.

Análisis Solicitados Hoja de apio	Resultados
Humedad	88,7 g / 100g
Proteína total	2,1 g / 100g
Materia Grasa	<0,1 g / 100g
Cenizas	3,4 g / 100 g
Fibra cruda	1 g/ 100g
Extracto no nitrogenado	4,8 g / 100g
Calorías	28 kcal / 100g

*Tabla 1: Análisis proximal hojas de apio*

**Anexo 2:** Caracterización microbiológica de hojas de apio BIOFRESCO

Análisis muestra de hoja de apio BIOFRESCO	Resultados	Valor M Frutas y verduras frescas "RSA"	Valor M vegetales frescos elaborados "RSA"	Cumple
RAM	190.000 UFC/g	----	50.000.000 UFC/g	si
Enterobacterias	21.000 UFC/g	----	500.000 UFC/g	si
<i>Escherichia Coli</i>	2.000 UFC/g	1.000 UFC/g	100 UFC/g	no
<i>Staphylococcus Aureus</i>	<10 UFC/g	----	100 UFC/g	si
<i>Salmonella (VIDAS)</i>	negativo	negativo	negativo	si
<i>Listeria Monocytogenes</i>	negativo	----	----	no aplica

*Tabla 2: Caracterización microbiológica de hojas de apio BIOFRESCO, donde: UFC/g: Unidad formadora de colonia por gramo. \*\*<10: No hubo desarrollo en la dilución 1:10. (\*): Análisis en 25 gramos de muestra.*

El análisis de *Escherichia coli* a pesar de que esta sobre los parámetros máximos permitidos por el reglamento sanitario de los alimentos, no es tan alarmante, debido a que el objetivo de este análisis fue el de comparar la materia prima y no un alimento listo para el consumo con diferentes distribuidores y vendedores de esta noble hortaliza.

Cuando esta materia prima se utilice en la elaboración de los productos esta estará sometida a un sistema de higienización más profunda, además de pasará por diferentes procesos térmicos los cuales ayudaran a disminuir cualquier riesgo microbiológico existentes.

La tabla que se mostrará a continuación indica los límites permitidos según el Reglamento Sanitario de Alimentos.

**14. FRUTAS Y VERDURAS (Incluyendo papas, leguminosas, champiñones, frutos de cáscara y almendras)<sup>169</sup>**

**14.1.- FRUTAS Y VERDURAS FRESCAS**

Parámetro	Plan de muestreo		n	Limite por gramo		M
	Categoría	Clases		c	m	
E. coli	5	3	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	—

**14.2.- FRUTAS Y OTROS VEGETALES COMESTIBLES PRE-ELABORADOS, LISTOS PARA EL CONSUMO<sup>170</sup>**

Parámetro	Plan de muestreo			c	Limite por gramo	
	Categoría	Clases	n		m	M
RAM	2	3	5	1	5x10 <sup>6</sup>	5x10 <sup>7</sup>
Enterobacteriaceas	6	3	5	1	5x10 <sup>4</sup>	5x10 <sup>5</sup>
E.coli	6	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
S.aureus	6	3	5	1	10	10 <sup>2</sup>
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	—

Tabla 3. Parámetros microbiológicos según reglamento sanitario de los alimentos Chile.

**Anexo 3:** Comparación microbiológica de hojas de apio en diferentes puntos de ventas.

Análisis muestra	Biofresco	Proverde	Genial	Doile	Jumbo	Lo Valledor	vega central	tirso de molina	Feria cercana	Valor M vegetales frescos
RAM	190.000	280.000	120.000	100000	350000	470.000	500.000	460.000	700.000	50.000.000 UFC/g
Enteroba	21.000	49.000	55.000	18.000	39.000	70.000	75.000	70.000	100.000	500.000 UFC/g
Escheric	2.000	90 UFC/	80	60	100	2.000	1000	1500	3500 UF	100 UFC/g
Staphylo	<10	<10	<10	<10	<10	50 UF	60	50 UF	90	100 UFC/g
Salmonel	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Listeria	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	----

Tabla 4. Comparación de Microbiología en muestras de apio obtenidas comercialmente.

\*\*\* Números azules está dentro de los límites permitidos.

\*\*\*\* Números rojos estan fuera de los límites permitidos.

#### Anexo 4: Metodología Determinación de humedad Inicial

El contenido de la humedad inicial se llevó a cabo según el método 930.15 de la A.O.A.C. (A.O.A.C, 1990). Se registró en una balanza analítica marca ADAM modelo PW 124 el peso inicial de la materia prima (torta de hoja de apio prensada) previamente homogeneizado, luego este fue llevado a una estufa (Heroeus modelo TV 60/60 2760-02) a 105°C en cápsulas metálicas. Al cabo de 6 horas se retiraron de la estufa y se llevaron a un desecador por 45 min. Tras su enfriamiento se registró el peso final mediante la misma balanza analítica.

#### Anexo 5: Metodología de determinación de isotermas de desorción

Las isotermas de desorción a 25°, 30° y 40°C del tallo del apio, fueron determinado de acuerdo al método recomendado por el Proyecto Europeo COST 90 (Wolf,1985). Las muestras se realizaron en duplicado para cada temperatura. Se pesó una masa conocida fresca previamente homogeneizada, se situaron en canastillos plásticos y luego se colocaron en frascos de vidrio herméticos junto a las soluciones salinas saturadas. A los frascos que contenían disoluciones con humedad relativa superior a 75% se le adiciono timol para evitar deterioro por hongos (Gálvez, 2007). Las muestras se mantuvieron en la estufa (Heroeus modelo KB 600) registrando su peso cada 10 días hasta llegar a peso constante (condición de equilibrio).

Sales	Porcentaje de humedad relativa (%HR)		
	25°C	30°C	40°C
LiCl	11,42	11,3	10,54
KCO3	44,32	43,2	43,3
MgNO3	53,58	51,4	50,6
NaBr	57,32	56,5	53,39
NaCl	76,17	75,1	73,42
KCl	85,46	83,6	80,56
KNO3	92,28	92,3	88,72
K2SO4	97,56	97	96,7

Tabla 5: Sales saturadas utilizadas y su correspondiente humedad relativa a las tres temperaturas trabajadas en las isotermas de desorción de hojas de apio.

#### Anexo 6: Ecuación de modelo matemáticos GAB para curvas de desorción

A continuación, se detallan las ecuaciones empleadas para el cálculo matemáticos de curvas de desorción:

##### Modelo de GAB (ecuación 1)

$$X_{WE} = \frac{X_m \times C \times k \times a_w}{(1 - K \times a_w) \times (1 + (C - 1) \times k \times a_w)}$$

Donde:

- $X_{we}$  = Humedad del equilibrio (g agua/g m.s)
- $X_m$  = Humedad de la monocapa (g agua/g m.s)
- $C, k$  = Parámetros de la ecuación de GAB
- $A_w$  = Actividad del agua (adimensional)

#### **Anexo 7:** Ecuación de ajustes estadísticos de modelos matemáticos

A continuación, se detallan las ecuaciones empleadas para evaluar el ajuste estadístico de los modelos matemáticos desarrollados tanto en curvas de desorción como secado:

Coeficiente de correlación lineal ( $R^2$ ) (**ecuación 2**)

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pred}) \cdot \sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp})}{\sqrt{[\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{pred})^2] \cdot [\sum_{i=1}^N (MR_i - MR_{exp})^2]}}$$

Suma de los errores cuadrados (SSE) (**ecuación 3**)

$$SEE = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{exp} - MR_{pred})^2$$

Suma del error cuadrado medio (RMSE) (**ecuación 4**)

$$RMSE = \left[ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{pred} - MR_{exp})^2 \right]^{1/2}$$

Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) (**ecuación 5**)

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(MR_{exp} - MR_{pred})^2}{N - z}$$

Donde:

- $MR_i$  = Relación de humedad (adimensional)
- $MR_{exp}$  = Relación de humedad experimental (adimensional)
- $MR_{pred}$  = Relación de humedad predicha (adimensional)

- N = cantidad de datos
- Z = número de constantes

**Anexo 8:** Isotermas de desorción del tallo del apio

A continuación, se presenta la ecuación de desorción del tallo de apio, parámetros y ajustes estadísticos:

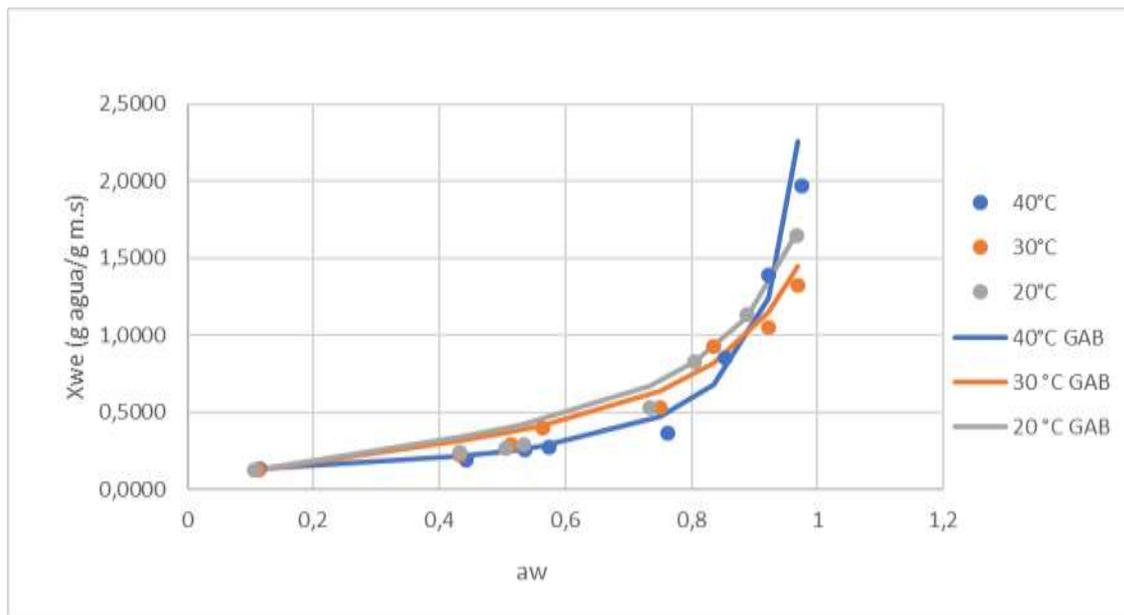


Figura 1: Isotermas de sorción del tallo del apio modeladas con la ecuación GAB a 20°C, 30°C y 40°C

Parámetros de GAB	20°C	30°C	40°C
Xm	0,254	0,238	0,127
C	7,891	8,705	108,680
K	0,879	0,865	0,973
SSE	0,008	0,008	0,018
RMSE	0,088	0,090	0,134
$\chi^2$	0,002	0,002	0,004
R2	0,998	0,994	0,994

Tabla 6: Parámetros y análisis estadístico para las 3 temperaturas de trabajo de isotermas de sorción del tallo del apio

En la **figura 1** se muestran las isotermas de desorción del tallo del apio y el ajuste realizado a la ecuación de GAB para cada isoterma de desorción. El modelo de GAB tiene la ventaja de suministrar valiosa información sobre el contenido de humedad en la

monocapa molecular ( $X_m$ ), este indica la cantidad de agua que está fuertemente adsorbida en los sitios activos del sólido del alimento y se considera como el valor en el cual el alimento es más estable durante el almacenamiento (Ayala-Aponte, 2011). En la tabla 1 se muestra los valores de los parámetros obtenidos de la ecuación GAB donde el valor de  $X_m$  muestra una tendencia a disminuir a medida que aumenta la temperatura. El modelo de GAB contiene otros dos parámetros C y K, relacionados con el calor de sorción en las moléculas de la monocapa y de las multicapas respectivamente. Se observa un buen coeficiente de correlación lineal (**tabla 6**), mayor a 0,98 y valores de SSE, RMSE y  $\chi^2$  que tienden a cero, lo que da cuenta que la ecuación de GAB es un buen modelo para predecir la humedad del equilibrio del tallo del apio a un amplio rango de humedad relativa.

**Anexo 9:** Ecuaciones usadas en el cálculo de humedad y modelación matemática para la curva de secado

Humedad en base seca (**ecuación 6**)

$$X_{bs} = \frac{\textit{masa agua}}{\textit{masa s.s}}$$

Donde:  
s.s. es sólido seco

Húmeda en base húmeda (**ecuación 7**)

$$X_{bh} = \frac{\textit{masa agua}}{\textit{masa total}}$$

Modelo de Newton (**ecuación 8**)

$$MR = \exp(-kt)$$

Henderson and Pabis (**ecuación 9**)

$$MR = a \exp(-kt)$$

Henderson and Pabis modificado (**ecuación 10**)

$$MR = a \exp(-kt) + b \exp(-gt) + c \exp(-ht)$$

Logarítmico (**ecuación 11**)

$$MR = a \exp(-kt) + c$$

Aproximación por difusión (**ecuación 12**)

$$MR = a \exp(-kt) + (1 - a) \exp(-kbt)$$

Page modificado (**ecuación 13**)

$$MR = a \exp[-(kt)^n]$$

Page modificado dos términos exponenciales (**ecuación 14**)

$$MR = a \exp(-kt) + (1 - a) \exp(-kat)$$

Verma et. al (**ecuación 15**)

$$MR = a \exp(-kt) + (1 - a) \exp(-gt)$$

Wang and Singh (**ecuación 16**)

$$MR = 1 + at + bt^2$$

Donde

- k, a, b, c g, h, n = parámetros de los modelos.
- MR = Relación de humedad (adimensional)
- t = tiempo de secado (minutos)

**Anexo 10:** Cálculo de difusión efectiva de la humedad y energía de activación

A continuación, se señalan las ecuaciones ocupadas para los cálculos de difusión efectiva de la humedad y energía de activación

Razón de humedad (**Ecuación 17**)

$$MR = \frac{X_t - X_e}{X_0 - X_e}$$

Difusividad efectiva (**Ecuación 18**)

$$MR = \frac{8}{\pi^2} e^{\left(\frac{-\pi^2 D_{eff}}{4L^2}\right)}$$

Factor de Arrhenius (**Ecuación 19**)

$$D_{eff} = D_0 \times e^{\left[\frac{-E_a}{RT}\right]}$$

Donde:

- $X_t$  = Humedad de la muestra (g agua/g m.s.)
- $X_0$  = Humedad inicial (g agua/g m.s.)
- $X_e$  = Humedad del equilibrio (g agua/g m.s.)
- $D_{ef}$  = Coeficiente difusional efectivo del agua ( $m^2s^{-1}$ )

- $D_0$  = Factor de Arrhenius
- $E_a$  = Energía de activación ( $\text{kJmol}^{-1}$ )
- $T$  = Temperatura de secado (K)
- $R$  = Constante universal de los gases ( $8,314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ).

La ecuación de difusión de Fick para partículas de geometría plana fue utilizada para calcular la difusividad efectiva. Se calculó el coeficiente difusional del agua ( $D_{we}$ ) para las tres temperaturas, la cual corresponde a la pendiente de la recta al graficar el  $\ln(MR)$  versus tiempo. La linealización se presenta en la **figura 2**. En la **tabla 7** se presenta los valores promedios del coeficiente difusional del agua ( $D_{we}$ ) para cada temperatura de trabajo. Se observa la clara dependencia de este parámetro con la temperatura, esto es, que a medida que aumenta la temperatura de trabajo aumenta la difusividad ( $D_{we}$ ). Los valores obtenidos se encuentran dentro de lo establecido para la mayoría de alimentos, que van desde  $10^{-13}$  a  $10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ , siendo acumulados la mayoría de ellos en la región de  $10^{-11}$  a  $10^{-8} \text{ m}^2/\text{s}$ . (Erbay,2009). Se graficó el  $\ln(D_{we})$  versus  $1/T$ , se muestra en la figura 3, con los valores del coeficiente difusional para cada temperatura, del ajuste lineal se obtuvo con un  $r^2$  de 0,9686 la energía de activación de  $27,8 \text{ (kJ/mol}^{-1}\text{)}$  y el factor de Arrhenius de  $2,3 \times 10^{-5} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ . Estos valores se encuentran dentro del rango obtenidos para distintos alimentos por (Erbay,2009), esto es desde  $12,38$  a  $82,93 \text{ kJ/mol}$ . La acumulación de la mayoría de valores se da en el rango  $18$  a  $49,5 \text{ kJ/mol}$ . (Erbay,2009).

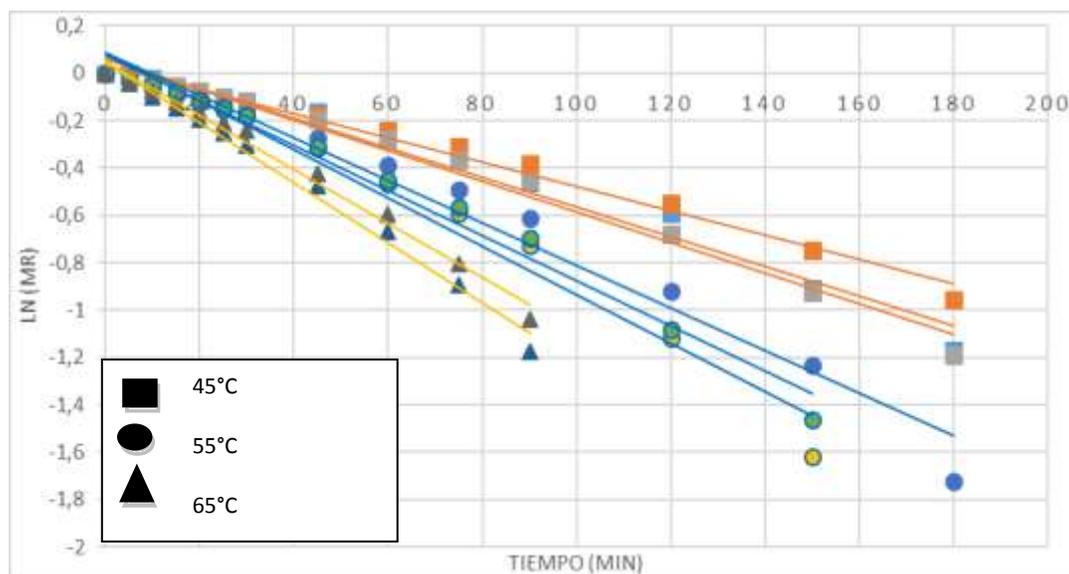


Figura 2: Logaritmo de MR (adimensional) versus el tiempo de secado

T (°C)	Difusividad (*10 <sup>-8</sup> m <sup>2</sup> *s <sup>-1</sup> )
45	6,04 ± 0,77
55	9,69 ± 0,61
65	12,21 ± 1,74

Tabla 7: Promedio y desviación estándar de las difusividades para cada temperatura.

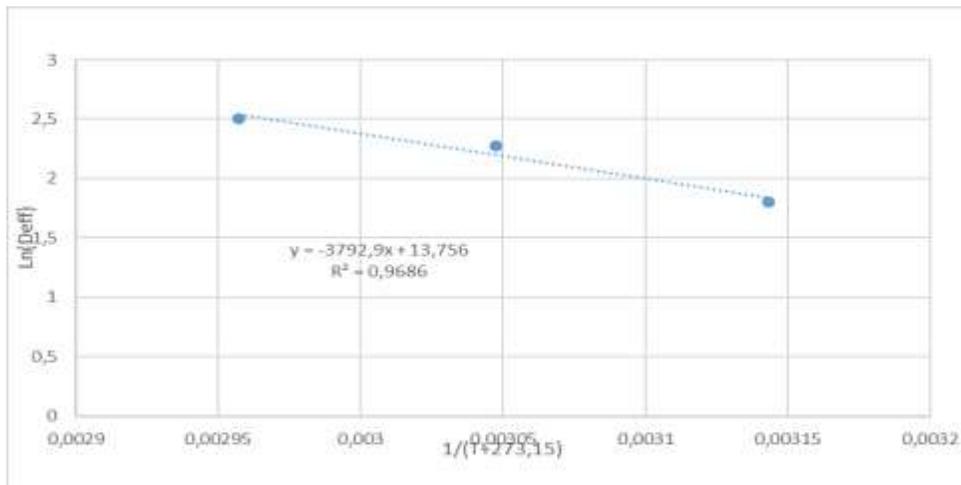


Figura 3: Análisis de regresión lineal de para Ln Dwe versus la temperatura de secado (K)

#### Anexo 11: Curvas de secado y modelos de cinética en base a Wang and Singh

La **figura 4** muestra los valores promedios de los estadísticos propuestos para las tres curvas de secado, esto con el fin de evaluar la calidad del ajuste de los modelos utilizados sobre los datos experimentales. Como un buen ajuste se consideran los valores de SSE, RMSE y  $\chi^2$  cercanos a cero junto con los valores de  $r^2$  que tiendan a uno. Al comparar los modelos utilizados, el que presenta valores de un mejor ajuste fue el modelo de Wang and Singh con un  $r^2$  de 0,944 y valores de SSE, RMSE y  $\chi^2$  de 0,0006, 0,0251 y 0,0007 respectivamente. En la **figura 5**, se muestran las curvas de secado para los valores experimentales y su ajuste al modelo de Wang and Singh, el modelo con el mejor ajuste, con este modelo es posible predecir el tiempo de secado de los desechos del tallo del apio a una determinada temperatura hasta alcanzar una humedad propuesta.

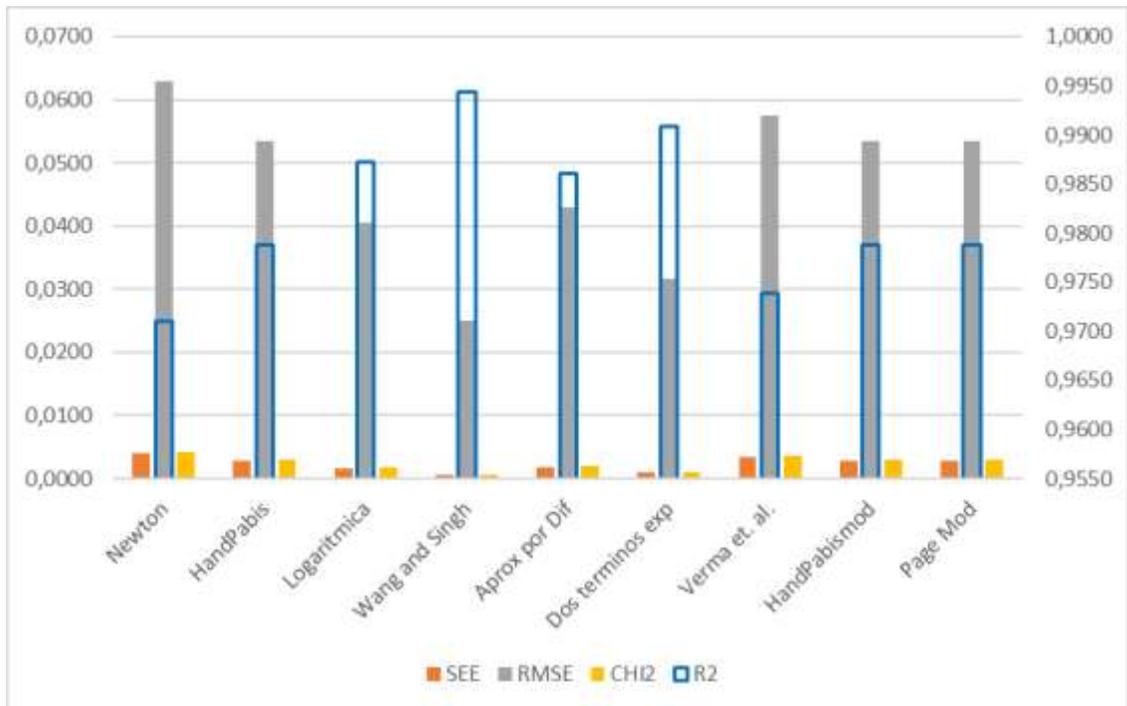


Figura 4: Gráfico de valores estadísticos R<sup>2</sup>, SEE, RMSE y  $\chi^2$  obtenidos por modelo matemático

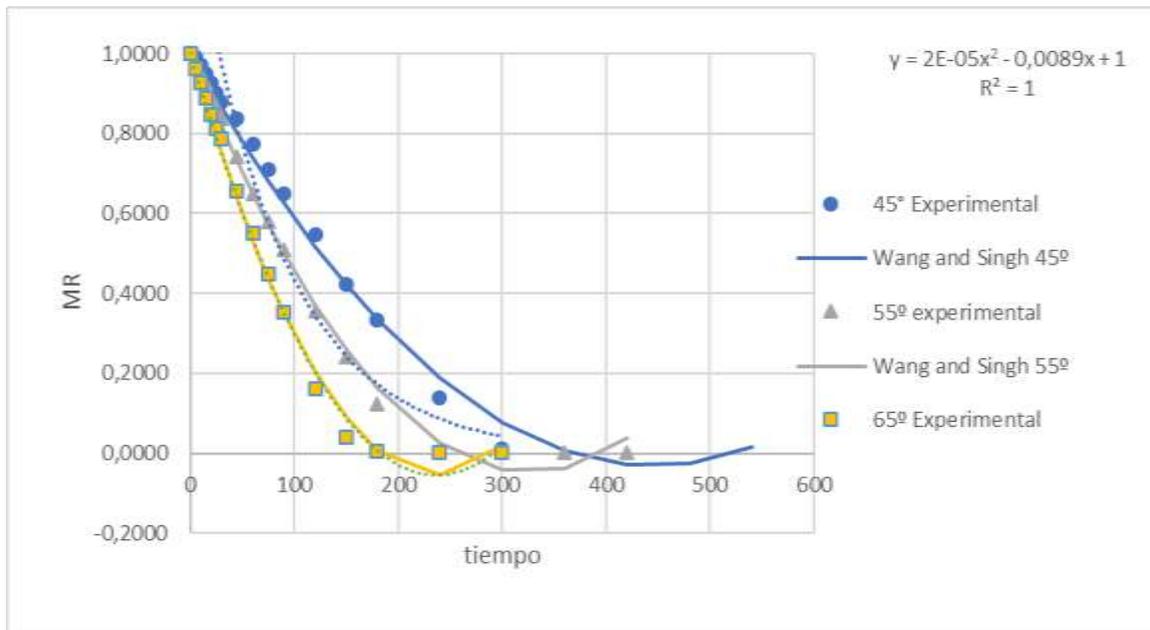


Figura 5: Curva de secado experimental y calculado con el modelo Wang and Singh para las diferentes temperaturas de secado (°C).

**Anexo 12:** Registro fotográfico de actividades (prensado de hojas de apio, obtención de torta de apio y jugo, pasteurización, determinación de humedad y curvas de secado para hojas de apio)

RECECIÓN MP. PESAJE DE LA MP. PRENSADO Y EXTRACCIÓN DEL JUGO DE APIO PESADO DE LA TORTA DE APIO Y DEL JUGO

OBTENCIÓN DE LA TORTA Y EL JUGO DE APIO

Recepcion de MP. Extracción de jugo por medio de prensado Pesado del líquido Pasteurización Disminucion de la temperatura Embotellamiento

Extracción , pasteurización y embotellado del jugo de apio

RECECIÓN DE MP. PRENSADO HOMOGENIZADO PORCIONAMIENTO HORNO POR CONVECCIÓN ENFRIMDO EN DESECADOR PESAJE EN BALANZA ANALÍTICA

HUMEDAD INICIAL DE LA TORTA DE HOJA DE APIO

Recepción MP. Prensado MOLIENDA Porcionamiento secado y registro de los puntos

Proceso para la obtencion de la curva de secado

### Anexo 13: Formulación de la sopa crema de apio.

Ingredientes	Porcentaje (%)
Harina de apio	15
Harina de trigo	45,47
Almidón	15
Leche	10
Sal	10
Cebolla	0,6
Ajo	0,6
Perejil	0,3
Glutamato monosódico	3
Colorante verde	0,03

Tabla 8: Formulación final sopa crema de apio.

### Anexo 14: Estabilidad

Se determinó la estabilidad de la sopa crema de apio, una vez reconstituida de la manera habitual de preparación (14 g/200 ml) se dejó reposar por una hora, durante dicho periodo no debe presentar grumos, separación de fase ni presencia de sedimento (Ministerio de Salud, 2012). Se muestra fotos de la sopa crema de apio en polvo y el producto final obtenido para el consumo.

Como se observa en la figura 6 la muestra de sopa crema de apio una vez reconstituido de acuerdo siguiendo el método de preparación no presentó formación de grumos, separación de fase, o presencia de sedimento durante la hora de observación.



Figura 6: Muestra de sopa crema de apio 1 hora después de preparación.

## Anexo 15: Contenido de Sodio

Producto	Sodio (mg/100g)	Sodio (mg/porción g)	Sodio (mg/100ml)
Sopa crema de apio	4269	597,7	298,8
Sopa crema de esparrago Maggi	5812	814	407
Sopa crema de esparrago Naturezza	5750	782	391

Tabla 9: Sodio teórico para la sopa crema de apio en polvo, sopa crema

## Anexo 16: Cálculo de Sodio en sopa crema de apio:

- Cálculo de Sodio en sal común: Marca Lobos  
10 gramos de Sodio en 100 gramos de crema de apio en polvo  
 $100 \text{ g} \rightarrow 39\,000 \text{ mg Na}^+$   
 $10 \text{ g} \rightarrow X$   
 $X = 3\,900 \text{ mg Na}^+ / 100 \text{ g de producto en polvo}$
- Cálculo de Sodio en glutamato monosódico: Marca Ajino Moto  
10 gramos de Sodio en 100 gramos de crema de apio en polvo  
 $1 \text{ g} \rightarrow 123 \text{ mg Na}^+$   
 $3 \text{ g} \rightarrow X$   
 $X = 369 \text{ mg Na}^+ / 100 \text{ g de producto en polvo}$
- Sodio total en 100 gramos de sopa crema apio:  
 $= 3\,900 \text{ mg Na}^+ + 369 \text{ mg Na}^+$   
 $= 4269 \text{ Na}^+ / 100 \text{ g de producto en polvo}$
- Sodio por porción (14 gramos) de sopa crema apio:  
 $100 \text{ g} \rightarrow 4269 \text{ mg Na}^+$   
 $14 \text{ g} \rightarrow X$   
 $X = 597,7 \text{ mg Na}^+ / 14 \text{ g de producto en polvo o } 200 \text{ ml de producto reconstituido}$
- Sodio por 100 ml de producto reconstituido:  
 $200 \text{ ml} \rightarrow 597,7 \text{ mg Na}^+$   
 $100 \text{ ml} \rightarrow X$   
 $X = 298,8 \text{ mg Na}^+ / 100 \text{ ml de producto reconstituido}$
- Comparación con respecto a marcas control  
 $200 \text{ ml} \rightarrow 814 \text{ mg Na}^+$   
 $100 \text{ ml} \rightarrow X$   
 $X = 407 \text{ mg Na}^+ / 100 \text{ ml de sopa crema de esparrago Maggi}$   
 $100 \% \rightarrow 407 \text{ mg Na}^+$   
 $X \% \rightarrow 269 \text{ mg Na}^+$   
 $X = 64 \% \quad 100\% - 66\% = \mathbf{34\% \text{ menos de sodio con respecto a crema Maggi.}}$

200 ml → 782 mg Na+  
 100 ml → X  
 X = 391 mg Na+/100 ml de sopa crema de esparrago Naturezza  
 100 % → 391 mg Na+  
 X % → 269 mg Na+  
 X = 68,8 % 100% - 66% = **31,2% menos de sodio con respecto a crema Naturezza.**

### Anexo 17: Propiedades Reológicas

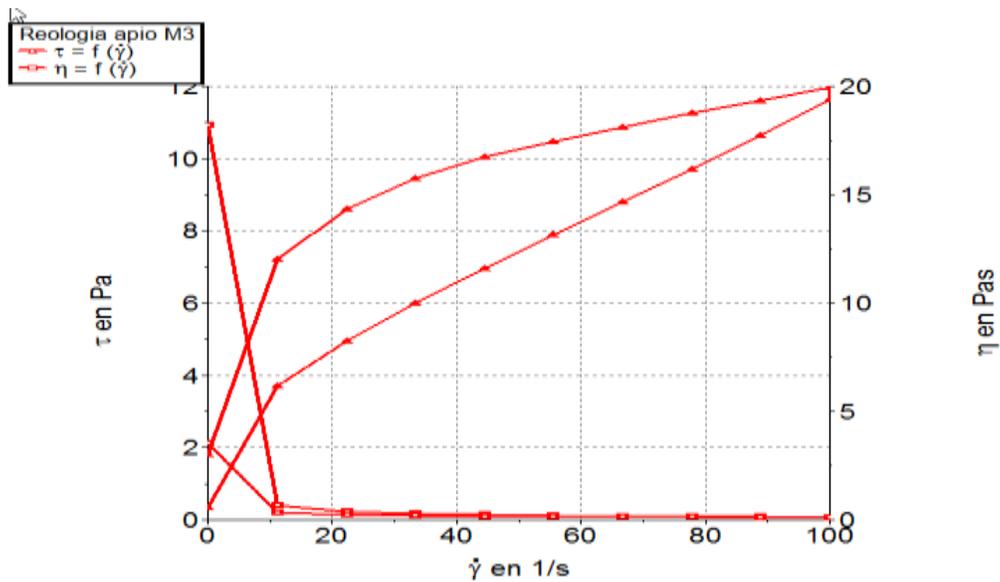


Figura 7: Esfuerzo de corte vs. Relación de deformación y Viscosidad aparente vs relación de deformación para sopa de apio tipo crema.

**Anexo 18:** Reograma de las dos muestras comerciales control, sopa crema de espárrago Maggi y sopa crema de espárrago Naturezza.

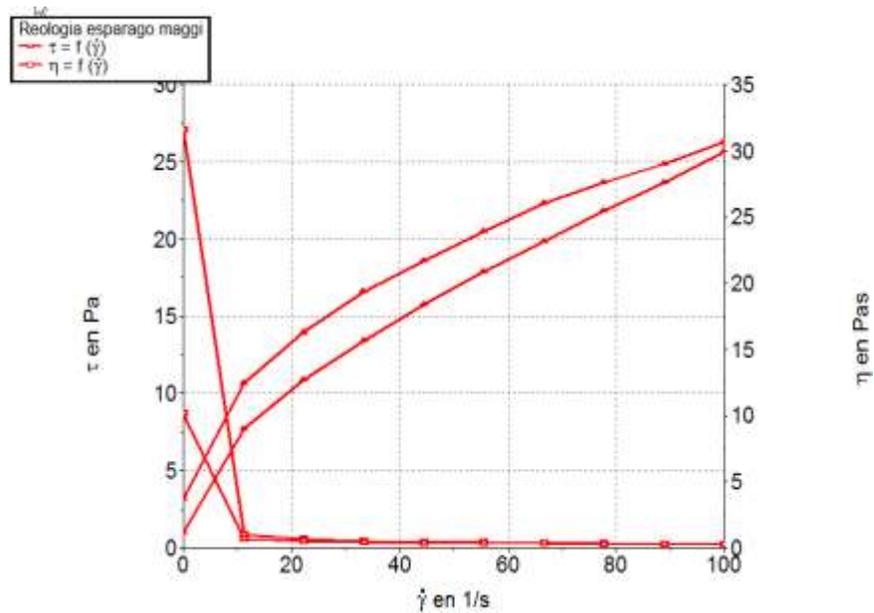


Figura 8: Esfuerzo de corte vs. Relación de deformación y Viscosidad aparente vs relación de deformación para sopa crema de espárrago Maggi.

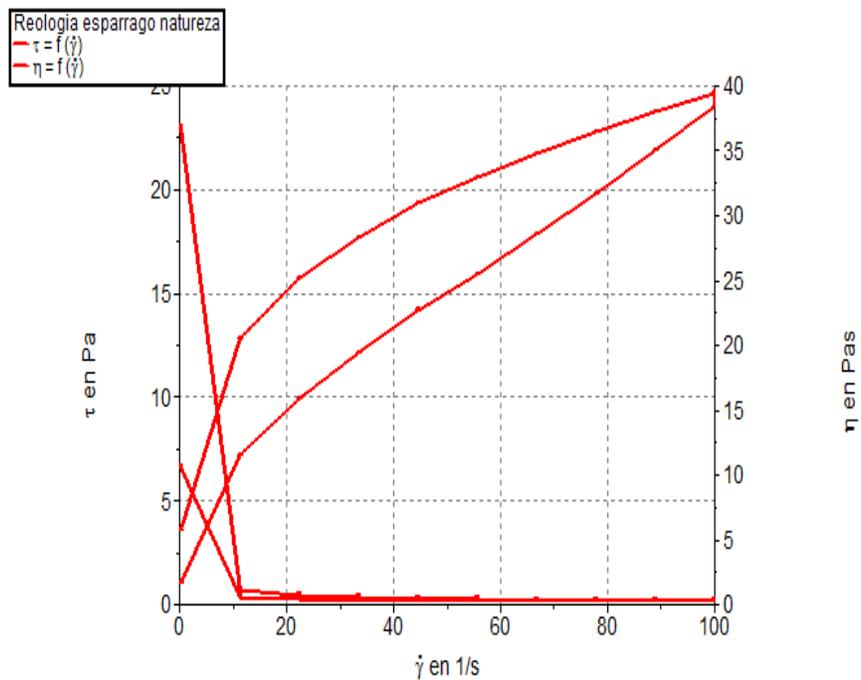


Figura 9: Esfuerzo de corte vs. Relación de deformación y Viscosidad aparente vs relación de deformación para sopa crema de espárrago Naturezza.

**Anexo 19:** Constantes reológicas.

Parámetro	Crema apio	Crema Naturezza	Crema Maggi
Índice de consistencia(k) [Pa·s <sup>n</sup> ]	6,21	5,3	2,69
Índice de comportamiento reológico(n) [adimensional]	0,18	0,31	0,48

*Tabla 10: Constantes reológicas de fluidos no Newtonianos para sopa crema de apio, sopa crema Naturezza y sopa crema Maggi.*

**Anexo 20:** Formulación del jugo isotónico de apio.

Se muestra en la tabla la formulación final para el jugo isotónico de apio.

Ingredientes	(g/100ml)
Agua desionizada	92,0
Fructosa	1,0
Glucosa	1,0
Sacarosa	4,0
Cloruro de sodio	0,042
Jugo apio	6,96
Jugo de limón	2,0
Ácido cítrico	0,1

*Tabla 11: Formulación final del jugo isotónico de apio.*

**Anexo 21:** Se muestra el jugo isotónico de apio para consumo final.

El jugo de apio no presentó formación de grumos, separación de fase, o presencia de sedimento durante la hora de observación.



Figura 10: jugo isotónico de apio.

**Anexo 22:** pH, acidez titulable y sólidos solubles.

El pH es un parámetro importante por su efecto en el crecimiento microbiano, las bacterias difícilmente se multiplican a pH menor a 4,5, los mohos y las levaduras sin embargo resisten y crecen en medios ácidos, pueden multiplicarse incluso a pH 1,5 (Ordoñez,1998). Es importante considerar que la resistencia de los microorganismos frente a un tratamiento térmico disminuye a pH más ácidos, alimentos que tienen un pH inferior a 3,7 basta con someterlos a un proceso de pasteurización leve como método de conservación (Orrego,2003), considerando lo anterior la acidificación tiene un efecto inhibidor del crecimiento microbiano.

Parámetros	Jugo isotónico de apio	Muestra comercial 1 (Gatorade Lima-Limón)	Muestra comercial 2 (Powerade Limón)
pH	3,63 ± 0,01	3,45 ± 0,00	3,79 ± 0,00
Acidez titulable (g de ácido cítrico/100 g muestra)	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,38 ± 0,01
Sólidos solubles (°Brix)	6,88 ± 0,02	7,1 ± 0,00	7 ± 0,00

Tabla 12: pH, acidez titulable y sólidos solubles para jugo isotónico de apio y dos muestras comerciales.

**Anexo 23:** Cálculo de resultados para la acidez titulable para el jugo isotónico de apio

$$\%Acidez\left(\frac{g\ \acute{a}cido\ c\acute{it}rico}{100\ g}\right)=\frac{V_{mx}\times C_{mx}\times f_{\acute{a}cido\ equivalente}\times 100}{C_{[NaOH\ 0,1M]}\times muestra\ (ml)} \quad (\text{Ecuación 20})$$

Dónde:

- V[mx] = Volumen de gasto de la solución de NaOH estandarizada.
- C[mx] = Concentración de la solución de NaOH estandarizada =0,1M
- C[NaOH 0,1M ]= Concentración ideal de la solución de NaOH (0,1M)
- f[ácido equivalente] = factor de conversión de equivalencia de 1 ml de naOH 0,1M a Ácido cítrico anhidro (0,006404)

- Muestra 1:

Muestra= 50 ml  
V[mx] = 19,95 ml

$$\%Acidez\left(\frac{g\ \acute{a}cido\ c\acute{it}rico}{100\ g}\right)=\frac{19,95\ ml\times 0,1M\times 0,006404\times 100}{0,1M\times 50\ ml} = 0,25$$

- Muestra 2:

Muestra= 50 ml  
V[mx] = 18,9 ml

$$\%Acidez\left(\frac{g\ \acute{a}cido\ c\acute{it}rico}{100\ g}\right)=\frac{18,9\ ml\times 0,1M\times 0,006404\times 100}{0,1M\times 50\ ml} = 0,24$$

**Anexo 24:** Cálculos para polifenoles totales del jugo isotónico de apio.

	Abs (A)	Concentración mg GAE/L	Concentración (mg GAE/100ml jugo)
<b>Muestra</b>	0,077	0,95	6,347
	0,079	0,97	6,496
	0,08	0,99	6,570
<b>Promedio</b>		<b>0,97</b>	<b>6,471</b>
<b>Desv. Est.</b>		<b>0,01</b>	<b>0,074</b>
<b>Control</b>	0,083	1,02	6,793
	0,083	1,02	6,793
	0,081	1,00	6,644
<b>Promedio</b>		<b>1,01</b>	<b>6,744</b>
<b>Promedio entre muestras</b>		<b>0,01</b>	<b>0,070</b>

Tabla 13: curva de calibración de ácido gálico.

- Ejemplo cálculo de concentración mg GAE/L

Interpolando absorbancia de muestras en la curva del ácido gálico

$$Y = 0,0896 X - 0,083$$

$$0,077 = 0,0896 X - 0,083 = 0,95 \text{ mg GAE/L}$$

- Ejemplo cálculo de concentración mg GAE/100 ml de jugo isotónico

0,95 mg GAE/L ---- 0,015 ml muestra

X ----- 100 ml muestra

X = 6,347 mg GAE/100 ml de jugo

isotónico

**Anexo 25:** Determinación polifenoles totales de la infusión por método Folin C.

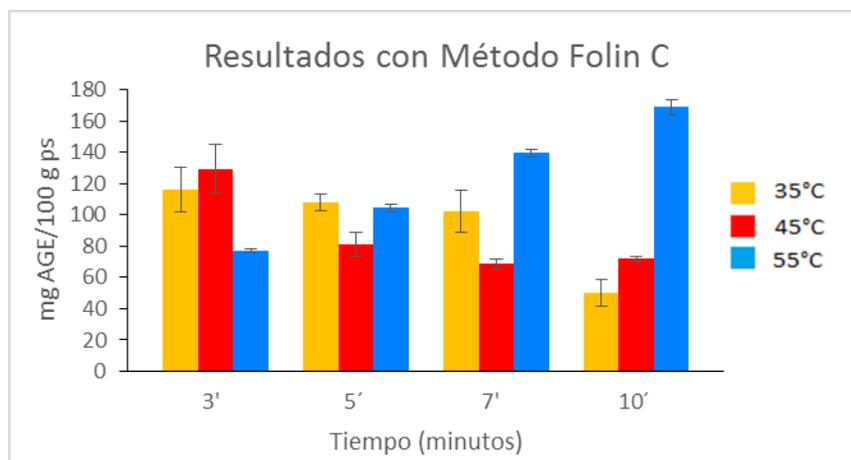


Figura 11: Polifenoles totales de las infusiones obtenidas a los tiempos de extracción 3, 5, 7 y 10 minutos con hoja de apio secada a 35, 45 y 55°C.

**Anexo 26:** Capacidad antioxidante

MUESTRA	DESCRIPCIÓN MUESTRA	DPPH (% de inhibición)
MNP	Jugo isotónico de apio no pasteurizado.	7,68 ± 0,28 a
MP	Jugo isotónico de apio pasteurizado.	6,27 ± 0,58 ab
B	Blanco: azúcares, NaOH, jugo de limón, ácido cítrico.	4,52 ± 0,27 cb
C	Control: azúcares, NaOH, jugo de apio	3,07 ± 1,80 c

*Tabla 14: Porcentaje de inhibición del radical DPPH para el jugo isotónico de apio.*

*\*Valores en la misma columna que comparten diferentes letras muestran diferencias significativas con  $p < 0.05$*

**Anexo 27:** Análisis estadístico para muestras en ensayo DPPH.

**Multiple Range Tests for DPPH by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	29,3544	3	9,7848	<b>7,48</b>	<b>0,0188</b>
Within groups	7,84898	6	1,30816		
Total (Corr.)	37,2034	9			

*Tabla 15. ANOVA Table for DPPH by Muestra*

Method: 95,0 percent Tukey HSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
MC	2	3,0717	X
MB	2	4,52065	XX
MP	3	6,26743	XX
MNP	3	7,6825	X

*Tabla 16. Análisis estadístico, análisis de correlación.*

**Anexo 28:** Medición de capacidad antioxidante (CA) mediante el ensayo ORAC<sub>FL</sub>.

La Figura 11 muestra la variación de la capacidad antioxidante de las diferentes infusiones.

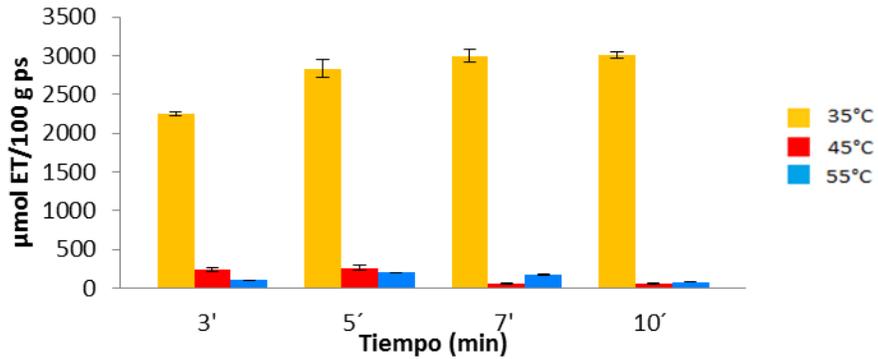


Figura 12: Variación de la CA por ORAC-FL a los distintos tiempos de extracción y a las distintas temperaturas de secado de la hoja de apio.

**Anexo 29:** Medición de capacidad antioxidante (CA) mediante el ensayo ORAC<sub>PGR</sub>

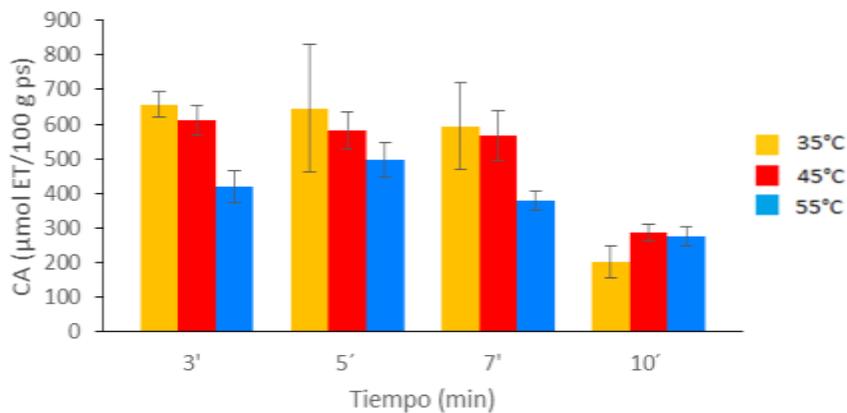


Figura 13: Variación de la CA por ORAC-PGR a los distintos tiempos de extracción y a las distintas temperaturas de secado de la hoja de apio.

**Anexo 30:** Diferencia gráfica entre ORAC-FL y ORAC-PGR:

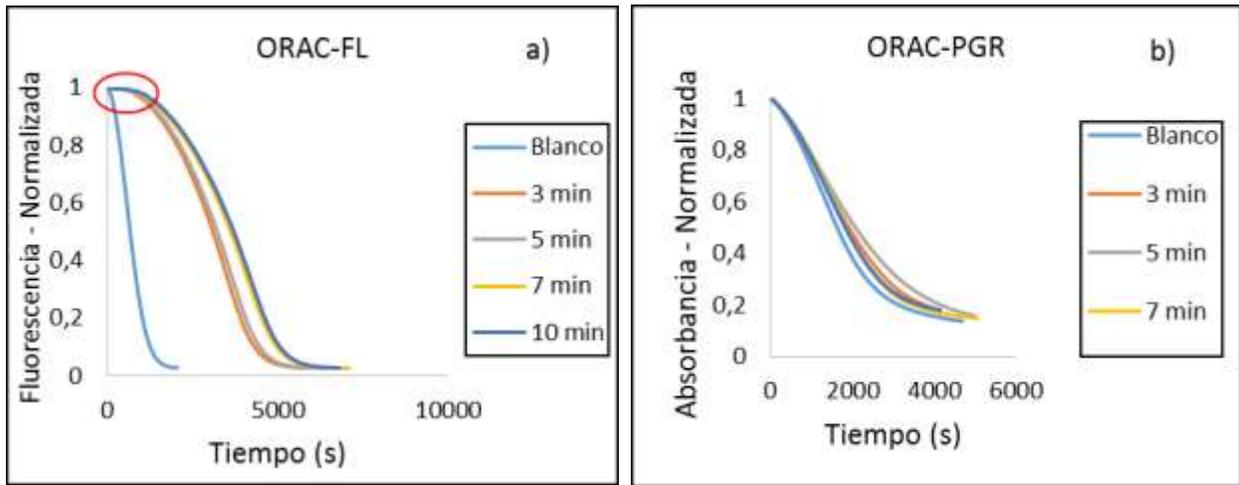


Figura 14: Diferencia gráfica entre ORAC-FL y ORAC-PGR: a) Gráfica de ORAC-FL, la cual presenta un tiempo de inducción, al inicio del decaimiento de la fluorescencia (encerrado en un círculo rojo) y b) Gráfica ORAC-PGR, la cual no inicia con un tiempo de inducción, sino que el decaimiento se produce de forma inmediata.

**Anexo 31:** Determinación de la capacidad antioxidante mediante ensayo DPPH.

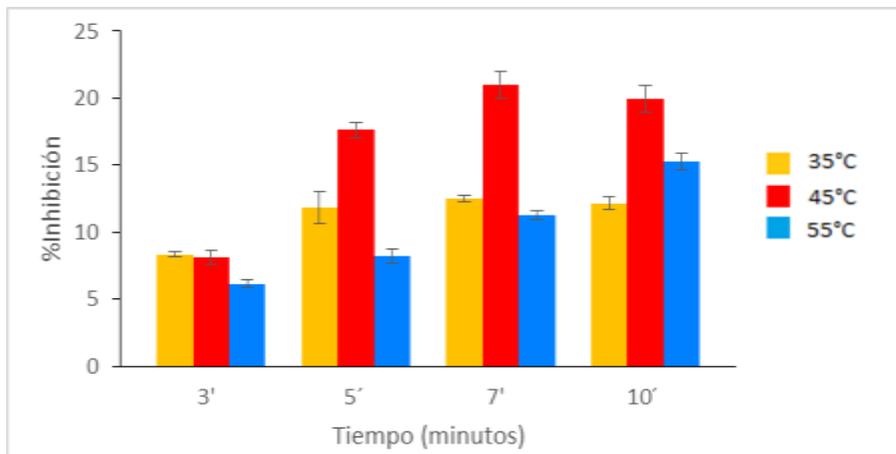


Figura 15: Variación del % de inhibición del radical DPPH, en función del tiempo de extracción a cada temperatura de secado de las hojas.

**Anexo 32:** Comparación de Capacidad Antioxidante de la infusión v/s infusiones comerciales.

Debido a la gran cantidad de reportes en donde se estudia la capacidad antioxidante de los té, demostrando que éstos tienen una alta actividad; a modo de comparación, se realizaron ensayos de ORAC-FL en las mismas condiciones que las infusiones con hoja de apio secadas a 35°C, a muestras de té verde y té negro (Té verde marca Supremo y té negro marca Lipton Golden). Los valores de CA obtenidos para estas muestras fueron 5 veces mejores que las infusiones de hoja de apio, a los 3 minutos de extracción. Té verde: 11.477± 604 µmol ET/100 g ps; Té negro: 10.494 ± 334 µmol ET/100 g ps.

**Anexo 33:** Fibra dietética

Parámetro	100 (g)	1 Porción (g)	DDR (%)
Fibra dietética	6,49	0,91	3,64

Tabla 17: Fibra dietética teórica aportada por el apio en la sopa crema de apio en polvo.

**Anexo 34:** Parámetros químicos en harina y jugo.

Parámetros	Valores Experimentales
Rendimiento harina de apio (%)	3,7
Rendimiento jugo de apio (%)	69,57
Humedad harina de apio (%)	14,42 ± 0,47
pH jugo de apio	5,7 ± 0,11
Sólidos solubles jugo de apio (°Brix)	5,5 ± 0,06
Fibra dietética calculada teóricamente a harina de apio	43,2 %

Tabla 18: Resultados de los análisis realizados a la harina y jugo de apio.

Como se observa en la tabla, la harina de apio tubo un rendimiento posterior al secado de 4,71%, posterior a la molienda se redujo el rendimiento a un 3,99% y posterior al tamizado se obtuvo un rendimiento final de 3,7%, esto se debe a pérdidas de material en los equipos utilizados. La harina de apio con un tamaño de partícula de 65 mesh, obtuvo un promedio de 14,42% de humedad, se encuentra dentro de la humedad esperada a 65°C por 180 min, además cumple con el máximo permitido por el RSA que es un 15% (RSA, 1998).

**Anexo 35:** Análisis de humedad de la sopa crema de apio.

La humedad de la crema de apio medida en triplicado fue de 7,42 ± 0,01%, esta es adecuada ya que no supera el máximo establecido por RSA de un 8%.

**Anexo 36:** Actividad Hipoglicemiante.

Las enzimas involucradas en los aumentos de los niveles de glicemia son aquellas que hidrolizan carbohidratos tales como α-amilasa y α-glucosidasa. Los inhibidores de estas enzimas son capaces de retardar la digestión de carbohidratos, causando una reducción en la velocidad de absorción de la glucosa. Inhibidores tipo polifenólicos de α-amilasa y α-glucosidasa, reducen la hiperglicemia postprandial (Lordan et al, 2013). Para realizar esta

evaluación, el ingrediente obtenido (harina vegetal) debe ser tratada para obtener un extracto el que presentará o no la actividad descrita. Para ello se realiza una extracción solvente con agua etanol en mismas proporciones bajo un equipo Soxhlet, realizando 2 procedimientos extractivos, para ser luego recopilada la muestra.

Por otra parte, el glicógeno fosforilasa a (GPa) es la principal enzima regulatoria de la vía metabólica del glicógeno, ya que cataliza por fosforólisis, la degradación de glicógeno a glucosa uno fosfato (glucosa-1P). Existen tres isoenzimas dependiendo de los tejidos en que se expresa: i) la isoenzima hepática, ii) la muscular y iii) la cerebral. La primera tiene la función principal de elevar la glicemia, debido a que exporta glucosa desde el hígado hacia los tejidos periféricos (Deng et al, 2005). Tras inhibir a la GPa se ha observado disminución de la glucogenólisis y una disminución en la producción de glucosa hepática (Polyák et al, 2013; Zhang et al, 2012).

**Anexo 37:** Concentración apigenina libre en jugo de apio.

Dentro de los antioxidantes presentes en el apio se puede encontrar flavonoides tales como apigenina-7-apisoyglucosido, conocido como apiin. Se ha reportado que este compuesto posee actividad antiinflamatoria y anticancerígena (Mencherini et al, 2007) (Arango et al, 2013).

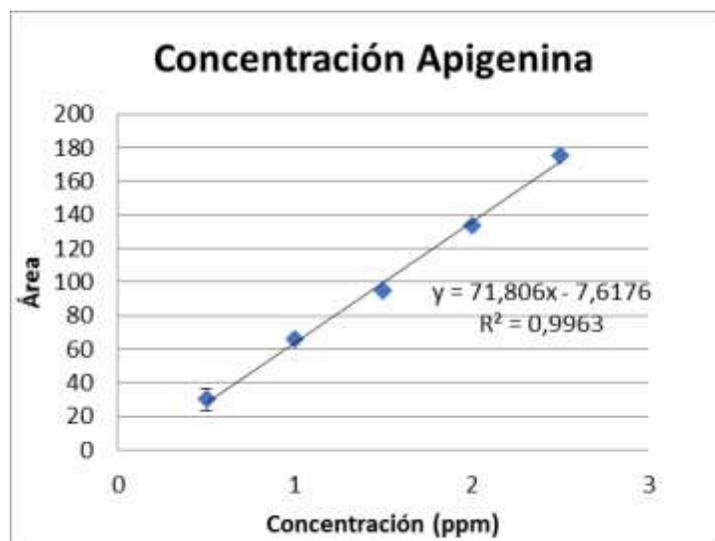


Figura 16: Curva de calibración en solvente Etanol

	Área	Tiempo de retención (min)	Contenido de apigenina (mg/100ml jugo isotónico)
Jugo de apio	50,23	25,32	8,05

### Anexo 38: Evaluación sensorial sopa crema de apio

#### Evaluación Sensorial

*Perfil descriptivo:* En la tabla 19 se muestra los resultados del perfil descriptivo para la sopa crema de apio, hubo diferencias significativas para el parámetro partículas extrañas evaluado en el producto en polvo, ya que un juez describió haber visto trozos más oscuros, estas son atribuibles a los trozos de perejil deshidratado. Con respecto a los otros parámetros evaluados no hubo diferencias significativas entre jueces ( $p > 0,05$ ), esto se debe a que los jueces se encuentran entrenados en gustos básicos y además la inducción realizada previamente a la evaluación sensorial, donde se hizo una explicación detallada de cada parámetro y lo esperado dentro de la escala en su evaluación.

Parámetros	Promedio	Extremo Izquierdo	Extremo Derecho	p- valor	Diferencias significativas entre jueces
		(0)	(10)		
Partículas extrañas	0,03	ausente	muy abundantes	0,01	Si
Apariencia general	9,44	muy inadecuado	muy adecuado	0,43	No
Color verde	6,82	ausente	muy intenso	2,25	No
Aroma apio	5,04	ausente	muy intenso	1,74	No
Olores extraños	0,00	ausente	muy intenso	0,00	No
Consistencia	3,21	Muy líquido	Totalmente espeso	1,06	No
Grumosidad	0,96	sin grumos	muy grumoso	2,31	No
Suavidad	4,53	muy suave	muy áspero	2,98	No
Sabor apio	4,80	ausente	muy intenso	0,93	No
Sabor extraño	0,19	ausente	muy intenso	0,18	No

*Tabla 19: Resumen de resultados del perfil descriptivo con promedios y diferencias significativas entre jueces por parámetro para la sopa de apio tipo crema.*

Se muestra en la figura 17 el perfil descriptivo obtenido y en la tabla 17 los promedios obtenidos por parámetro, con esto se define las propiedades sensoriales del producto final, no obstante, podría ser utilizado para realizar posibles modificaciones a los parámetros en los cuales se desvió del valor propuesto, como el caso del color verde del producto final el cual fue evaluado como más intenso de lo esperado con un promedio de 6,82, siendo lo esperado una intensidad intermedia de alrededor de 5,0. Con respecto a la suavidad, la evaluación resultó ser más áspera de lo esperado con un promedio de 4,53, se esperaba valor cercano a 2,5, esto se atribuye al contenido de fibra otorgada por la harina de apio, el cual es mayor en la sopa crema de apio en relación a otras sopas cremas comercializadas.

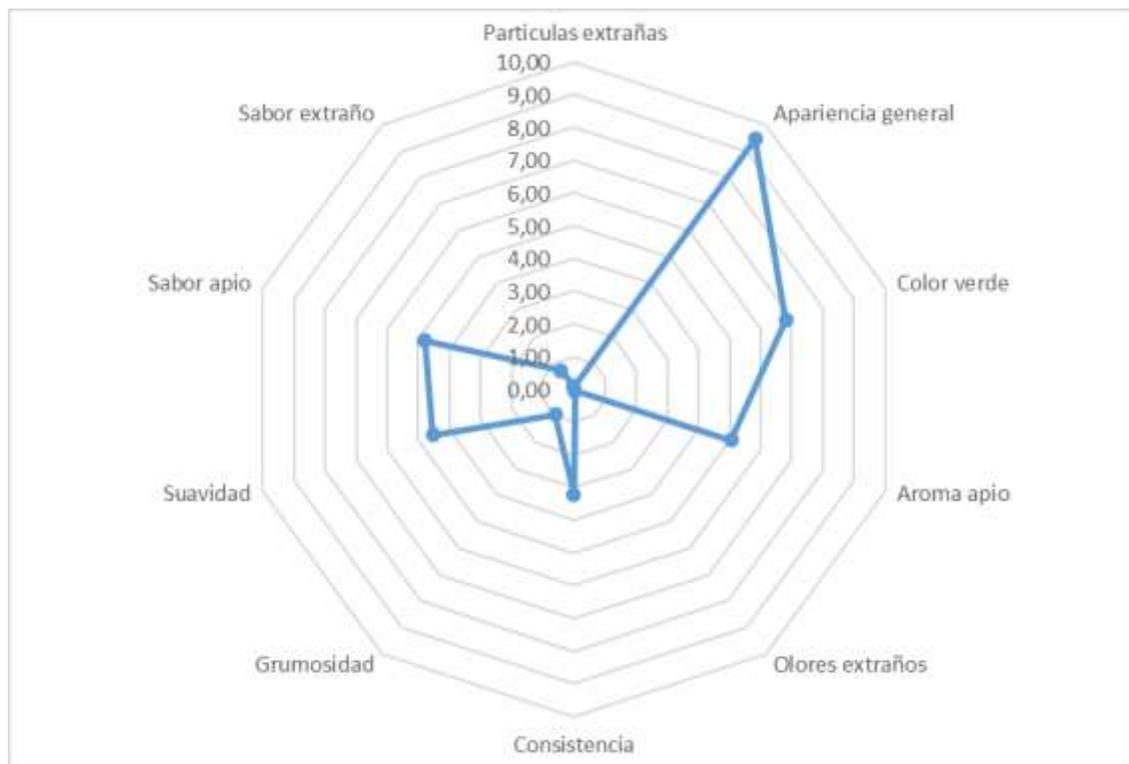


Figura 17: Gráfico radial del perfil sensorial descriptivo de la sopa de apio tipo crema.

### Valoración de calidad

En la tabla 20 se muestra los resultados obtenidos para la valoración de calidad, se evaluó el color, aroma, sabor, textura, y la calidad total obteniendo un promedio de 6,2; 6,6; 6,5; 6,0 por atributo respectivamente y 6,4 para la calidad total, esto significa que el producto fue evaluado como “Bueno” cumpliendo con los estándares de calidad sensorial. Del análisis de varianza realizado por jueces se muestran que no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los atributos evaluados y en la calidad total lo que indica que el entrenamiento realizado y la selección de los jueces fueron adecuados.

<b>Parámetros</b>	<b>Promedio</b>	<b>p- valor</b>	<b>Diferencias significativas entre jueces</b>
Color	6,24	0,0853	No
Aroma	6,63	0,1125	No
Sabor	6,52	0,1494	No
Textura	5,97	0,2075	No
Calidad Total	6,39	0,0661	No

*Tabla 20: Resumen de resultados del test de valoración de calidad con promedios y diferencias significativas entre jueces por parámetro para la sopa crema de apio.*

### **Anexo 39:** Evaluación sensorial de jugo isotónico de apio

#### Análisis a la bebida isotónica de apio

##### *Osmolalidad*

La osmolalidad obtenida fue de  $289 \pm 0,94$  mOsm/kg, esta se encuentra dentro de los rangos recomendados por distintos autores y dentro del límite propuesto por el RSA, además de ser cercana a la isotonicidad, por consiguiente, con un buen efecto hidratante. (Hopkins y Wood, 2006)

La osmolalidad (osmoles por kg de agua) es un parámetro importante que se mide en bebidas deportivas para fines de hidratación, los márgenes recomendados de osmolalidad van desde 285 mOsm/kg a 295 mOsm/kg (Ashurst, 2005) y de 200 mOsm/kg a 330

mOsm/kg (Palacios et al., 2008), según el RSA, debe presentar una osmolalidad entre 250 y 340 mOsm/Kg (RSA, 1998) sin embargo, lo óptimo para una bebida isotónica es de 287 mOsm/kg, la presión osmótica del suero sanguíneo, la cual es óptima para la absorción de agua en el intestino (Ashurst, 2005).

pH, acidez titulable y sólidos solubles

El pH es un parámetro importante por su efecto en el crecimiento microbiano, las bacterias difícilmente se multiplican a pH menor a 4,5, los mohos y las levaduras sin embargo resisten y crecen en medios ácidos, pueden multiplicarse incluso a pH 1,5 (Ordoñez,1998). Es importante considerar que la resistencia de los microorganismos frente a un tratamiento térmico disminuye a pH más ácidos, alimentos que tienen un pH inferior a 3,7 basta con someterlos a un proceso de pasteurización leve como método de conservación (Orrego,2003), considerando lo anterior la acidificación tiene un efecto inhibidor del crecimiento microbiano.

<b>Parámetros</b>	<b>Jugo isotónico de apio</b>	<b>Muestra comercial 1 (Gatorade Lima-Limón)</b>	<b>Muestra comercial 2 (Powerade Limón)</b>
pH	3,63 ± 0,01	3,45 ± 0,00	3,79 ± 0,00
Acidez titulable (g de ácido cítrico/100 g muestra)	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,38 ± 0,01
Sólidos solubles (°Brix)	6,88 ± 0,02	7,1 ± 0,00	7 ± 0,00

*Tabla 21: pH, acidez titulable y sólidos solubles para jugo isotónico de apio y dos muestras comerciales.*

Como se muestra en la tabla 21 el jugo isotónico de apio tuvo un valor de 3,63 de pH, esto lo clasifica como alimento de alta acidez, y por consiguiente difícil crecimiento bacteriano, sin embargo, es posible el crecimiento de mohos y levaduras por lo cual se realizó un proceso de pasteurización leve de 75°C por 20 s, tiempo y temperatura recomendada para bebidas no carbonatadas de baja acidez (Ashurst, 2005). También se midió el pH de manera comparativa a dos muestras comerciales, Gatorade lima-limón y

Powerade limón, ambas son bebidas isotónicas de fantasía, estas obtuvieron pH de 3,45 y 3,79 respectivamente, valores también considerados de alta acidez y que difieren ligeramente de la muestra formulada.

La acidez titulable medida en el jugo isotónico de apio tuvo un valor de 0,25 g de ácido cítrico por 100 g de muestra, las muestras comerciales Gatorade lima-limón y Powerade limón obtuvieron un valor de 0,28 y 0,38 respectivamente, los valores obtenidos se encuentran dentro del rango normal y aceptable (Gironés- Villaplana et. al., 2013). Se muestran cálculos realizados en Anexo 17.

Con respecto a los sólidos solubles, se obtuvo un valor de 8,97 °Brix para el jugo isotónico de apio, las muestras comerciales Gatorade lima-limón y Powerade limón obtuvieron un valor de 8,1°Brix y 8°Brix respectivamente. Los valores medidos en el refractómetro dan cuenta del contenido de azúcar (principalmente sacarosa), esto podría ser la razón por la que el jugo isotónico de apio obtuvo un menor valor en °Brix, ya que a pesar de tener el mismo contenido de azúcares simples que las muestras comerciales, el jugo isotónico de apio los contiene como sacarosa, glucosa y fructosa, y las muestras comerciales solo como sacarosa. Los sólidos solubles se relacionan directamente con los azúcares y ácidos de frutas, además de una pequeña influencia de sales de metales (Ashurst, 2005), teniendo en cuenta esto el valor de los sólidos solubles del jugo isotónico de apio podría ser mayor que el valor experimental debido a su contenido de jugo de apio, jugo de limón y el cloruro de sodio agregado.

Cabe mencionar que la osmolalidad, el pH, la acidez titulable y los sólidos solubles en las muestras pueden variar de lote a lote de limones y de apio utilizados en la formulación, por lo cual, en caso de posteriores investigaciones o desarrollo se hace necesario estandarizar estas o definir rangos de calidad.

### Evaluación sensorial

#### *Perfil descriptivo*

En la tabla 22 se muestra los resultados del perfil descriptivo para el jugo isotónico apio donde no hubo diferencias significativas entre jueces ( $p > 0,05$ ) para los parámetros evaluados, esto se debe a que los jueces se encuentran entrenados en gustos básicos y además la inducción realizada previamente a la evaluación sensorial, donde se hizo una explicación detallada de cada parámetro y lo esperado dentro de la escala en su evaluación.

En la figura 18 se muestra el perfil descriptivo obtenido y en la tabla 21 los promedios obtenidos por parámetro, con esto se define las propiedades sensoriales del producto final, no obstante, podría ser utilizado para realizar posibles modificaciones a los parámetros en los cuales se desvió del valor ideal

Parámetros	Promedio	EXTREMO IZQUIERDO	EXTREMO DERECHO	p- valor	Diferencias significativas entre jueces
		0	-10		
Color verde	4,74	ausente	muy intenso	0,31	No
Aroma a apio	6,59	ausente	muy intenso	0,52	No
Olores extraños	0,58	ausente	muy intenso	0,42	No
Cuerpo	2,96	nada de cuerpo	mucho cuerpo	1,76	No
Sabor a apio	6,36	ausente	muy intenso	0,32	No
Dulzor	5,26	ausente	muy intenso	0,58	No
Acidez	4,34	ausente	muy intenso	2,26	No
Astringencia	4,35	ausente	muy intenso	2,11	No
Sabor extraño	0,38	ausente	muy intenso	0,16	No

*Tabla 22: Resumen de resultados del perfil descriptivo con promedios y diferencias significativas entre jueces por parámetro para el jugo isotónico de apio.*

Con respecto a los parámetros que presentaron mayor diferencia con el valor esperado, el aroma a apio fue evaluado como algo más intenso de lo esperado, con un valor de 6,59 siendo lo esperado un valor intermedio cercano a 5,0, el sabor a apio también fue evaluado como más intenso de lo esperado con un valor de 6,36 siendo lo esperado un

valor cercano a 5,0. Para el parámetro olores extraños era lo esperado la ausencia total, sin embargo 4 jueces describieron sentir un leve olor terroso resultando un valor promedio de 0,58, este olor suele ser descrito como característico del apio crudo, también se describió un leve sabor extraño con un valor 0,38, siendo lo esperado para este parámetro la ausencia, este sabor fue percibido por 3 jueces los cuales lo describieron como medicamentoso, esto puede ser explicado ya que la mezcla entre salado y dulce en bebidas deportivas suele tener un leve sabor medicamentoso, similar al suero de consumo oral. La astringencia también fue evaluada como más intensa de lo esperado con un valor promedio de 4,35 siendo lo esperado un valor cercano a 2.5, la astringencia es una sensación de sequedad en la boca con amargor característica del apio.



*Figura 18: Gráfico radial del perfil sensorial descriptivo del jugo isotónico de apio.*

#### Valoración de calidad

En la tabla 23 se muestra los resultados obtenidos para la valoración de calidad, para el color, aroma, sabor, textura, se obtuvo un promedio de 6,7; 5,9; 5,8; 6,2 respectivamente por parámetro, esto significa que el producto fue evaluado como “Bueno” pero cercano a “Muy bueno” para los atributos de color y textura y como “Satisfactorio” cercano a “Bueno” para los atributos de aroma y sabor. Con respecto a la calidad total esta fue evaluada como “Bueno” con un promedio de 6,1, esto da cuenta de que el jugo isotónico de apio cumple con los estándares de calidad sensorial a pesar de que en el perfil descriptivo el olor y el sabor fueron evaluados como más intensos. Del análisis de varianza realizado

por jueces se muestran que no hay diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en los atributos evaluados y en la calidad total lo que indica que el entrenamiento realizado y la selección de los jueces fueron adecuados.

<b>Parámetros</b>	<b>Promedio</b>	<b>p- valor</b>	<b>Diferencias significativas entre jueces</b>
Color	6,7	0,07	No
Aroma	5,9	0,34	No
Sabor	5,8	0,35	No
Textura	6,2	0,34	No
Calidad Total	6,1	0,07	No

*Tabla 23: Resumen de resultados del test de valoración de calidad con promedios y diferencias significativas entre jueces por parámetro para el jugo isotónico de apio.*

**Anexo 40:** Evaluación sensorial Infusión, jugo y sopa de apio con panel conformado por personal de FIA.

Evaluación sensorial realizada con personal de FIA con fecha 6/10/2017

<b>Nivel de similitud</b>	<b>Puntaje</b>
Me agrada mucho más que la muestra control	A
Me agrada medianamente más que la muestra control	B
No me agradan ambos	C
Me agrada medianamente más el control que la muestra	D
Me agrada mucho más el control	E

*Tabla 24: Puntajes según aceptación, color, sabor, amargor y aroma.*

<b>Nivel aceptación</b>	<b>Puntaje</b>
Me agrada mucho	1
Me agrada	2
Indiferente	3
Me desagrada	4
Me desagrada mucho	5

*Tabla 25: Tabla según aceptación del producto con respecto al control.*

## **Metodología**

### 1. Evaluación de la inhibición de la actividad de la $\alpha$ -glucosidasa por el EEA

El ensayo se llevó a cabo en un espectrofotómetro de microplaca Thermo Scientific® Multiskan® GO, para lo cual se utilizó una placa de 96 pocillos, empleando la metodología descrita por Kim et al. (2005) con las modificaciones correspondientes. El medio de reacción consistió en un buffer fosfato 100 mM a pH 6,8 y pNPG 5 mM. El pNPG, sustrato de la enzima, posee en su estructura una D-glucosa unida por enlace  $\alpha$ -glucosídico a un grupo p-nitrofenil, el cual en presencia de la enzima es catalizado por hidrolisis liberando p-nitrofenol, compuesto de naturaleza aromática de color amarillento que absorbe a alrededor de 400 nm. El extracto etanol: agua (50:50) (EEA) en distintas concentraciones en dimetilsulfóxido (DMSO) al 11,5 % fue preincubado durante 5 min a 37° C con el medio de reacción, posteriormente se adicionó la solución enzimática 0,1 U/ml ( $\alpha$ -glucosidasa proveniente de *S. cerevisiae*) para iniciar la reacción. Para los controles negativo y positivo se procedió de la misma forma, pero en lugar del EEA se adicionó DMSO 11,5 % y acarbosa, respectivamente. Inmediatamente después de iniciada la reacción se realizó una lectura a 400 nm (0 min) y se incubó por 30 min a 37°C y se realizó la segunda lectura a 400 nm.

Las concentraciones evaluadas del EEA fueron: 1, 25, 50, 100 y 200 y 300  $\mu$ g/mL, con el objetivo de determinar la CI50 mediante la construcción del grafico “Porcentaje de inhibición de la actividad de la enzima versus log concentración del EEA”. De la misma forma, el fármaco de referencia (acarbosa) de conocida actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa, fue evaluado en distintas concentraciones con el objetivo de determinar su CI50.

Para todos los ensayos enzimáticos incluidos en este informe, el EEA fue disuelto en DMSO, pero una vez diluida está solución de la muestra en el medio de reacción, la concentración de DMSO no influye en la actividad de enzimática.

### 2. Evaluación de la inhibición de la actividad de la $\alpha$ -amilasa por el EEA

El ensayo de inhibición de  $\alpha$ -amilasa fue realizado utilizando el método espectrofotométrico adoptado desde Sigma-Aldrich, con leves modificaciones. Para comenzar el ensayo, un volumen de 100 $\mu$ L de EEA (disuelto en DMSO al 5%) y 100 $\mu$ L de

solución de almidón 1% disuelto en 20 mM de buffer fosfato sódico (pH 6,9 con 6mM NaCl), fueron incubados en microtubos a 37°C por 5 min. A continuación, un volumen de 100 µL de α-amilasa porcina pancreática (1,0 mg/ml) fue añadido a cada microtubo y se procedió a incubar a 37°C por 20 min. La reacción fue detenida con 200 µL de reactivo ácido dinitrosalicílico (sustrato de la enzima) y se incubaron a 100°C por 15 min. Una vez que los microtubos se enfriaron a temperatura ambiente, se retiraron 50 µL desde cada microtubo y fueron añadidos a los pocillos de una microplaca. En seguida, la mezcla de reacción se diluyó mediante la adición de 200 µL de agua destilada y se midió la absorbancia a 540 nm del producto de la reacción que es el ácido 3-amino-5 nitro salicílico. La lectura del blanco (sin enzima) se restó a cada pocillo y los resultados se compararon con el control negativo.

Las concentraciones evaluadas del EEA fueron: 1, 25, 50, 100 y 200 y 300 µg/mL, con el objetivo de determinar la CI50 mediante la construcción del gráfico “Porcentaje de inhibición de la actividad de la enzima versus log concentración del EEA”. De la misma forma, el fármaco de referencia (acarbosea o control positivo) inhibidor de la actividad de la α-amilasa, fue evaluado en distintas concentraciones con el objetivo de determinar su CI50.

### 3. Evaluación de la inhibición de la actividad de la GPα por el EEA

La metodología utilizada estuvo basada en el procedimiento descrito por Wen et al., en el 2008, método que fue modificado y adaptado para las condiciones de trabajo en el laboratorio, acorde a los volúmenes de los reactivos a trabajar en el espectrofotómetro de microplaca. La actividad de la GPα (proveniente de conejo) se determinó por espectrofotometría, para esto se midió la reacción en dirección de la síntesis de glicógeno por la liberación de fosfato a partir de glucosa-1-fosfato, al inverso de la reacción que sucede naturalmente en el organismo. Esta reacción se llevó a cabo a 22°C durante 25 min en 150 µL de medio tamponado que contenía 50 mM HEPES (pH 7.2), 100 mM KCl, 2,5 mM EGTA, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,5 mM glucosa-1-fosfato, y 1mg/ml de glucógeno.

El fosfato fue medido a 621nm, cinco min después de la adición de 150 µL de solución de detención que contenía 10 mg/ml de molibdato de amonio y 0,38 mg/ml de verde malaquita en medio con 1M de HCl. Las concentraciones del EEA evaluadas fueron 50, 100 y 200 y 300 µL disueltas en DMSO al 14%.

La sustancia de referencia fue la cafeína (control positivo). El EEA y la cafeína fueron evaluados a distintas concentraciones para determinar la CI50 de la misma forma que fue explicado en los ensayos anteriores.

#### 4. Análisis estadístico:

Todos los ensayos se realizaron en triplicado y el análisis estadístico fue realizado mediante el análisis de varianza de una sola vía (ANOVA de una vía seguido por el test de comparaciones múltiples Tukey. Los resultados fueron presentados como CI50 ± DS.

Para la determinación del porcentaje de la inhibición de la actividad de las 3 enzimas utilizadas se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(\text{ACN} - \text{AB}) - (\text{AM} - \text{ACNE})}{(\text{ACN} - \text{AB})} \times 100$$

- ACN = Absorbancia del control negativo (representa el 100% de actividad de la enzima)
- AB = Absorbancia del blanco
- AM = Absorbancia de la muestra o del fármaco de referencia
- ACNE = Absorbancia del control no enzimático.

#### 5.- Cuantificación de apigenina libre por HPLC-DAD.

La cuantificación del compuesto apigenina libre se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa con un detector de arreglo de diodos (DAD) Agilent Technologies 1200 system, utilizando una columna C18e Chromolith® HighResolution de 4,6 mm de diámetro interno y 10 cm de largo, sistema de bomba cuaternaria e inyección automática, el volumen de inyección (loop) fue de 20 uL.

La composición de la fase móvil en el programa de elución óptimo, consiste en una mezcla de acetonitrilo y agua acidificada con ácido acético al 2% (v/v). Para la determinación de los tiempos de retención, se inyectó individualmente 0,5 mM de apigenina libre en solvente etanólico como patrón obteniéndose una longitud de onda máxima registrada a 340 nm y un tiempo de retención de 25,5 min aprox. Luego se realizó una curva de calibración con diferentes concentraciones (0,5; 0,1; 1,5; 2,0; 2,5 mg·L<sup>-1</sup>). Cada una de las disoluciones fue inyectada en el cromatógrafo obteniendo una señal, el área bajo la curva es proporcional a cada concentración. Para calcular la concentración

de apigenina del jugo isotónico se evaporó el agua del jugo y se solubilizo en etanol al igual que con el patrón. Finalmente, la concentración del jugo se obtiene interpolando el área bajo la curva obtenida con la curva de calibración realizada.

#### 6.- Evaluación Sensorial sopa apio

Se realizó un perfil descriptivo y un test de valoración de calidad del producto, se realizaron con 9 jueces entrenados en gustos básicos a los que se les realizó previamente una inducción.

##### *Perfil descriptivo*

Se evaluaron los siguientes parámetros mediante una escala lineal no estructurada: apariencia general y partículas extrañas para el producto en polvo y color verde, aroma a apio, olores extraños, grumosidad, suavidad, consistencia sabor a apio y sabores extraños para el producto reconstituido.

##### Valoración de calidad

Se evaluó aroma, color, sabor y textura, además de la calidad total mediante escala numérica de 7 puntos la cual se muestra en la tabla 26.

<b>Escala</b>	<b>Descripción</b>
7	Muy bueno
6	Bueno
5	Satisfactorio
4	Regular
3	Defectuoso
2	Malo
1	Muy malo

*Tabla 26: Escala numérica para valoración de calidad*

### Evaluación sensorial jugo apio

Se realizó un perfil descriptivo y un test de valoración de calidad del producto, se realizaron con 9 jueces entrenados en gustos básicos a los que se les realizó previamente un entrenamiento.

### Perfil descriptivo

Se evaluaron los siguientes parámetros mediante una escala lineal no estructurada: color verde, aroma a apio, olores extraños, cuerpo, sabor a apio, dulzor, acidez, astringencia y sabor extraño.

### Valoración de calidad

Se evaluó aroma, color, sabor y textura, además de la calidad total mediante escala numérica de 7 puntos la cual se muestra en la tabla 27.

<b>Escala</b>	<b>Descripción</b>
7	Muy bueno
6	Bueno
5	Satisfactorio
4	Regular
3	Defectuoso
2	Malo
1	Muy malo

*Tabla 27: Escala numérica para valoración de calidad*

La harina se envasó en bolsas multicapas de papel Kraft, rotuladas y selladas con cinta adhesiva de PVC, el peso adecuado para el estudio de conservación fue de 20 g, equivalente a 10 porciones para elaborar sopa instantánea de apio. Las muestras se almacenaron al interior de una caja de cartón en lugar fresco y seco a temperatura ambiente ( $20 \pm 5^{\circ} \text{C}$ ), con una humedad relativa  $< 65\%$ , el estudio de almacenamiento se realizó durante 90 días.

## 7.- Evaluación sensorial panel FIA

Para realizar este test se le pidió al panel conformado por personal de FIA que evaluara algunos ciertos parámetros de una infusión de apio, jugo isotónico de apio y sopa instantánea de apio.

Se evaluó aceptación, color, sabor, amargor y aroma utilizando la escala de la tabla 24 (anexo 40). Además, se compararon los productos con una muestra control y se evaluó la similitud entre ellos utilizando la escala mostrada en la tabla 25 (anexo 40).

Se utilizaron muestras comerciales de jugos isotónicos y sopas instantáneas premium como muestras control.

## 8.- Vida útil

La harina se envasó en bolsas multicapas de papel Kraft, rotuladas y selladas con cinta adhesiva de PVC, el peso adecuado para el estudio de conservación fue de 20 g, equivalente a 10 porciones para elaborar sopa instantánea de apio. Las muestras se almacenaron al interior de una caja de cartón en lugar fresco y seco a temperatura ambiente ( $20 \pm 5^{\circ} \text{C}$ ), con una humedad relativa  $< 65\%$ , el estudio de almacenamiento se realizó durante 90 días.

Luego del proceso de pasteurizado, las muestras de jugo isotónico se almacenaron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. La vida útil desde el punto de vista microbiológico se realizó mediante recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en placas con extracto de malta, agar y extracto de levadura. Las muestras de 1mL de jugo fresco y pasteurizado se diluyeron con 0,1% de agua de peptona a una dilución de 10-1. Las muestras fueron extraídas cada 7 días de recipientes distintos sellados almacenados a  $4^{\circ}\text{C}$ , las placas fueron incubadas a  $30^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

Paralelamente y tomando en cuenta los resultados microbiológicos de la vida útil del jugo antes mencionados, se realizó un test sensorial de acuerdo con Labuza et al. (Labuza, 1998), se puede definir la vida útil como el momento en que el 50% de los catadores no entrenados consideran que un producto es inaceptable. Las pruebas se realizaron con cinco panelistas a lo largo de la vida útil y cada 7 días.

## **Resultados:**

### **1. Inhibición de la actividad de la $\alpha$ -glucosidasa por el EEA y el fármaco de referencia**

El fármaco de referencia evaluado a distintas concentraciones (acarbose) presentó una CI50 de la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa de  $[251,0 \pm 34,00 \mu\text{g/mL}]$ , es decir a esta concentración inhibe en un 50% la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa.

Por el contrario, ninguna de las concentraciones evaluadas del EEA produjo inhibición de la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las absorbancias del control negativo (que representa el 100% de la actividad de la enzima, ya que no contienen ningún inhibidor) y las distintas concentraciones del EEA evaluadas.

### **2. Inhibición de la actividad de la $\alpha$ -amilasa por el EEA y el fármaco de referencia**

El fármaco de referencia evaluado a distintas concentraciones (acarbose) presentó una CI50 de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa de  $[3,13 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}]$ , es decir a esta concentración inhibe en un 50% la actividad de la  $\alpha$ -amilasa.

Ninguna de las concentraciones evaluadas del EEA produjo inhibición de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las absorbancias del control negativo (que representa el 100% de actividad de la enzima, ya que no contienen ningún inhibidor) y las distintas concentraciones del EEA evaluadas.

### **3. Inhibición de la actividad de la GPa por el EEA y el compuesto de referencia**

El compuesto de referencia (cafeína) evaluado a distintas concentraciones presentó una CI50 de la actividad de la GPa de  $[5,98 \pm 1,0 \mu\text{g/mL}]$ , es decir a esta concentración inhibe en un 50% la actividad de la GPa. Respecto del EEA la CI50 de la actividad de la GPa fue de  $145,01 \pm 31,0 \mu\text{g/mL}$ .

### **4. Cuantificación de apigenina (AP) por método HPLC-DAD.**

Mediante diferentes concentraciones (0,5; 0,1; 1,5; 2,0; 2,5 mg-L<sup>-1</sup>) se realizó una curva de calibración. Con cada una de las disoluciones que fue inyectada en el cromatógrafo se obtuvieron las áreas de cada señal, la que es proporcional a cada concentración. La concentración del jugo se obtuvo interpolando el área en la curva de calibración que relaciona el área bajo la curva de la señal del patrón utilizado en función de la concentración.

Fue posible cuantificar apigenina libre en el extracto por HPLC-DAD, la cantidad de AP en la formulación final del jugo fue 8,05 mg AP/100 ml de jugo de apio isotónico.

## **5.- Evaluación organoléptica de sopa instantánea y jugo de apio.**

### Sopa instantánea

Con respecto a los otros parámetros evaluados no hubo diferencias significativas entre jueces ( $p > 0,05$ ), esto se debe a que los jueces se encuentran entrenados en gustos básicos y además la inducción realizada previamente a la evaluación sensorial, donde se hizo una explicación detallada de cada parámetro y lo esperado dentro de la escala en su evaluación.

El perfil descriptivo define las propiedades sensoriales del producto final, no obstante, podría ser utilizado para realizar posibles modificaciones a los parámetros en los cuales se desvió del valor propuesto, como el caso del color verde del producto final el cual fue evaluado como más intenso de lo esperado con un promedio de 6,82, siendo lo esperado una intensidad intermedia de alrededor de 5,0. Con respecto a la suavidad, la evaluación resultó ser más áspera de lo esperado con un promedio de 4,53, se esperaba valor cercano a 2,5, esto se atribuye al contenido de fibra otorgada por la harina de apio, el cual es mayor en la sopa crema de apio en relación a otras sopas cremas comercializadas.

Los resultados obtenidos para la valoración de calidad, se evaluó el color, aroma, sabor, textura, y la calidad total obteniendo un promedio de 6,2; 6,6; 6,5; 6,0 por atributo respectivamente y 6,4 para la calidad total, esto significa que el producto fue evaluado como "Bueno" cumpliendo con los estándares de calidad sensorial.

### Jugo isotónico

El perfil descriptivo define las propiedades sensoriales del producto final, no obstante, podría ser utilizado para realizar posibles modificaciones a los parámetros en los cuales se desvió del valor ideal.

Con respecto a los parámetros que presentaron mayor diferencia con el valor esperado, el aroma a apio fue evaluado como algo más intenso de lo esperado, con un valor de 6,59 siendo lo esperado un valor intermedio cercano a 5,0, el sabor a apio también fue evaluado como más intenso de lo esperado con un valor de 6,36 siendo lo esperado un valor cercano a 5,0. Para el parámetro olores extraños era lo esperado la ausencia total, sin embargo 4 jueces describieron sentir un leve olor terroso resultando un valor promedio de 0,58, este olor suele ser descrito como característico del apio crudo, también se

describió un leve sabor extraño con un valor 0,38, siendo lo esperado para este parámetro la ausencia, este sabor fue percibido por 3 jueces los cuales lo describieron como medicamentoso, esto puede ser explicado ya que la mezcla entre salado y dulce en bebidas deportivas suele tener un leve sabor medicamentoso, similar al suero de consumo oral. La astringencia también fue evaluada como más intensa de lo esperado con un valor promedio de 4,35 siendo lo esperado un valor cercano a 2.5, la astringencia es una sensación de sequedad en la boca con amargor característica del apio.

Para el color, aroma, sabor, textura, se obtuvo un promedio de 6,7; 5,9; 5,8; 6,2 respectivamente por parámetro, esto significa que el producto fue evaluado como “Bueno” pero cercano a “Muy bueno” para los atributos de color y textura y como “Satisfactorio” cercano a “Bueno” para los atributos de aroma y sabor. Con respecto a la calidad total esta fue evaluada como “Bueno” con un promedio de 6,1, esto da cuenta de que el jugo isotónico de apio cumple con los estándares de calidad sensorial a pesar de que en el perfil descriptivo el olor y el sabor fueron evaluados como más intensos.

## **6.-Evaluación sensorial panel FIA**

El promedio obtenido para la infusión de apio fue de 1,68, para el jugo isotónico de apio fue de 1,72 y para la sopa instantánea de apio se obtuvo un valor de 1,24. Estos 3 valores se encuentran dentro del nivel de aceptación “Me agrada mucho” a “Me agrada”. Además, el panel decidió que le agradaba más el producto desarrollado por este proyecto que la muestra comercial utilizada como control.

## **7.- Vida útil**

La harina de apio obtuvo un promedio de 14,86% de humedad luego del tiempo de almacenamiento (90 días) cumpliendo con el máximo permitido por el RSA que es un 15%, es posible que al utilizar harina con menor humedad antes de almacenar se aumente la vida útil de la harina.

La vida útil del jugo isotónico de apio pasteurizado térmicamente puede terminar debido a una serie de razones, de las cuales elegimos para evaluar carga microbiana y test sensorial. Los recuentos microbianos incluyeron el recuento total de placas, el nivel superior de carga microbiana aceptable establecido fue 103 UFC / ml. Utilizando este enfoque, la vida útil de los jugos frescos y pasteurizados fue de 7 y 98 días.

Después de 98 días, los exámenes microscópicos indicaron que los principales microorganismos en el jugo de naranja eran principalmente levadura y moho, ya que los

jugos cítricos son más susceptibles a la levadura y el deterioro del moho debido a su bajo pH y alto contenido de azúcar y vitaminas (Ingram, M. 1961).

El deterioro por levaduras en los jugos de frutas se caracteriza por la formación de CO<sub>2</sub> y alcohol. Las levaduras también pueden producir turbidez, floculación, películas y aglutinación. Las levaduras también produjeron pectinesterasas que degradan la pectina y causan deterioro, ácidos orgánicos y acetaldehído, que contribuyen a un "sabor fermentado". La presencia de levaduras en los jugos de fruta puede ser el resultado de fallas en la pasteurización del jugo de fruta y fallas en las prácticas de saneamiento.

Luego al conocer el tiempo de seguridad microbiana se realizaron las pruebas sensoriales del jugo pasteurizado, los experimentos sensoriales de vida útil para el jugo pasteurizado dan como resultado una vida útil de 49 días, en este tiempo de almacenamiento del jugo el 50% de los catadores calificó el jugo como inaceptable.

## Anexo 41: Bibliografía

- A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. 15th Edition. Washinton D.C., Estados Unidos.
- Arango, Daniel & Morohashi, Kengo & Yilmaz, Alper & Kuramochi, Kouji & Parihar, Arti & Brahimaj, Bledi & Grotewold, Erich & Doseff, Andrea. (2013). Molecular basis for the action of a dietary flavonoid revealed by the comprehensive identification of apigenin human targets. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 110.
- ASHURST, P. R. (2005). The chemistry and technology of soft drinks and fruit juices. 2th ed. Hereford, UK, Blackwell Publishing Ltd.
- AYALA-APONTE, A.A .Estimación de las isotermas de adsorción y del calor isostérico en harina de yuca. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 9 (1), 88 - 96. 2011.
- AYALA APONTE, ALFREDO & Serna, Liliana & RODRIGUEZ DE LA PAVA, GLORIA. (2011). Moisture adsorption isotherms in yellow pitahaya (*Selenicereusmegalanthus*). Dyna. 78. 7-14.
- Deng Q, Lu Z, Bohn J, Ellsworth K, Myers R, Geissler W, Harris G, Willoughby C, Chapman K, McKeever B, Mosley R, (2005). Modeling aided design of potent glycogen phosphorylase inhibitors. Journal of Molecular Graphics and Modelling 23: 457–464.
- Determinación de Escherichia coli - Método Recuento en Placa: ISO 16649-2:2001.
- Determinación de Enterobacterias - Técnica Recuento en Placa: NCh 2676 Of 2002.
- Detección de Listeria monocytogenes: M-109/VIDAS LM02, edición 01- Método basado en VIDAS LM02 validado por AFNOR BIO-12/11-03/04 - Técnica Mini VIDAS.
- Determinación de Microorganismos Aerobios Mesófilos - Técnica Recuento en Placa: NCh 2659.Of 2002.
- Detección de Salmonella spp.: M-108/VIDAS-SAL, EDICIÓN 01- Método basado en VIDAS Easy Salmonella, validado por AFNOR BIO-12/16-09/05. - Técnica Mini VIDAS.
- Determinación de Staphylococcus aureus coagulasa positiva - Técnica Recuento en Placa: NCh 2671.Of 2002.
- Erbay, Zafer & Icier, Filiz. (2009). Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. Journal of Food Engineering. 91. 533-541.
- Fibra Cruda: Q-012/FCR Ref: AOAC Official Methods of Analysis 962.09 % ENN = 100-(%humedad+%proteinas+%grasas+%Cenizas+%fibra cruda) KCalorias / 100 g = (% Proteina\*4) + (%Grasa\*9) + (%Carbohidratos Disponibles\*4)
- GÁLVEZ, A., IRELAND, C., MONDACA, R. (2007). Simulación matemática del proceso de secado de la gracilaria chilena (*gracilaria chilensis*). Revista chilena de ingeniería 15(1): 55-64.
- Gironés-Vilaplana, Amadeo & Villaño, Débora & Moreno, Diego A. & Cristina, Garcia-Viguera. (2013). New isotonic drinks with antioxidant and biological capacities from berries (maqui, açai and blackthorn) and lemon juice. International journal of food sciences and nutrition. 64. 897-906.

- HOPKINS, W. Y WOOD, M. (2006). The optimum composition for endurance sport drinks. *Sportscience* 10:59-62.
- Humedad y Cenizas por TGA: Q-901/TGA. Metodo basado en AOAC 19th Ed. 2012 y NCh 841 of 78.925.10-938.08-940.26-945.46-925.51-930.30-923.03. \*Fuera alcance acreditacion. (Factor proteína = 6,25)
- Ingram, M., Luthi, H. Microbiology of fruit juices. In *Fruit and Vegetable Juice Processing Technology*; Tressler, D. K., Joslyn, M. A., Eds.; Avi Publishing: Westport, CT, 1961; pp 117-163.
- Kim Y, Jeong Y, Wang M, Lee W, Rhee H. 2005. Inhibitory effect of pine extract on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition* 21:756-761.
- Labuza, T. P.; Schmidl, M. K. Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. *Cereal Foods World* 1998, 33 (2), 193-206.
- López-Alarcón, A., Ortíz, R., Benavides, J., Mura, E., Lissi, E. Use of the ORAC-pyrogallol red/ORAC fluorescein ratio to asses the quality of antioxidant in chilean wines. *Jorunal of the Chilean Chemical Society*, 2011. 56, N ° 3: 764 – 767.
- Lordan S, Smyth T, Soler A, Stanton C, Ross P. 2013. The  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. *Food Chemistry* 141: 2170-2176.
- Materia Grasa (Hidrólisis Acida): Q-208/MG: Ref: AOAC Official Methods of Analysis Método basado en A.O.A.C. OfficialMethods of Analysis, 19th edition 2012, 954.02, 948.15, 922.06.
- Mencherini, T., Cau, A., Bianco, G., Loggia, R. D., Aquino, R. P. and Autore, G. (2007), An extract of *Apium graveolens* var. dulce leaves: structure of the major constituent, apiin, and its anti-inflammatory properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59: 891–897.
- Mondaca, R., Ah-Hen, K., Gálvez, A., Honores, C., Moraga, N. *Stevia rebaudiana* leaves: Effect of drying process temperature on bioactive components, antioxidant capacity and natural sweeteners. *Plant Foods Hum Nutr*, 2015.
- Odoñez, J. A. (2005). *Tecnología de los alimentos. Volumen I.* Madrid, Editorial Síntesis S.A.
- Orrego, C. E. (2003). *Procesamiento de alimentos. I Edición.* Universidad nacional de Colombia sede Manizales.
- Palascios, N., Franco, L., Manonelles, P., Manuz, B., Billegas, J. (2008). Consenso sobre bebidas para el deportista. Composición y pautas de reposición de líquidos. Documentos de consenso de la federación española de medicina del deporte. 15(126): 245-258.
- Poblete, A., López-Alarcón, C., Lissi, E. Campos, A.M. Oxigen radical antioxidant capacity (ORAC) values of herbal teas obtained employing different methodologies can provide complementary data. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 2009. 54: 154 – 157.
- Polyák M, Varga G, Szilágyi B, Juhász L, Docsa T, Gergely P, Begum J, Hayes J, Somsák L. 2013. Synthesis, enzyme kinetics and computational evaluation of N-(b-D-glucopyranosyl) oxadiazolecarboxamides as glycogen phosphorylase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 21: 5738-5747

- Row, K., Han, D. Determination of luteolin and apigenin in celery using ultrasonic-assisted extraction based on aqueous solution of ionic liquid coupled with HPLC quantification. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011. 91: 2888 – 2892.
- Sompong W, Muangngam N, Kongpatpharnich A, Manacharoenlarp C, Amorworasin C, Suantawee T, Thilavech T, Adisakwattana S. 2016. The inhibitory activity of herbal medicines on the key enzymes and steps related to carbohydrate and lipid digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 16(1):439.
- Wen X, Sun H, Liu J, Cheng K, Zhang P, Zhang L, Hao J, Zhang L, Ni P, Zographos SE, Leonidas DD, Alexacou KM, Gimisis T, Hayes JM, Oikonomakos NG. 2008. Naturally occurring pentacyclic triterpenes as inhibitors of glycogen phosphorylase: synthesis, structure-activity relationships, and X-ray crystallographic studies. *Journal of Medicinal Chemistry*, 51 (12): 3540-3554.
- WOLF, W. (1985). Standardization of isotherm measurements (Cost- Project 90 and 90 BIS). In D. M. Simatos, *Properties of water in foods*. 661 – 679p.
- Zhang L, Chen X, Liu J, Zhu Q, Leng Y, Luo X, Jiang H, Liu H 2012. Discovery of novel dual-action antidiabetic agents that inhibit glycogen phosphorylase and activate glucokinase. *European Journal of Medicinal Chemistry* 58: 624-639.