



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

"Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)."

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magíster en Agroindustria, con mención en Tecnología de Alimentos

Autor:

Ing. Bryan David Escobar Vega

Tutora:

Ing. María Monserrath Morales Padilla MSc.

Cotutor:

Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.

LATACUNGA –ECUADOR

2023

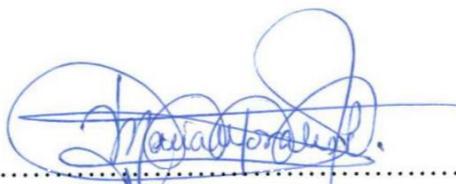
APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Titulación “Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).” presentado por Bryan David Escobar Vega, para optar por el título Magíster en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, junio,16,2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'María Monserrath Morales Padilla', written over a dotted line.

Ing. María Monserrath Morales Padilla MSc.

CC:1803691144

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación “Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).”, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, julio, 28, 2023



.....
Ing. Moreano Terán Nancy Fabiola Mg.

CC: 050335212-2

Presidente del tribunal.



.....
Ing. Zambrano Ochoa Zoila Eliana. Mg.

CC: 050177393-1

Lector 2.



.....
Ing. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal. Mg.

CC: 050186485-4

Lector 3.

DEDICATORIA

El éxito no se mide por los logros, sino por los obstáculos que superas.

Dedico un sueño más alcanzado en memoria de mi abuelo Julio Escobar que siempre confió en mí, a mis padres Rosa Vega, Marcelo Escobar, a mi hermana Adriana quien con su apoyo he logrado alcanzar un escalón más de mi vida, a Mishell Arévalo, quien, con su amor, paciencia me alentó en los momentos más duros y ahora quiero verte yo triunfar, y a mis mentores quien con sus conocimientos me ayudaron a concluir mi investigación.

David Escobar

AGRADECIMIENTO

Agradezco a los docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi por compartir sus conocimientos para poder formarme como un excelente profesional, a la Ing. María Monserrath Morales Padilla MSc, tutora de la investigación y a la Ing. María Teresa Pacheco Tigselema, PhD.coturora de la investigación.

David Escobar Vega

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, Junio, 16, 2023



Bryan David Escobar Vega
CC: 1804772935

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, Junio, 16, 2023



Bryan David Escobar Vega
CC: 1804772935

AVAL DEL PRESIDENTE

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: "Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)." contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los miembros del tribunal en la predefensa.

Latacunga, Julio, 28,2023



.....
Ing. Moreano Terán Nancy Fabiola Mg.

CC: 050335212-2

Presidente del tribunal.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Título: Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

Autor: Ing. Bryan David Escobar Vega

Tutora: Ing. María Monserrath Morales Padilla MSc.

RESUMEN

El presente proyecto tiene como propósito determinar la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, en una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*), durante en el proceso de fermentación, se utilizó cálices deshidratados y frescos cultivados por la empresa SERVIFUMIAGRO S.A. en la ciudad de Loja- Ecuador, donde se determinó los parámetros físico-químicos, como también el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu con una longitud de onda de 764 nm y la capacidad antioxidante por el método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo con una longitud de onda de 516 nm, recolectado muestras cada 5 días desde el inicio de su fermentación hasta el día 15, teniendo un total de 24 muestras, los factores estudiados son Factor A: Cálices deshidratados, cálices frescos y factor B: Periodos de tiempo de fermentación (1 día, día 5, 10 días y 15 días). Para la elaboración de este proyecto se aplicó un diseño experimental bajo un arreglo factorial AxB, se registró para el procesamiento de datos en el software Statgraphics Versión 16.1.03, cuyos resultados fueron: Para la bebida alcohólica de cálices deshidratados de Jamaica los sólidos solubles del día uno es de $21,5 \pm 0,01^*$ °Brix y al día quince $12,3 \pm 0,02^*$ °Brix, su pH en el día uno es de 2,7 y al día 15 de 2,3 , los fenoles totales al primer día es de 72,12 mg EAG/ml y al día 15 es 71,56 mg EAG/ml y la capacidad antioxidante en el primer día se registra 106,24 % DPPH y para el día 15 se registra 104,01 % DPPH, mientras para la bebida alcohólica con cálices frescos de Jamaica los sólidos solubles en el primer día es de $22,6 \pm 0,01^*$ °Brix y para el día 15 se registra un $13,9 \pm 0,01^*$ °Brix, el pH inicia con un 3,9 y finaliza con 3,6, para el contenido de fenoles totales al primer día se registra un 53, 37 mg EAG/ml y finaliza al día 15 con un 52,01 mg EAG/ml y en la capacidad antioxidante en el primer día se registra el 92,06 % DPPH y finaliza con un 90,12 % DPPH, con estos resultados indica que en el proceso de fermentación disminuye la estabilidad de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

PALABRAS CLAVE: Fenoles totales, capacidad antioxidante y fermentación.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Title: Stability of phenolic compounds and antioxidant capacity of an alcoholic beverage from Jamaican calyces (*Hibiscus Sabdariffa*).

Author: Bryan David Escobar Vega

Tutor: Ing. María Monserrath Morales Padilla MSc.

ABSTRACT

The purpose of this project is to determine the stability of phenolic compounds and antioxidant capacity, in an alcoholic beverage made from Jamaican calyces (*Hibiscus Sabdariffa*). During the fermentation process, dehydrated and fresh calyces cultivated by the company SERVIFUMIAGRO S.A. were used. in the city of Loja- Ecuador, where the physical-chemical parameters were determined, as well as the content of total phenols by the Folin-Ciocalteu method with a wavelength of 764 nm and the antioxidant capacity by the 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo method with a length 516 nm waveform, samples were collected every 5 days from the start of fermentation to day 15, having a total of 24 samples, the factors studied are Factor A: Dehydrated calyces, fresh calyces and Factor B: Fermentation time periods (1 day, 5 days , 10 days and 15 days). For the elaboration of this project, an experimental design was applied under an AxB factorial arrangement, it was registered for data processing in the Statgraphics Version 16.1.03 software, whose results were: For the alcoholic beverage from dried Jamaican calyces, the soluble solids on day one are $21.5 \pm 0.01^*$ °Brix and on day fifteen $12.3 \pm 0.02^*$ °Brix, its pH on day one is 2, 7 and on day 15 of 2.3, the total phenols on the first day is 72.12 mg EAG/ml and on day 15 it is 71.56 mg EAG/ml and the antioxidant capacity on the first day is 106.24. %DPPH and for day 15 104.01% DPPH is recorded, while for the alcoholic beverage with fresh calyces from Jamaica the soluble solids on the first day is $22.6 \pm 0.01^*$ °Brix and for day 15 a $13.9 \pm 0.01^*$ °Brix is registered, the pH starts with a 3.9 and ends with 3.6, for the content of total phenols on the first day a 53.37 mg EAG/ml is registered and ends on day 15 with a 52.01 mg EAG/ml and in the antioxidant capacity in the first day 92.06% DPPH is recorded and ends with 90.12% DPPH, with these results it indicates that the stability of phenolic compounds and antioxidant capacity decreases in the fermentation process.

KEYWORD: Total phenols, antioxidant capacity and fermentation.

Yo, **Mena Alarcon Jennifer Adriana** con cédula de identidad número **1804902896** Licenciado en Ciencias de la Educación mención Inglés con número de registro de la **SENESCYT 1010-2022-2542315**; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título “Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).” de: Bryan David Escobar Vega, aspirante a magister en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos.

Latacunga, Julio, 20, 2023



Lic.: Mena Alarcon Jennifer Adriana
CC:180490289-6

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
HIPÓTESIS.....	4
Hipótesis nula	4
Hipótesis alternativa	4
OBJETIVOS	5
Objetivo general	5
Objetivos específicos.....	5
CAPÍTULO I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	6
1.1. Antecedentes	6
1.2. Marco teórico	7
<u>1.2.1. Cálices de flor de Jamaica (<i>Hibiscus Sabdariffa</i>)</u>	<u>7</u>
<u>1.2.2. Botánica.</u>	<u>8</u>
1.2.3. Composición química.....	8
1.2.4. Usos.....	9
1.2.5. Estado de la materia prima.....	10
1.2.6. Compuestos bioactivos (<i>Hibiscus Sabdariffa</i>).....	10
1.2.7. Capacidad antioxidante	10
1.2.8. Compuestos fenólicos (<i>Hibiscus Sabdariffa</i>).....	12
1.2.8.1. Degradación de compuestos hidroxibenceno.	12
1.2.8.2. Clasificación.	13
1.2.9. Antocianinas.....	13
1.2.10. Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	14
1.2.10.1. Contenido fenólico (Folin-Ciocalteu).....	14
1.2.10.2. Capacidad Antioxidante.....	14

1.2.11. Bebida alcohólica (Vino)	15
1.2.11.1. Etapas de producción de una bebida alcohólica	15
1.2.11.1.1. Preparación de la materia prima	15
1.2.11.1.2. Inoculación de levaduras	16
1.2.11.1.3. Fermentación.	16
1.2.11.1.4. Trasiego y Clarificación.	17
CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1. Modalidad o enfoque de la investigación.....	18
2.2. Tipo de investigación.	18
2.2.1. Investigación exploratoria	18
2.2.2. Investigación experimental.....	18
2.2.3. Investigación bibliográfica	19
2.3. Métodos de investigación.....	19
2.4. Técnicas de investigación.....	20
2.5. Instrumentos de investigación.....	20
2.6. Procedimiento para la elaboración de una bebida alcohólica	22
2.6.1. Recepción de materia prima	22
2.6.2. Pesado.	22
2.6.4. Maceración.	22
2.6.5. Preparación de mosto.....	22
2.6.7. Fermentación.	23
2.6.8. Trasiego.	23
2.6.9. Inactivación de levaduras	24
2.6.10. Clarificación.	24
2.6.11. Embotellado y pasteurizado.....	24
2.7. Diagrama de flujo para la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino.	25

2.8. Análisis físico-químicos en la fermentación	26
2.9. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante	26
2.9.1. Contenido de fenoles totales	26
2.9.1.1. Método Folin-Ciocalteu	27
2.9.2. Capacidad antioxidante	27
2.9.2.1. Método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)	28
2.10. Diseño experimental	28
2.11. Cuadro de variables	28
2.12. Modelo matemático	29
2.13. Esquema de campo	29
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1. Análisis fisicoquímicos	30
3.2. Determinación de fenoles totales	33
3.3. Determinación de capacidad antioxidante	37
3.4. Validación de hipótesis	40
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
CONCLUSIONES	42
RECOMENDACIONES	43
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS.	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de los cálices de Jamaica	9
Tabla 2. Polifenoles y fenoles	9
Tabla 3. Estado de comercialización de los cálices de Jamaica	10
Tabla N 4. Propiedades de los compuestos fenólicos	12
Tabla N 5. Clasificación general de fenoles	13
Tabla N 6. Factores de la degradación de antocianinas	14

Tabla N 7. Condiciones óptimas para la producción de vino. E vino.....	16
Tabla N 8. Cambios durante la fermentación.....	17
Tabla N 9. Materiales, equipos y reactivos utilizados.....	21
Tabla N. 10. Variables de estudio.....	28
Tabla N. 11 ANOVA AxB.....	29
Tabla N 12. Diseño factorial AxB.....	29
Tabla N 13. Pruebas fisicoquímicas durante el proceso de fermentación.....	30
Tabla N 14. Análisis de varianza para fenoles totales	34
Tabla N 15. Prueba LSD de los fenoles totales en cálices deshidratados	35
Tabla N 16. Prueba LSD de los fenoles totales en cálices fresca.....	35
Tabla N 17. Análisis de varianza para la capacidad antioxidante.....	38
Tabla N 18. Prueba LSD de la capacidad antioxidante en cálices deshidratados	39
Tabla N 19. Prueba LSD de la capacidad antioxidante en cálices frescas	39
Tabla N 20. Comparación de análisis físico-químicos	42

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración N1. Morfología de la Jamaica	8
Ilustración N 2. Clasificación de los antioxidantes	11
Ilustración N 3. pH en los 15 días de fermentación	30
Ilustración N4. Medición del pH durante la fermentación en cálices frescos.....	31
Ilustración N 5. Medición °Brix durante la fermentación en cálices deshidratados... 31	
Ilustración N 6. Medición del °Brix durante la fermentación en cálices frescos	32
Ilustración N 7. Curva de calibración de fenoles totales en cálices deshidratados	33
Ilustración N 8. Curva de calibración de los fenoles totales en cálices frescos	34
Ilustración N 9. Estabilidad de fenoles en cálices deshidratados y cálices	37
Ilustración N 10. Curvas de calibración de la capacidad antioxidante.....	37
Ilustración N 11. Curvas de calibración de la capacidad antioxidante c, frescos	38

INFORMACIÓN GENERAL:

Título del Proyecto: “Estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).”

Línea de investigación: Procesos industriales.

El desarrollo de la investigación se basa en la transformación de la materia prima, con el proceso fermentativo, que permitirá obtener una bebida alcohólica tipo vino de cálices de Jamaica, la investigación se basa en la estabilidad de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en diferentes periodos de tiempos establecidos.

Sublínea de investigación:

L1. Optimización de procesos Agroindustriales: Mejores condiciones de procesos para la optimización de recursos de manera más eficiente, en la investigación se realizará en el proceso fermentativo, de tal modo que se analizará los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, en diferentes periodos de tiempo que permitirá conocer su estabilidad.

L2. Desarrollo y seguridad Alimentaria: Destinados al accesos físico y económico para la obtención de un alimento inocuo y nutritivo para satisfacción de necesidades., Los cálices de Jamaica tendrá un proceso Agroindustrial, obteniendo una bebida alcohólica tipo vino, siendo un producto nutricional, por los compuestos que tiene los cálices.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos bioactivos entre ellos los antioxidantes y fenoles, han sido el centro de atención de varias investigaciones, por las diferentes propiedades medicinales que contiene cada una de ellas, es un elemento muy importante en la vida del ser humano otorgando un gran aporte a la salud, en la actualidad llevan incorporándose nuevas alternativas para su aprovechamiento, por lo que los cálices de Jamaica han sido implementado en la dieta diaria por su gran contenido de compuestos bioactivos. (Torres, 2022).

Los cálices de Jamaica contienen una alta cantidad de compuestos antioxidantes como: terpenos, compuestos flavonoides, vitaminas, carotenoides, entre otros (Jiménez et al., 2022). La dieta de los hidroxíbencenos se encuentra entre 0,06 g a 0,8 g., propiciando efectos antimicrobianos, diuréticos, cardioprotectores y anticancerígenos (Askin et al, 2019). Además, los compuestos bioactivos presentes en los cálices de Jamaica, propagan la reacción oxidativa de los lípidos por medio de neutralización y la absorción de los elevados radicales libres, por lo que son considerados nocivos en el metabolismo del ser humano. (Torres, 2022).

El contenido fenólico es responsable de varias propiedades para la salud, la Jamaica presenta un alto contenido de antocianinas en su estructura denominada cianidina-3-sambubiosido y crisanteina, de igual manera presenta una gran cantidad de actividad antioxidante que contribuye a la calidad nutricional, siendo una bebida funcional, en la fermentación los compuestos pueden disminuir afectando su estabilidad como también la calidad química del producto. (Minatel et al., 2017).

Los hidroxíbencenos o compuestos fenólicos, se identifican por sus características de sus estructuras como: antiocianidinas, flavonas, flavononas y flavonoles, los cálices contienen un porcentaje elevado de antocianinas que son pigmentos solubles, y son responsables de su coloración característico, siendo importante su madurez. (Chen & Küçüköner, 2019).

Los compuestos de la Jamaica como la capacidad antioxidante, son responsables de retrasar la oxidación de moléculas como lípidos por la propagación de la reacción oxidativa a través de la absorción de los radicales libres siendo nocivas en su metabolismo, presentado elevados niveles de fibra dietética y compuestos fenólicos. (Prasetyoputri et al, 2021).

Los fenoles totales y la capacidad antioxidante, tiene grandes aportes para la salud contrarrestando enfermedades degenerativas como cáncer, hipertensión y colesterol lo que se convierte en un producto cardioprotector (López-Nahuatt et al., 2020).

En el Ecuador se ha fomentado el cultivo de los cálices de Jamaica en diferentes sectores que oscilan su temperatura entre 14°C y 40°C, al no tener un proceso agroindustrial, se lo comercializa al granel, el objetivo de la investigación es evaluar la estabilidad de los compuestos bioactivos durante en el proceso de la fermentación.

JUSTIFICACIÓN.

El cultivo de los cálices de Jamaica en el Ecuador es incentivado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, siendo una nueva fuente de ingresos para muchos productores, los mismos que buscan alternativas para poder comercializar y generar nuevas fuentes de empleo (Torres, 2022)., La investigación realizada se utilizó cálices de Jamaica cultivadas en la ciudad de Loja-Ecuador por la empresa SERVIFUMIAGRO S.A., con una producción de 190 kg de cálices de Jamaica en una cosecha de cuatro meses.

Los compuestos fenólicos y antioxidante en los cálices de Jamaica aportan diferentes propiedades que contrarrestan algunas enfermedades como; cardiovasculares, diuréticas, antiinflamatorias y cáncer, generando de esta manera un gran interés por el estudio de los compuestos bioactivos, incluso se a aprovechado los cálices en la producción de productos tradicionales como: bebidas refrescantes, mermeladas, infusiones entre otros. (Deryi et al., 2018).

Sin embargo, al ser industrializado los cálices de Jamaica, existen información limitada sobre la estabilidad de los compuestos bioactivos de los productos ya mencionados, por ello se pretende realizar un análisis de la estabilidad de los fenoles totales como también la capacidad antioxidante durante la fermentación con datos actualizados, con el objetivo de estudiar en diferentes periodos de tiempos e identificar si la estabilidad de compuestos de fenoles y capacidad antioxidante puede o no variar en la fermentación y puede afectar la calidad del producto mientras cumple los diferentes procesos para la obtención del vino.

La investigación cuenta con el apoyo de la Empresa SERVIFUMIAGRO, con materia prima seleccionada para el estudio, comprometida a ofrecer los mejores productos en no solo calidad si no también en su sustentabilidad ecológica, de igual manera el soporte técnico de docentes y las instalaciones de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Ecuador el rendimiento por hectárea de materia fresca se encuentra entre las 14 y 15 TM/Ha, en la región amazónica, mientras que en la región costa cuenta con 30 TM/Ha, y la región sierra cuenta con apenas 8 TM/Ha (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2016). La producción de cálices de Jamaica realizada por la empresa Servifumiagro S.A., busca una alternativa para transformar su materia prima en productos innovadores, procurando mantener la estabilidad de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de su materia prima.

Los altos compuestos bioactivos presentes en los cálices de Jamaica, como los fenoles totales constituyen el 30 y 60% en los cálices y el 40% constituye a la capacidad antioxidante, son un gran aporte para la salud del ser humano, por lo cual han transformado esta materia prima en productos funcionales que son comercializados en la actualidad (López-Astorga et al., 2023).

Existen diferentes estudios realizados en la estabilidad de los compuestos bioactivos, Según Moreno, (2020), reporta una información inicial de 212,48 mg EAG., de una

bebida de cálices de Jamaica y obtiene una reducción del 55,25% de compuestos bioactivos durante su almacenamiento.

Según Cornejo & Párraga (2021), “Capacidad antioxidante y contenido fenólico de una bebida a base de la flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)”, elabora una bebida funcional realizando con los cálices de Jamaica, recolectando información sumamente necesaria con un contenido fenólico de 671 mg EAG y su capacidad antioxidante de 50,45 μmol ET con muestras de 100 g., esta información se recolecta en un tiempo de 30 días de la conservación del producto. sin tomar en cuenta proceso de fermentación.

Los diferentes factores que se debe tomar en cuenta en el estudio de la estabilidad, son parámetros muy importantes como la presencia de ácido, azúcares, condiciones de elaboración y almacenamiento, temperaturas, entre otros., diferentes estudios concuerdan con los factores de variación que influyen en sus investigaciones.

El problema se centra en el estudio de la estabilidad durante la fermentación, ya que en la actualidad se desconoce el comportamiento de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en la etapa mencionada. De tal manera que se pretende dar respuesta a la siguiente interrogante ¿Cuál es el comportamiento de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, durante el proceso de fermentación de una bebida alcohólica tipo vino de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)?

HIPÓTESIS

Hipótesis nula

Los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante no disminuyen su estabilidad en el proceso de fermentación de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

Hipótesis alternativa

Los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante disminuyen su estabilidad en el proceso de fermentación de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, en una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

Objetivos Específicos

- Elaborar una bebida alcohólica de cálices de Jamaica analizando su proceso en los dos tipos de cálices de Jamaica (Deshidratada y fresca).
- Evaluar el proceso de fermentación y las propiedades físico-químicas de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).
- Analizar la estabilidad de compuesto fenólicos totales y la capacidad antioxidante durante en el periodo de tiempo de fermentación de la bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

CAPÍTULO I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. Antecedentes

Coello et al. (2019, p. 10) en su investigación “Comparación de compuestos fenólicos totales en (*Hibiscus sabdariffa L.*) Venezuela.”, refiere a la comparación de los compuestos bioactivos que demuestran que las diferentes condiciones como la temperatura, luz, etapa de madurez e incluso el origen y especie afectan al contenido fenólico y capacidad antioxidante con una diferencia estadística de $p < 0,05$ significativa, en la elaboración de una bebida funcional.

En la investigación realizada como “Estudio de la capacidad antioxidante y contenido polifenoles en el proceso de clarificación de vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) utilizando cálices frescos”, indican que el proceso de fermentación libera una gran cantidad de compuestos fenólicos de 79.13 mg ácido gálico en el mosto a un 144.15 mg ácido gálico del mosto fermentado y su actividad antioxidante de 8,21 μM Trolox a un 8,62 μM Trolox (Zamora et al., 2018, p. 120).

El autor del artículo “Capacidad antioxidante y contenido fenólico de una bebida a base de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)”, evalúa los compuestos bioactivos en tres concentraciones 0,5% , 1 % y 1,5%, siendo su unidad experimental de 500 ml, recopilando información de los fenoles totales con el T1 628 mg EGA/100 g, T2 675 mg EGA/100 g y T3 712 mg EGA/100 g, de esta manera obteniendo un promedio de 671 mg EGA/100 g , mientras que en la capacidad antioxidante T1 58,05 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$, T2 44,2 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$ y T3 48,11 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$, con un promedio de 50,12 $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$, el estudio se realizado al finalizar la fermentación y menciona al ser un producto fermentativo ocurren interacción fisicoquímicas con otros compuestos presentes en la bebida (Cornejo, 2021, p. 24).

El objetivo en “Stuffy of the stability of the antioxidants of the flor de Jamaica’s wine (*Hibiscus Sabdariffa L.*) under storage”, el objetivo de la investigación se centra en la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante su

almacenamiento de 14 días a diferentes temperaturas de refrigeración de 6 °C y 20 °C, en la recopilación de información del contenido de polifenoles en la temperatura de refrigeración cuenta con un inicial de 139,32 mg EGA/100 g y finaliza con un contenido de 135,36 mg EGA/100 g, mientras que en el almacenamiento a temperatura ambiente parte con un contenido de compuestos fenólicos de 138,32 mg EGA/100 g y termina con 140,95 mg EGA/100 g, en la capacidad antioxidante inicia con un 8,21 2 μmol ET/100g y finaliza con un 7,692 μmol ET/100g a temperatura de 20°C y a temperatura de 6°C inicia con un 8,21 2 μmol ET/100g y tiene un resultado de 6.732 μmol ET/100g, el autor concluye que el almacenamiento a temperatura ambiente garantiza la calidad del producto (López et al., 2019, p 85).

Nahuatt et al.(2020, p 22) en su investigación “Actividad hemolítica, antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de cálices de Jamaica” analizaron el contenido de los compuestos fenólico y antioxidante en diferentes variedades, en la “cruz negra” una de sus muestras aporta en gran cantidad los compuestos bioactivos, en fenoles totales obtiene un valor de 41,1 mg AGE/g y DPPH de 261 μmol TE/g . Al ser evaluados las diferentes muestras proponen la utilización del extracto como una alternativa alimentaria para la prolongación de la vida de anaquel de los productos, por su alto contenido de compuestos fenólicos.

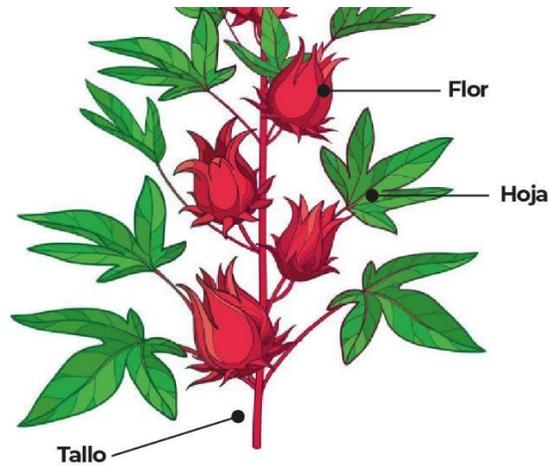
1.2. Marco teórico

1.2.1. Cálices de flor de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*).

En diferentes países a los cálices de Jamaica se los conoce como Roselle, flor de Jamaica, quetmi entre otros, su cosecha se lo realiza anualmente, el aprovechamiento del arbusto son los cálices carnosos con gran cantidad de propiedades bioactivas, teniendo un alto contenido nutricional y farmacéutico (Iza, 2018).

Ilustración N1.

Morfología de la Jamaica.



Fuente: (Iza, 2018).

1.2.2. Botánica.

El arbusto de Jamaica mide alrededor de dos a tres metros de altura, mientras que los cálices adquieren su forma característica tanto de color rojo y jugosos que miden de tres a cinco centímetros, formando un collar por cinco sépalos que se lo conoce como epicáliz, su desarrollo se realiza en regiones tropicales, con suelos áridos y semiáridos, el cultivo debe ser técnico con el objetivo de prevenir pequeños arbustos con escasos follajes (Carvajal, 2017).

1.2.3. Composición química.

La actividad antioxidante como los compuestos bioactivos que lo conforman tienen un alto porcentaje de contenido de antocianinas con un punto cinco por ciento, polisacáridos el 50 %, ácidos orgánicos de 15-30 %, flavonoides, saponinas, pectina y fibra, en los cálices tienen componentes como: magnesio, zinc y calcio a más de ello el aporte vitamínico es muy alto en compuesto como: B1, E, D y C (Vega, et al, 2020).

Tabla 1.

Composición química de los cálices de Jamaica.

Datos expresados en g por cada 100.	
Cenizas.	11,29
Proteínas.	8.11
Lípidos.	10.99
Carbohidratos Totales.	0.82
Fibra dietética soluble.	34,81
Polisacáridos	8,76

Fuente: (Zamora, 2016).

Tabla 2.

Polifenoles y fenoles.

Datos expresados en mg equivalentes de ácido gálico g-1.	
Polifenoles extraíbles	38,29
Polifenoles hidrosolubles.	11.6
Taninos condensados	3.3

Fuente: (Zamora, 2016).

1.2.4. Usos.

La utilización con más frecuente es en la preparación infusiones o incluso de manera de refresco embotellado, en la actualidad la Agroindustria ha permitido en la innovación de los cálices de Jamaica, teniendo polvo como pigmento, salsa, mermelada entre otros, por su gran aporte de fibra. (Servicio de información Agroalimentaria y pesquera, 2019). También se ha utilizado como medicina alternativa, con la finalidad de tratar enfermedades cardiovasculares, niveles altos de grasa específicamente en la sangre, con propiedades antioxidantes (Fosado, 2021).

1.2.5. Estado de la materia prima.

Tabla 3.

Estado de comercialización de los cálices de Jamaica

	Deshidratados.	Frescos.
Humedad	10 – 12 %	90,40%
pH	1.93	3.24
Solidos Solubles	5.14 °Brix	8.40 °Brix
Acidez titulable	1.50%	3.87%

Fuente: DECLARATORIA de vigencia de la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010.

1.2.6. Compuestos bioactivos (*Hibiscus Sabdariffa*).

Proviene de origen vegetal en cantidades pequeñas, de esta manera su actividad tanto celular como fisiológica son aprovechadas por el organismo del ser humano, teniendo grandes beneficios para su salud. (Martínez, 2015). La capacidad antioxidante de los cálices de Jamaica es captada por radicales libres, reduciendo su efecto de sustancias fitoquímicas que puede ser perjudiciales (Zamora, 2018).

1.2.7. Capacidad antioxidante.

Las sustancias presentes en los antioxidantes son grupos hidroxilos y anillos aromáticos pertenecientes a los compuestos fenólicos, de tal manera que cumplen diversas funciones específicas como el color característico de la Jamaica y su sabor (Cornejo, 2021). El ácido protocatéquico es el principal compuesto de los antioxidantes, presentes en los cálices, brindando propiedades en la salud, los polifenoles disminuyen

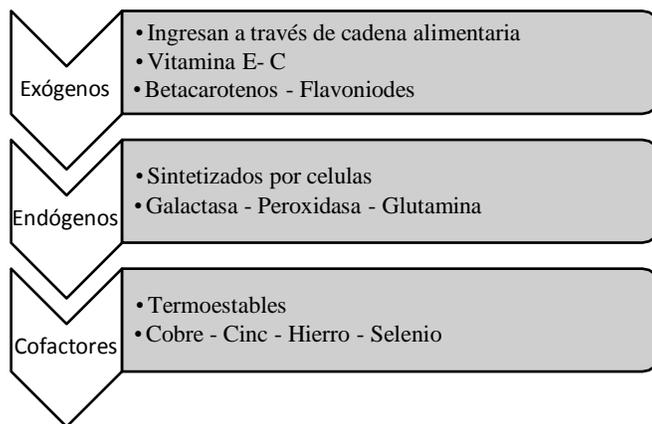
el peróxido en los lípidos, de esta manera inhibe la formación de cáncer en el organismo del ser humano y también en enfermedades cardiovasculares como neurodegenerativas (Sáyago-Ayerdi et al., 2017).

La presencia de los antioxidantes tiene como propósito a la producción de radicales libres, que son moléculas que tienen el objetivo de retardar la oxidación o incluso prevenirla, presentando dos principales mecanismos de polifenoles presentes en los cálices (Valdez et al., 2019).

- Los antioxidantes primarios ceden electrones, después de su ruptura.
- Las especies reactivas de nitrógeno y de oxígeno son eliminadas por el catalizador inicial.

Ilustración N 2.

Clasificación de los antioxidantes.



Fuente: (López et al., 2019).

La capacidad antioxidante de los cálices se encuentra determinada por la estabilidad luego de la ruptura de la cadena de los radicales libres, como también su reactividad de antioxidantes y la capacidad de reacción, por la presencia de compuestos poli fenólicos, fenólicos y antocianinas (López et al., 2019).

1.2.8. Compuestos fenólicos (*Hibiscus Sabdariffa*).

Son considerados como metabolitos secundarios, se caracteriza por la presencia de un anillo aromático del grupo hidroxilo que favorece a su actividad fenólica, teniendo la capacidad de neutralizar por su alto contenido de compuestos antioxidantes, con una gran actividad de captador de radicales libres, conocida como estructura-actividad (Jiménez et al., 2022).

Los beneficios que aporta los compuestos fenólicos de los cálices de Jamaica comprenden propiedades antienviejimiento, antiinflamatorio, cardioprotectores, antidiabéticos, reduciendo el riesgo del desarrollo de estas enfermedades (Valdez et al., 2019).

Tabla N 4.

Propiedades de los compuestos fenólicos.

Ítem.	P. Organolépticas.	Descripción.
1	Color.	Anticionadinas: Rojo, azul, violeta.
2	Astringencia.	Taninos hidrolizados.
3	Sabor.	Flavononas (Amargo)
4	Aroma	Eugenol.

Fuente: (Creus, 2017).

Las condiciones de producción y almacenamiento son factores responsables de la estabilidad de los compuestos bioactivos (Zamora et al., 2019).

1.2.8.1. Degradación de compuestos hidroxibenceno.

Cuando los factores como la temperatura y el tiempo son elevados, genera el proceso oxidativo, teniendo como resultado la degradación de los compuestos hidroxibencenos, de esta manera hay que tomar en cuenta el proceso pasteurización (Valdez et al., 2019).

1.2.8.2. Clasificación.

Los compuestos fenólicos están clasificados por su diversidad de estructuras, de manera general se dividen en no flavonoides y flavonoides

Tabla N 5.

Clasificación general de fenoles.

Ítem	Clasificación	Descripción
1	Flavonoides	Taninos. - Lignanós.
	C6-C3-C6	Flavonoles. -Antocianos.
2	No flavonoides	Ácidos fenoles.
		Fenoles no carboxílicos.

Fuente: (López et al., 2019).

En los cálices de la Jamaica se encuentran presentes los compuestos isómeros, clorogénicos y fenólicos, también se encuentran presentes los ácidos como; cafeico, gálico y protocatéquico que son derivados de los compuestos y los tipos flavonoides se encuentran la quercetina, glucósidos y proantocianidinas (López et al., 2019).

1.2.9. Antocianinas.

Las antocianinas pertenecen al grupo de los fenoles, contienen una unidad de glucósido por la unión de la molécula de antocianina con azúcar, la cantidad de hidroxilo y metoxilo son responsables del color característico en los cálices de Jamaica, si existe la presencia de enrojecimiento en el extracto está constituida por grupos metoxilo, mientras si su color es azulado tiene en mayor cantidad grupos hidroxilos (Valdez et al., 2019).

Una alternativa en los alimentos funcionales, se encuentra en la utilización de pigmentos naturales, las antocianinas tienen como propósito reemplazar los pigmentos sintéticos en la industria alimentaria (López et al., 2019).

Las principales antocianinas presentes en los cálices de Jamaica por su extenso grupo de hidroxilos y metoxilo se encuentran la delfinidina-3-sambubiosido y cianidina, que tiene como color característico rojo, representando el 87% de antocianinas de los cálices aportando en la salud como agentes anti colesterol e hipertensivas (Vuolo et al., 2019).

Tabla N 6.

Factores de la degradación de antocianinas.

ÍTEM.	FACTOR.	DESCRIPCIÓN.
1	Oxígeno.	Acelera la degradación mediante el proceso oxidativo.
2	pH.	Estables en pH. Ácido. Inestable en pH, Alcalinos.
3	Temperatura.	Delfinidina sensible a temperaturas elevadas. Cianidina sensible a temperaturas frías.
4	Enzima	Glucosidasas romperá el enlace glucosídico.

Fuente: (Sinela et al., 2017).

1.2.10. Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

1.2.10.1. Contenido fenólico (Folin-Ciocalteu)

El reactivo Folin-Ciocalteu determina el contenido de compuestos fenólicos siendo el método el más utilizado en el área de alimentos (Recalde, 2018). Su medición se realiza por espectrofotometría con una absorbancia de 763 nm con resultados expresados en la equivalencia de ácido gálico, esta reacción se lo conoce como óxido/reducción que se trata en la reducción de un ion fenolato de esta manera se obtiene como resultado un molibdeno de color azul (Vuolo et al., 2016).

1.2.10.2. Capacidad Antioxidante.

El método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) se determina cualitativamente para medir la capacidad de reacción con los captadores de radicales libres, se cuantifica por

estándares de antioxidantes por Trolox, ácido gálico como también ascórbico (Vidana et al., 2021), estos estándares provocan la formación de hidracina, es decir que el radical con valencia no pareada forma un puente de nitrógeno, donde reduce el átomo de hidrógeno de los antioxidantes, teniendo un cambio de color en la solución de violeta a un color amarillo (Jiménez et al., 2019).

El método se lo expresa como equivalente de Trolox, la técnica a utilizar es por espectrofotometría con una absorbancia de 516 nm, una de sus desventajas es su interpretación, por el espectro de absorbancia de su radical y su ventaja es la facilidad de utilizar el equipo (Saranraj et al., 2020).

1.2.11. Bebida alcohólica (Vino)

Los cambios producidos por las diferentes enzimas, se le conoce como acción catalizadora es decir al proceso de fermentación que se lo realiza de la materia orgánica a compuestos simples, siendo superior al 5% de alcohol. (Recalde, 2018).

1.2.11.1. Etapas de producción de una bebida alcohólica.

Las diferentes etapas del procesamiento para realizar una bebida alcohólica corresponden a las siguientes;

- Preparación de materia prima.
- Inoculación de levaduras.
- Fermentación alcohólica.
- Trasiego y clasificación,
-

1.2.11.1.1. Preparación de la materia prima.

El 60 a 70% de preparación del mosto se lo obtiene a través de diferentes métodos, en los cálices de Jamaica se utiliza la maceración, con el propósito de aprovechar todos sus compuestos bioactivos como también su capacidad antioxidante (Muñoz 2017), al

realizar un tratamiento térmico el grupo hidroxilo desdobra todos sus componentes dando más eficacia al mosto para su producción (Recalde, 2018).

1.2.11.1.2. Inoculación de levaduras.

La concentración óptima de °Brix se encuentra en un 22% de su producción de mostos, reaccionando componentes necesarios para su inoculación como el dióxido de carbono y etanol que son indispensable para el crecimiento de las levaduras (Covas, 2018).

Tabla N 7.

Condiciones óptimas para la producción de vino.

Ítem	Parámetros	Condiciones
1	Temperatura	18 y 21 °C
2	pH	4,5 y 6,5 Min. 2,0 y Max. 8.0
3	Oxígeno	Anaerobio.

Fuente: (Muñoz, 2017.)

1.2.11.1.3. Fermentación.

El proceso central de la producción de la bebida fermentada se encuentra en este punto, por lo tanto, las levaduras transforman del mosto preparado en alcohol etílico tomando en cuenta que este proceso se le denomina fermentación. Por cada 100 gramos de azúcar se convierte en 49 gramos de dióxido de carbono y 51 gramos en alcohol etílico (Burini et al., 2020).

Tabla N 8.

Cambios durante la fermentación.

Ítem	Composición del mosto.	Transformación.
1	Agua.	Agua.
2	Azúcar	CO ₂ , Alcoholes etílicos y metílico.
3	Sustancias fenólicas	Sustancias pectinas, pentosas.
4	Sustancias nitrogenadas.	Sustancias nitrogenadas.

Fuente: (Burini et al., 2020).

1.2.11.1.4. Trasiego y Clarificación.

El objetivo del trasiego es retirar o eliminar todo residuo solido que se encuentra sedimentado en el fondo del fermentador, el proceso se los realizar en dos fases, la primera se lo realiza después de su fermentación después de 15 días y posterior se lo deja reposar por 15 días más para eliminar todo el contenido de sólidos (Burini et al., 2020).

La clarificación se lo realiza después de 30 días, con el propósito de la eliminación de los diferentes solidos suspendidos, se puede utilizar algunas sustancias tales como la gelatina, bentonita entre otros, para su finalización se lo debe pasteurizar a 65 °C en un promedio de tiempo de 6 min (Muñoz, 2017).

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Modalidad o enfoque de la investigación.

La presente investigación tiene como enfoque cuantitativo, al tener como objetivo el estudio la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes en una bebida alcohólica, mediante la recolección de información durante el proceso de fermentación con el método Folin-Ciocalteu (mg EGA/ml) para los fenoles totales , mientras para la capacidad antioxidante se utiliza el método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo expresado en ($\mu\text{mol ET}$), el procedimiento se lo realizó en un periodo de tiempo de 15 días, recolectando muestras cada 5 días para su análisis de estabilidad.

2.2. Tipo de investigación.

2.2.1. Investigación exploratoria.

Según Álvarez-Risco (2020), es un estudio que busca identificar campos de investigación que ayuden a resolver problemas o factores analizados.

La determinación de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante, presentes en una bebida alcohólica el estudio se centra en el proceso de fermentación con el propósito de analizar la estabilidad de los fenólicos.

2.2.2. Investigación experimental.

Según Alonso (2016), el enfoque experimental manipula una o más variables, con el objetivo de determinar los efecto o causas presentes en los análisis.

Dicha investigación tiene como enfoque experimental, ya que se realizó la determinación de contenido fenólico como también la capacidad antioxidante para poder determinar su estabilidad o comportamiento en el proceso de fermentación en un periodo de 15 días.

2.2.3. Investigación bibliográfica.

Según Guirao Goris (2015), la investigación bibliográfica permite identificar el tema de interés para conocer que se sabe y que se desconoce del tema haciendo uso de los estudios y observaciones anteriores de manera analítica a partir de fuentes como: artículos científicos, libros y tesis.

En la presente investigación se recopila información necesaria sobre el contenido de compuestos fenólicos en cálices de Jamaica con relación al tema, la mayoría se encuentra con fuentes bibliográficas de artículos científicos que permite conocer la estabilidad y comportamiento de estos compuestos bioactivos.

2.3. Métodos de investigación.

2.3.1. Método Científico.

Dicho método fue de mucha importancia dado que brindó mayor objetividad y validez a los resultados obtenidos, permitiendo validar la experimentación a través de respuestas comprobables sobre el tipo de estudio (De Hoyos Benítez, 2019).

2.3.2. Deductivo.

Según Prieto Bayron (2017), extraer conclusiones a partir de una serie de principios.

Este método ayuda a entender de una mejor manera la estabilidad de los compuestos bioactivos y análisis físico-químicos en la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino de cálices de Jamaica deshidratados y frescos.

2.3.3. Método empírico.

En la investigación es importante observar las propiedades finales de la bebida alcohólica de cálices de Jamaica y necesario realizar experimentos y registrar los datos obtenidos para determinar si en el proceso de fermentación existe una disminución de los compuestos bioactivos. (Argüelles et al., 2021).

2.4. Técnicas de investigación.

2.4.1. Recopilación de datos estadísticos.

El enfoque de la investigación es cualitativo y experimental, ya que se recopiló información en función de las determinaciones analíticas según estándar y se registró para el procesamiento de datos en el software Statgraphics Versión 16.1.03, dando mayor exactitud en su análisis de variables, tomando en consideración la comparación con datos científicos de referencia.

2.4.2. Observación.

Se hace uso de esta técnica debido a que se realiza toma de muestras en diferentes periodos de tiempo, para observar si la fermentación se encuentra en sus condiciones óptimas.

2.5. Instrumentos de investigación.

El instrumento de investigación utilizado en la presente investigación es por medio de fichas, al proporcionar la observación directa del objeto de estudio en su elemento extrayendo con una mayor cantidad de información, con la finalidad de recolectar y realizar un análisis estadístico para posterior su análisis de la estabilidad de los fenoles totales y capacidad antioxidante.

2.5.1. Materiales, equipos y reactivos.

Tabla N 9.

Materiales, equipos y reactivos utilizados.

Ítem	Materiales.	Reactivos.	Equipos.
1	Balanza.	Agua destilada.	Refractómetro.
2	Probeta.	Folin Ciocalteau.	pHmetro
3	Vasos de precipitación. 50 y 100 mL.	Trolox. Etanol.	Espectrofotómetro.
4	Envases plásticos.	Acido gálico.	Colorímetro.
5	Jarras plásticas.	Metabisulfito de potasio.	Congelador.
6	Botellones.	Vitamina B.	Cocina Industrial.
7	Matraz.	Bentonita de sodio.	Licadora semi industrial.
8	Goteros.		Termómetro
9	Tubos de ensayo.		
10	Botellas ámbar.		
11	Mangueras.		
13	Pipeta.		
14	Reverbero.		
15	Ollas de 70 lt.		
16	Sifones.		
17	Tapones.		
18	Tela Negra.		
19	Corchos.		
20	Capuchones.		
21	Azúcar.		
22	Levaduras 25 g.		

Fuente: (Escobar, 2023)

2.5.2. Materia prima

Cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) en estado deshidratado y fresco.

2.6. Procedimiento para la elaboración de una bebida alcoholica.

2.6.1. Recepción de materia prima.

La materia prima utilizada fue proporcionada por la empresa SERVIFUMIAGRO S.A., los cálices de Jamaica se encuentran con una humedad del 11%, y la acidez titulable del 1,30% y pH con un de 2,7, en los cálices frescos con una humedad de 89%, y la acidez titulable de 3,15% y un pH de 3,9.

2.6.2. Pesado.

Para el proceso se utilizó 4 kg de materia prima en estado deshidratado y fresco, con el propósito de aprovechar los compuestos bioactivos.

2.6.3. Lavado.

Se eliminaron los desechos sólidos externos a los cálices como: polvo, ramas, hojas e insectos.

2.6.4. Maceración.

En la etapa de maceración se incorporó la materia prima pesada previamente con 28 litros de agua con una relación 1:7 a una temperatura de 65 °C y se deja macerar por 24 horas.

2.6.5. Preparación de mosto.

-En la preparación de mosto, se licua los cálices de Jamaica con la finalidad de homogenizar le mezcla, el licuado se realiza por 1 min, seguidamente se tamiza eliminando de esta manera todos los sólidos.

-La temperatura del mosto debe estar entre 20 a 24 °C.

-Se recolecta una muestra para realizar los análisis fisicoquímicos como el pH y solidos solubles.

-Para ajustar el contenido de sólidos solubles a 22 °Brix, se toma en cuenta la siguiente fórmula, para el cálculo de la cantidad de azúcar adicionar:

$$^{\circ}\text{Brix} = (x * 100) / V1$$

Donde:

X=Adición de azúcar.

°Brix= Porcentaje disuelta en la solución.

V1= Volumen de solución. (Sobottka et al., 2017).

2.6.6. Adición de Vitamina B.

Se adiciona 1,4 g de vitamina B para 28 litros de mostos, con el propósito de fortificar el mosto para un mejor desarrollo de las levaduras, se incorporó la levadura Lalvin – Bourgovin RC 212, en una proporción de 5 g para 28 L de mosto.

2.6.7. Fermentación.

Las condiciones de fermentación el mosto se debe tomar en cuenta la temperatura de 20 a 24 °C, su almacenamiento en un lugar oscuro con una humedad de 60 y 75% HR, para que la evaporación sea al mínimo, en condiciones anaerobias, la fermentación se llevó a cabo durante 15 días hasta alcanzar un descenso de grados Brix de 12.3 °Brix para cálices deshidratados y 13,2 °Brix para cálices frescos.

2.6.8. Trasiago.

Después de la fermentación se realiza el trasiago utilizando tela lienzo, y se lo filtra a otro recipiente, con el propósito de separar la biomasa y que el producto evolucione en aroma.

2.6.9. Inactivación de levaduras.

Se adiciona 2,8 g de metabisulfito de potasio en 26 litros de vino de cálices de Jamaica.

La función del metabisulfito de potasio es inactivar las levaduras deteniendo el proceso de fermentación.

2.6.10. Clarificación.

Se le agregó 3,6 g. de bentonita de sodio en los 26 litros.

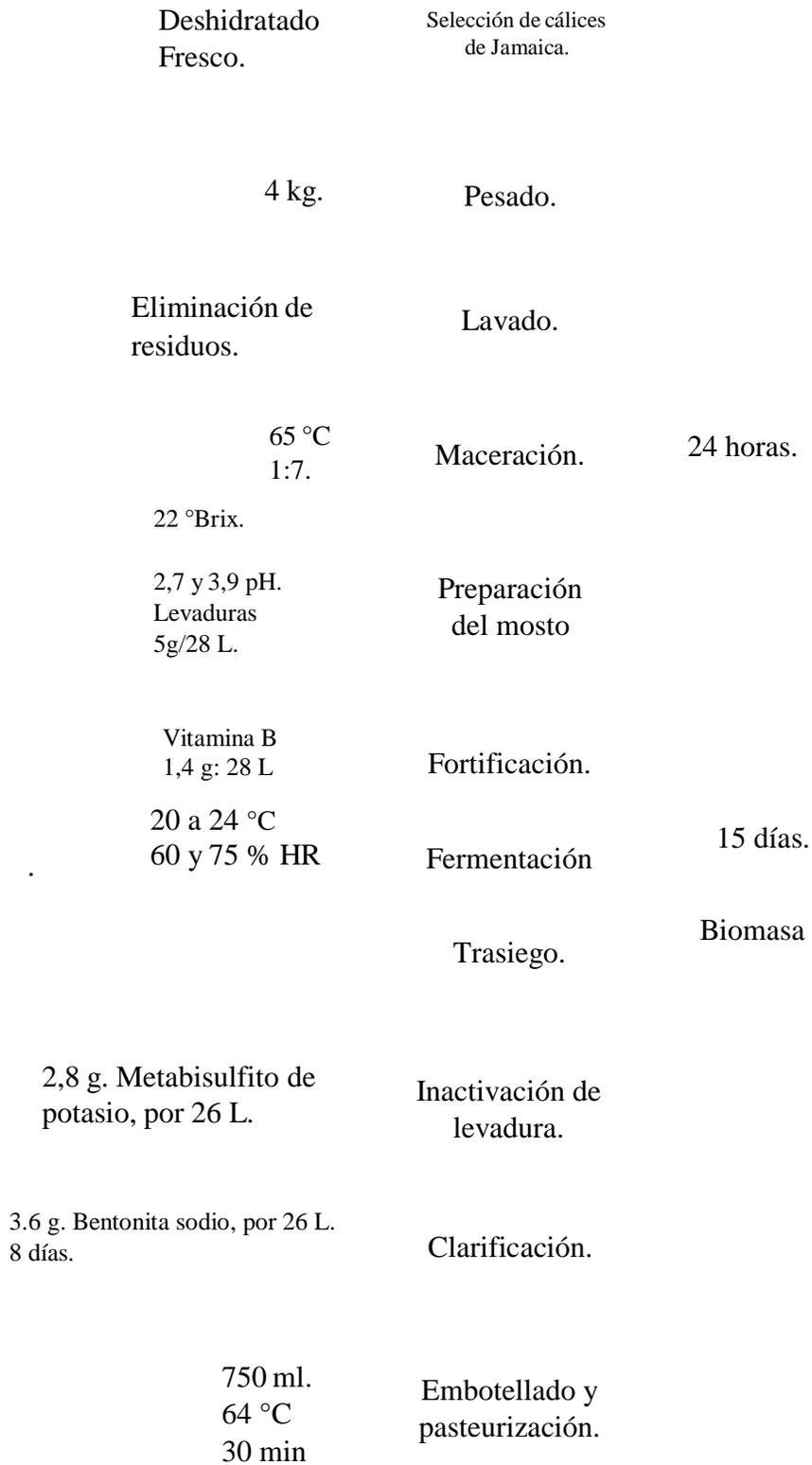
La finalidad del proceso de clarificación es decir obtener una tonalidad más clara del producto final, dejando reposar por 8 días.

2.6.11. Embotellado y pasteurizado.

Se utilizó botellas ámbar de 750 ml para el envasado y el proceso de pasteurización se realizó dentro de la botella a 64 °C. por 30 min, después de ello se realiza el enfriamiento para posterior encorcharlo.

2.7. Diagrama de flujo para la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino.

Inicio

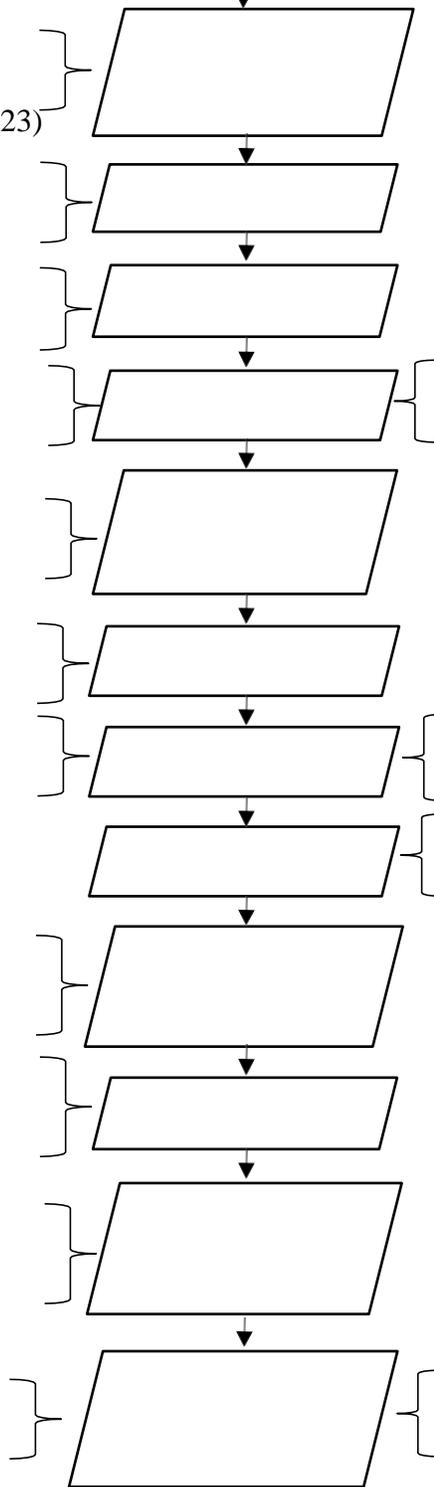


1 ml de muestra

Medir grado
alcohólico

5 % C. Deshidratados.
5,5 % C. Frescos.

Fuente: (Escobar, 2023)



2.8. Análisis físico-químicos en la fermentación.

Los análisis físico-químicos se realizaron una toma de muestras cada 5 días durante el proceso de fermentación, tanto de la bebida alcohólica de cálices deshidratados como también de cálices frescos, se realizó el análisis fisicoquímico de: pH utilizando el método de potenciometría OIV-MA-AS313-02, con tres repeticiones y la medición de los sólidos solubles según la NTE-INEN-2173 con tres repeticiones.

2.9. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

El estudio de la estabilidad de los compuestos bioactivos se realizó tomando muestras cada cinco días, desde el inicio del proceso de fermentación hasta el final, durante un periodo de tiempo de 15 días, con una toma de muestras cada 5 días del proceso de fermentación de cálices deshidratados y cálices frescos con tres replicas.

2.9.1. Contenido de fenoles totales.

Para la determinación del contenido de fenoles totales se utiliza el método Folin-Ciocalteu propuesto por Singleton et al., (1999) con ciertas modificaciones y es expresado en mg de ácido gálico en base a la ecuación 1.

$$\frac{PT}{V*FD} = \frac{bas+b}{a} * \frac{1}{PM*1000} \quad [1]$$

Donde:

- **a** = Pendiente.
- **b** = Intercepto.
- **bas** = Absorbancia obtenida del espectrofotómetro.
- **PM** = Peso de la muestra (mL).
- **V** = Volumen total del extracto (mL).
- **FD** = Factor de dilución.

2.9.1.1. Método Folin-Ciocalteu.

- Se coloca 400 µL de muestra y 400 µL de blanco en tubos de ensayo previamente esterilizados.
- Añadir 500 µL de reactivo Folin-Ciocalteu diluyendo con 8 ml de agua destilada.
- Agitar durante 2 minutos y reposar por 7 – 8 minutos en la oscuridad.
- Colocar 1400 µL de carbonato de sodio para homogenizar cada tubo de ensayo.
- Calentar las muestras a 40°C a baño maría durante 30 minutos.
- Se realiza la lectura en el espectrómetro con una longitud de onda de 764 nm. (Singleton et al., 1999).

2.9.2. Capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante se determina por el método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), planteado por Brand-Williams et al., (1995). se expresa en µmol trolox/g de en base a la ecuación 2.

$$DPPH = \frac{abs-b}{a} * \frac{V}{PM*1000} \quad [2]$$
$$Abs = (Blm - Absm)$$

Donde:

- **Abs** = Absorbancia obtenida del espectrofotómetro.
- **b** = Pendiente.
- **a** = Intercepto.
- **V** = Volumen total del extracto (mL).
- **PM** = Peso de la muestra (mL).
- **BIM** = Blanco de la muestra.
- **Abs real** = Absorbancia real.
- **AbsM** = Absorbancia de la muestra.

2.9.2.1. Método 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

- Adicionar 2.9 mL de reactivo de color con 100 µL de extracto, se homogeniza y se deja reposar por 25 a 30 min en la oscuridad.
- La preparación del blanco se lo realiza con la adición de 2.9 mL de reactivo de color, mas 150 µL de metanol con una concentración del 25%, se homogeniza y se lo deja reposar durante 25 a 30 min.
- Se realiza la lectura por medio del espectrofotómetro con una longitud de onda de 516 nm. (Brand-Williams et al., 1995).

2.10. Diseño experimental.

Para el estudio del análisis de la estabilidad de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante se aplicará un diseño experimental, con un arreglo factorial AxB, la parte experimental tendrá tres repeticiones, contabilizando ocho unidades experimentales con un total de 24 muestras para compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, para el procesamiento de información se utilizó el programa informático Statgraphics Versión 16.1.03

2.11. Cuadro de variables.

Tabla N. 10.

Variables de estudio.

Variable Dep.	Variable independiente.	Indicadores.	Medición.
Bebida alcohólica de cálices de Jamaica (<i>Hibiscus</i> <i>Sabdariffa</i>).	*Factores de tiempo. (0,5,10 y 15 días)	Análisis químicos.	físico pH.
	*Materia prima. deshidratada y fresca.	Determinación de compuestos fenólicos.	Solidos solubles. de Folin-Ciocalteu.
		Capacidad antioxidante	2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH)

Fuente: (Escobar, 2023)

2.12. Modelo matemático.

Para el diseño factorial se utilizará ANOVA descrita de la siguiente manera.

Tabla N. 11

ANOVA AxB

F de V	GL	SC
E. EXP.	Diferencia	SC TOT – SC TRAT
AXB.	(a-1) * (b-1)	SC TRAT – SC A – SC B
A.	a-1	
B.	b-1	
TRATAMIENTO.	(a*b)-1	$\frac{\Sigma(Xi1^2 + xin^2)}{r * a} - FC$
TOTAL	(a*b*r)-1	$\Sigma(x1^2 + \dots + xn^2) - FC$

Fuente: (Guanochanga, 2022).

2.13. Esquema de campo.

El diseño factorial AxB , se definió como el factor A: cálices deshidratados y frescos y el factor B: Tiempo de fermentación, con un total de 8 muestras con tres repeticiones durante los 15 días.

Tabla N 12.

Diseño factorial AxB

Ítem	Deshidratadas	Frescas
1	T1d: a1b1 (FT, CA + 0 días)	T1f: a2b1 (FT, CA + 0 días)
2	T2d: a1b2 (FT, CA + 5 días)	T2f: a2b2 (FT, CA + 5 días)
3	T3d: a1b3 (FT, CA + 10 días)	T3f: a2b3 (FT, CA + 10 días)
4	T4d: a1b4 (FT, CA + 15 días)	T4f: a2b4 (FT, CA + 15 días)

Fuente: (Escobar, 2023)

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis fisicoquímicos.

En la elaboración de una bebida alcohólica de cálices de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*), se recolectó información en el proceso de fermentación de: el pH y sólidos solubles en los diferentes lapsos de tiempo como se muestra en la tabla N. 13

Tabla N 13.

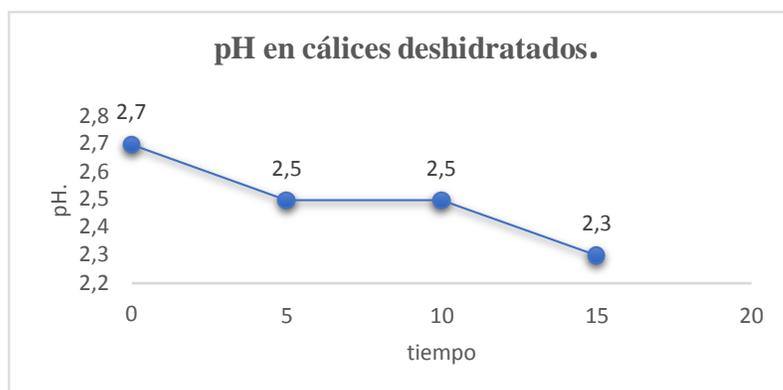
Análisis fisicoquímicos durante el proceso de fermentación.

Días	Deshidratada		Fresca	
	°Brix	pH.	°Brix	pH.
0	21,5 ± 0,01*	2,7 ± 0,00*	22,6 ± 0,01*	3,9 ± 0,00*
5	19,3 ± 0,02*	2,5 ± 0,05*	18,5 ± 0,04*	3,8 ± 0,01*
10	14,6 ± 0,03*	2,5 ± 0,03*	15,1 ± 0,01*	3,8 ± 0,02*
15	12,3 ± 0,02*	2,3 ± 0,00*	13,2 ± 0,01*	3,6 ± 0,00*

Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N 3.

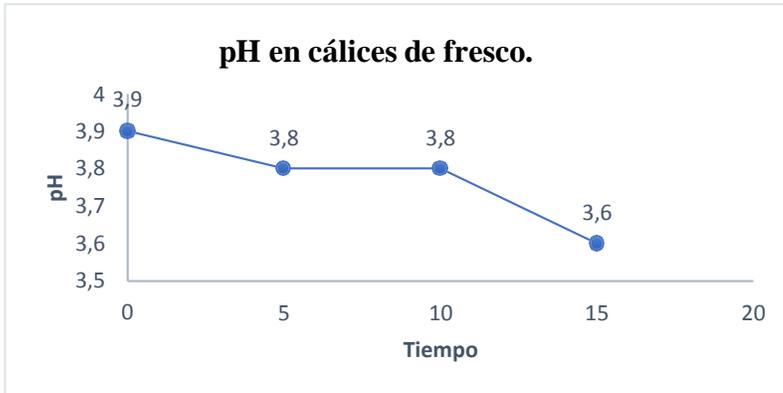
Medición del pH durante la fermentación en cálices deshidratados.



Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N4.

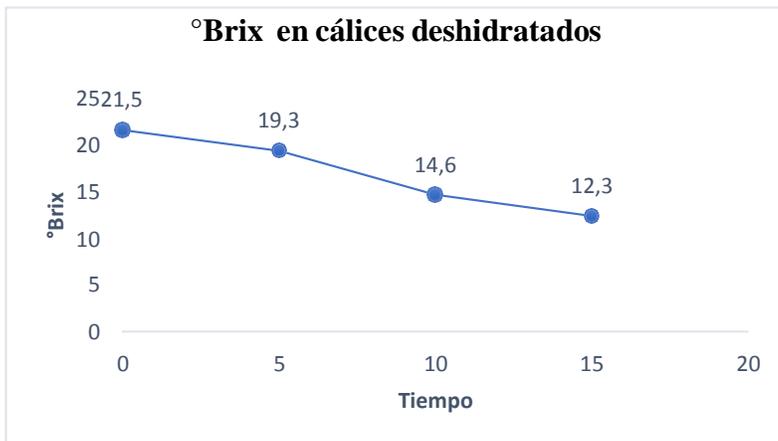
Medición del pH durante la fermentación en cálices frescos.



Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N 5.

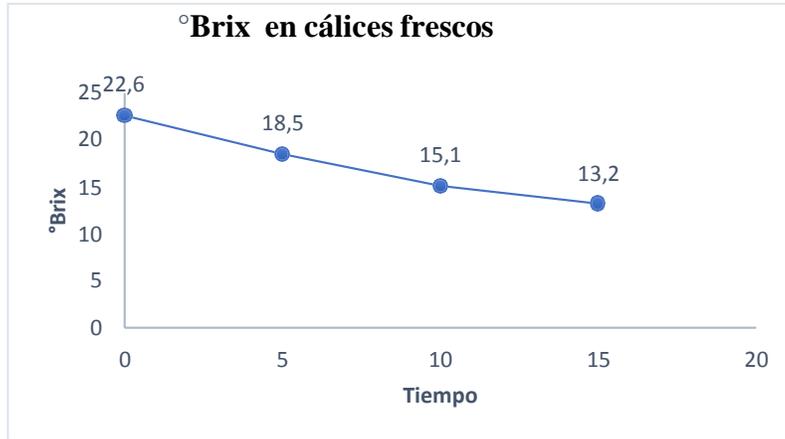
Medición del °Brix durante la fermentación en cálices deshidratados.



Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N 6.

Medición del °Brix durante la fermentación en cálices frescos.



Fuente: (Escobar, 2023).

Los valores obtenidos en los análisis físico-químicos, se pudo observar que el pH y los sólidos solubles tiene una disminución, esto se debe a la transformación de azúcar en etanol y CO₂. Méndez, (2018)., los resultados de la fermentación de la bebida alcohólica con cálices deshidratados y frescos se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la NTE INEN 372.

Al comparar los valores obtenidos de pH con las investigaciones de Calina et al., (2017), “ Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de bebidas elaboradas con panela” se obtuvo un promedio de $2,38 \pm 0,04$ de pH mientras que en la investigación de Rioja Antezana et al., (2018) registran un valor medio de pH de 3,60 en el estudio de “Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida de flores de Jamaica”, la variación de los resultados presentados por diferentes autores en comparación al pH registrado durante el proceso de fermentación de cálices de Jamaica deshidratadas y fresca se observa una disminución de valor debido a la transformación de los componentes del mosto a ácidos orgánicos.

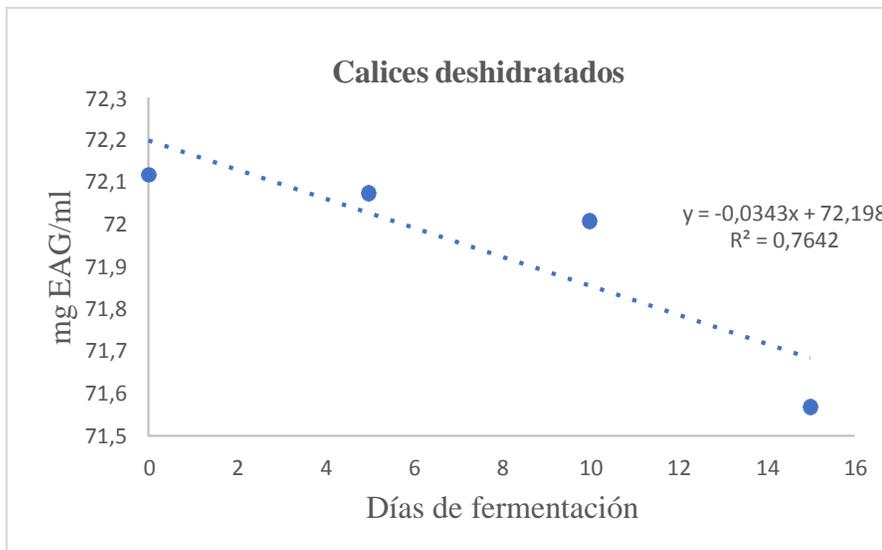
Al comparar el contenido de sólidos solubles (°Brix) con las investigaciones, de Salinas-Moreno, (2017) el valor de °Brix en la “Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*)” depende de la relación del extracto con agua, los °Brix en la investigación se obtuvo un valor de 12,3 °Brix y en los cálices frescos el valor de 13,2 °Brix, Según Méndez, (2018) argumenta que el responsable de la reducción de los sólidos solubles son las levaduras que realizan una fermentación alcohólica.

3.2. Determinación de fenoles totales.

Para la determinación de compuestos de fenoles totales, se utiliza el espectrofotómetro, con una longitud de onda de 764 nm, a diferentes concentraciones de 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 mg/ml con una disolución de ácido gálico de 10 mg/ml., obteniendo el contenido de fenoles totales de los cálices de Jamaica deshidratados y frescos. Anexo E.

Ilustración N 7.

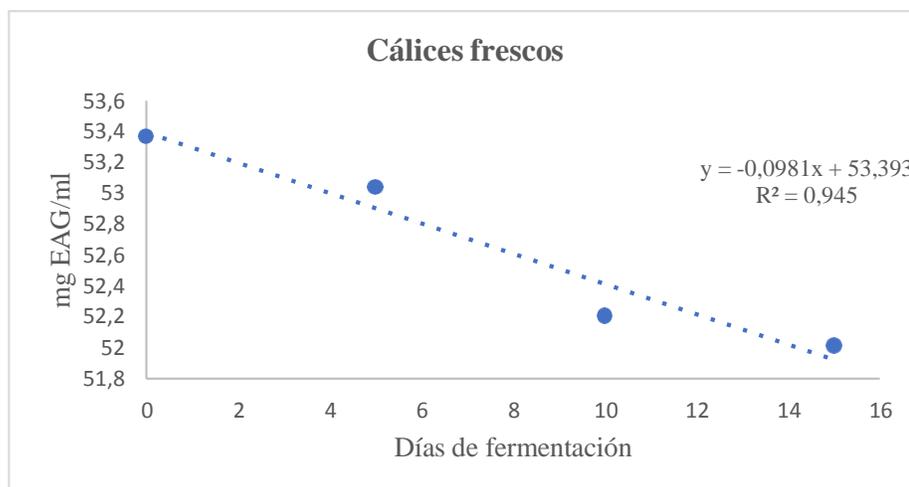
Curva de calibración de los fenoles totales en cálices deshidratados.



Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N 8.

Curva de calibración de los fenoles totales en cálices frescos.



Fuente: (Escobar, 2023).

El análisis de varianza se lo realiza en el programa informático Statgraphics Versión 16.1.03, ingresando los datos obtenidos de la curva de calibración de cálices de Jamaica deshidratados y frescos Anexo G.

Tabla N 14.

Análisis de varianza para fenoles totales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
FACTOR A	2231,08	1	2231,08	40023,81	0,0000
FACTOR B	3,35938	3	1,11979	20,09	0,0000
RESIDUOS	1,05913	19	0,0557439		
TOTAL	2235,5	23			

Fuente: (Escobar, 2023).

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de mg EAG/ml en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que un valor-P es menor que 0,05 ($p < 0,05$), este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre mg, EAG/ml con un 95,0% de nivel de confianza, los resultados múltiples se muestran en la tabla N. 15 y 16, en las medidas correspondientes al tiempo.

Tabla N 15.

Prueba LSD de los fenoles totales en cálices deshidratados.

Tiempo	Media	
	F/enoles totales	Grupos Homogéneos
	mg EAG/ml	
0	72,12	X
5	72,07	X
10	72,01	X
15	71,57	X

Fuente: (Escobar, 2023).

Se ha utilizado el software Statgraphics Versión 16.1.03 en el cual se ha realizado el estudio de la estabilidad de los fenoles totales, por lo que refleja una variabilidad durante los 15 días de fermentación, para ello se empleó la prueba de múltiple rango, que muestra una diferencia significativa.

Tabla N 16.

Prueba LSD de los fenoles totales en cálices fresca.

Tiempo	Media	
	Fenoles totales	Grupos Homogéneos
	mg EAG/ml	
0	53,37	X
5	53,04	X
10	52,21	X
15	52,01	X

Fuente: (Escobar, 2023).

En la bebida alcohólica de cálices de Jamaica en estado fresco, se utilizó el mismo software de la tabla N 15, observando que desde el día 0 al día 5 se mantuvo la estabilidad de los fenoles totales, no obstante, del día 10 al día 15 existe una disminución de la estabilidad de los compuestos bioactivos.

La estabilidad en el proceso de fermentación existe una disminución significativa de 0,50 mg EAG/ml, en cálices deshidratados y en cálices frescos existe una disminución de 1,34 mg EAG/ml., como podemos observar en la Ilustración N 9., según Preciado (2018), quien realiza su estudio en la elaboración de una bebida a base de flores de Jamaica secas, reporta el valor 0,71 mg EAG/ml., de extracto al final de la estabilidad de compuestos fenólicos.

Los resultados obtenidos de las variaciones pueden ser ocasionados por dos factores específicos como: el estado de los cálices de Jamaica como también la formulación que se utiliza, el 30% de los compuestos fenólicos que son asociados con la fibra dietética soluble que se encuentran presentes en la materia prima. (Sáyago et al., 2018).

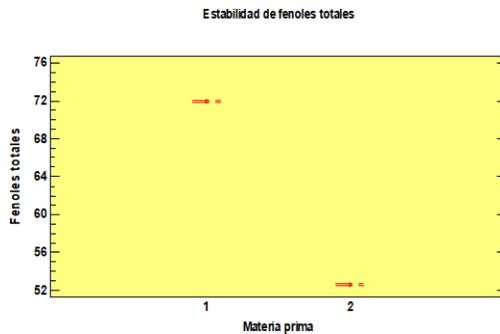
Según Coelho et al., (2020), en su investigación del “Estudio de la estabilidad de fenoles totales, en la elaboración de una bebida alcohólica a base de té verde”, presenta una reducción del 0.60 mg EAG/ml hasta el final de su fermentación en un periodo de 17 días, Wojdylo et al, (2017), reporta una reducción del 0.14 mg EAG/ml de su investigación de “Antioxidant property and storage stability of quince juice phenolic compounds”.

El impacto nutricional y sensorial se ve afectado por las levaduras en el proceso de fermentación, de esta manera la transformación de azúcares a etanol y CO₂, en el proceso final de fermentación, se ve afectada en la estabilidad de compuestos fenólicos, Sobottka et al., (2017) en su investigación “Characterization and evaluation of stability of bioactive compounds in fruit smoothies”, tiene una disminución del 1,28 mg EAG/ml en el almacenamiento por 45 días a una temperatura de 25 °C.

Existe una alternativa para la estabilidad de los compuestos fenólicos, que se encarga de aumentar su estabilidad y es en la incorporación de estevia sustituyendo al azúcar, disminuyendo la tasa de degradación (Torres, 2022).

Ilustración N 9.

Estabilidad de fenoles totales en cálices deshidratados y cálices frescos.



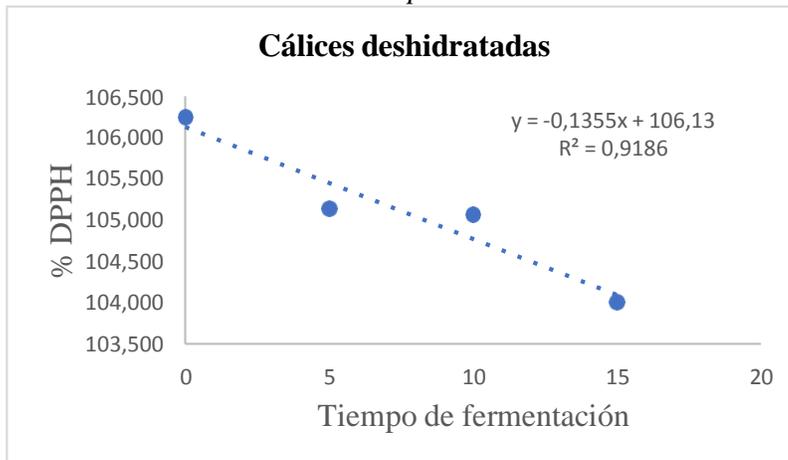
Fuente: (Escobar, 2023),

3.3. Determinación de capacidad antioxidante.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se determinó mediante el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), utilizando el espectrofotómetro con una longitud de onda de 516 nm, y el etanol se utilizó como blanco, obteniendo el contenido de la capacidad antioxidante de los cálices de Jamaica deshidratados y frescos. Anexo F

Ilustración N 10.

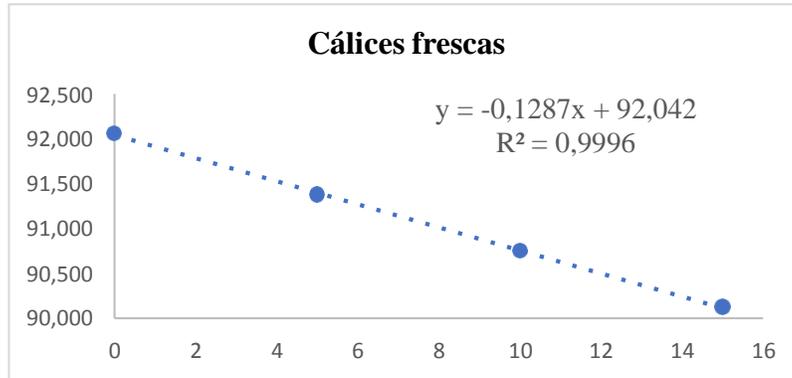
Curvas de calibración de la capacidad antioxidante en cálices deshidratados.



Fuente: (Escobar, 2023).

Ilustración N 11.

Curvas de calibración de la capacidad antioxidante en cálices frescos.



Fuente: (Escobar, 2023).

En el estudio de la estabilidad de la capacidad antioxidante se realizó el análisis de la varianza ANOVA, de la bebida alcohólica de Jamaica con los cálices frescos, como también con los cálices deshidratados.

Tabla N 17.

Análisis de varianza para la capacidad antioxidante.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Factor A	1182,17	1	1182,17	76580,9	0,0000
Factor B	13,4094	3	4,46981	289,55	0,0000
RESIDUOS	0,2933	19	0,0154368		
TOTAL	1195,87	23			

Fuente: (Escobar, 2023)

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de % DPPH en contribuciones debidas a varios factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05 ($p < 0,05$), estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre % DPPH con un 95,0% de nivel de confianza, los diferentes resultados múltiples se muestran en la tabla N 18 y 19, en las mismas medidas de tiempo.

Tabla N 18.

Prueba LSD de la capacidad antioxidante en cálices deshidratados.

Media		
Tiempo	Capacidad Antioxidante	Grupos Homogéneos
% DPPH		
0	106,24	X
5	105,13	X
10	105,06	X
15	104,01	X

Fuente: (Escobar, 2023).

Los análisis realizados para la capacidad antioxidante en la bebida alcohólica con cálices de Jamaica deshidratados se pudieron observar que existe una disminución desde el día 0 al día 5, de esta manera no mantenido su capacidad antioxidante hasta el final de su fermentación.

Tabla N 19.

Prueba LSD de la capacidad antioxidante en cálices frescas.

Media		
Tiempo	Capacidad Antioxidante	Grupos Homogéneos
% DPPH		
0	92,06	X
5	91,59	X
10	90,75	X
15	90,12	X

Fuente: (Escobar, 2023).

En la bebida alcohólica de cálices de Jamaica frescas, disminuye un valor significativo desde el día 0 hasta el día 5, no obstante, no mantiene su capacidad antioxidante hasta el final de su fermentación.

En los resultados estadísticos obtenidos de la capacidad antioxidante en la bebida alcohólica en cálices de Jamaica en estado deshidratado, se observó una disminución de 106,24 % DPPH a un 104,01 % DPPH, desde el día 0 hasta el día 15, de igual manera

la bebida realizada con cálices frescos tiene un valor de 92,06 % DPPH a un 90,12 %DPPH de descenso, como podemos observar en la Ilustración N 12.

Tembo et al., (2017) al interpretar los resultados de su investigación de “Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*)”, concluye que existe disminución de la capacidad antioxidante en su almacenamiento por un periodo de tiempo de 6 meses. Según Baeza et al., (2017), en su estudio realizado en “Polyphenol content, in vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of widely consumed beverages”, recalca que existe una relación con la concentración de compuestos fenólicos. En el estudio “Retention and stability of bioactive compounds in functional peach beverage using pasteurization, microwave and ultrasound technologies” de Sattar et al, (2020), obtiene una disminución del 2% en la estabilidad de la capacidad antioxidante a una temperatura de 28 °C.

La capacidad antioxidante expuesto por los diferentes autores, mencionan que existe una disminución por los tratamientos térmicos que son empleados he incluso durante su almacenamiento, de igual manera no solo en la conservación se encuentra este factor, sino también en la pasteurización, no obstante, es relacionado con la concentración de fenoles totales, en el proceso de fermentación (Sattar et al., 2020).

3.4. Validación de hipótesis.

En el proceso de fermentación, existe una disminución de los compuestos fenólicos como también de la capacidad antioxidante, en los dos estados de la materia prima, esto se debe a la transformación de azúcares y levaduras en etanol y CO₂, también existe una transformación del mosto a ácido gálico, disminuyendo también su pH y sólidos solubles, validando la hipótesis alternativa.

Tabla N 20. Comparación de análisis físico-químicos.

Análisis físico-químicos de vinos.

Ítem	Producto en el mercado.	pH.	°Brix.	%Vol.
1	Castillo del diablo.	3,6		12%
2	Carta vieja.	3,8		14%

Ítem	Vino de Jamaica. (Autora)	pH.	°Brix.	%Vol.
1	Cristina López.	3,5	12	9%
2	Gabriela Garcés.	3,6	12,3	7%

Ítem	Vino de Jamaica	pH.	°Brix.	%Vol.
1	Deshidratados.	2,3	12,3	5%
2	Frescos.	3,6	13,2	5,5 %

Fuente: (Escobar, 2023).

Los análisis físico-químicos presentados en la tabla N. 20, muestra una comparación de productos presentes en el mercado, como también investigaciones realizadas en la elaboración de vino de Jamaica, comparando con la bebida alcohólica tipo vino en cálices deshidratados y frescos de la presente investigación y podemos observar que los análisis físico-químicos se encuentra en el tipo de vino seco.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Al obtener la bebida alcohólica de los cálices de Jamaica con la misma formulación en los estados de su materia prima como: deshidratados y frescos, se pudo observar en los análisis físico-químicos, que en las dos existe una disminución de pH como también de sólidos solubles teniendo relación a la transformación de azúcares en etanol y CO₂.

Los análisis realizados en el estudio de la estabilidad de los fenoles totales como también la capacidad antioxidante en el proceso de fermentación, tiene una disminución, lo cual en el tiempo final de su fermentación inicia la caída de la capacidad de radicales libres de la bebida alcohólica.

Los datos obtenidos de la estabilidad de los fenoles totales como también la capacidad antioxidante en la fermentación se observó una disminución por los diferentes factores como el tratamiento térmico en la pasteurización y el estado de la materia prima. Los datos obtenidos de la bebida alcohólica con cálices deshidratados con un pH de 2,3, los sólidos solubles de 12,3 °Brix, el contenido de fenoles totales de 71,25 mg EAG/ml y la capacidad antioxidante de 105,01 % DPPH, en los 15 de fermentación existe una disminución mínima a comparación de la materia prima de cálices frescos con un pH de 3,6, un 13,3 de °Brix, su contenido de fenoles totales con un 52,01 mg EAG/ml y capacidad antioxidante de 91,02 % DPPH, , por lo que los cálices deshidratados es el estudio más óptimo de la estabilidad de los compuestos bioactivos por un mayor contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante en su fermentación.

RECOMENDACIONES

- Controlar el tiempo de fermentación en razón a la estabilidad de los compuestos fenólicos como también la capacidad antioxidante, por lo tanto, se recomienda registrar los datos cada dos días con el propósito de obtener datos más exactos para un mejor estudio de la estabilidad.
- Realizar un proceso de evaluación sensorial y organoléptica en el tiempo de madurez con el objetivo que permita determinar su cambio de calidad.
- Garantizar la temperatura del almacenamiento en el proceso de fermentación para que no sea afectada el estudio de estabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso. (2016). *Vista de Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción)*. Recimundo.com. <https://recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1560>
- Álvarez-Risco, A. (2020). *Clasificación de las investigaciones*. 12. <https://repositorio.ulima.edu.pe/handle/20.500.12724/10818>
- Aşkın, B., & Küçüköner, E. (2019). *Factors Affecting the Stability of Anthocyanins*. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(11), 1759–1765. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i11.1759-1765.2472>
- Baeza, G., Sarriá, B., Bravo, L., & Mateos, R. (2017). *Polyphenol content, in vitro bioaccessibility and antioxidant capacity of widely consumed beverages*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(4), 1397–1406. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8607>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(95)80008-5)
- Burini, J. A., Eizaguirre, J. I., Loviso, C., & Libkind, D. (2021). *Levaduras no convencionales como herramientas de innovación y diferenciación en la producción de cerveza*. *Revista Argentina de microbiología*, 53(4), 359–377. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.01.003>
- Carvajal, O. (2017). *Los usos y maravillas de la Jamaica*. *Medicina Biologica Metabolica Avanzada*. http://www.mundialsiglo21.com/novedades/2015_usos%20de%20la%20jamaica.pdf
- Chen, X., Liang, L., & Han, C. (2020). *Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay*. *Lwt*, 131, 109769. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109769>
- Coelho, K. Y., Oliveira, A. A., Nasser, M. H., & Fidelis, P. C. (2020). *Stability of total phenolic and antioxidant capacity in ready-to-drink black and green tea formulations*. *Research, Society and Development*, 9(10), 105–112. <https://doi.org/doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8160>
- Colina, J. Guerra M., Guilarte D. (2017). *Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de bebidas elaboradas con panela*. *Alanrevista.org*. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2012/3/art-14/>

- Cornejo, L. A. & Párraga, R. C. (2021). *Capacidad antioxidante y contenido fenólico de una bebida a base de la flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa)*. *CIENCIAMATRIA*, 7(12), 229-249. <https://doi.org/10.35381/cm.v7i12.427>
- Cornejo, L. A. (2021). *Capacidad antioxidante y contenido fenólico de una bebida a base de la flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa)*. *Interdisciplinaria de Humanidades, Educación, Ciencia y Tecnología*. <https://doi.org/DOI10.35381/cm.v7i12.427>
- Covas, H. (2018). “Elaboración de una bebida alcohólica de frutas”, 90 *Revista digital Autosuficiencia*, <http://www.autosuficiencia.com.ar/shop/detallenot.asp?notid=170>.
- Córdova Inga, D. C. (2018). *Contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante in vitro en extractos hidroalcohólicos de Chondracanthus chamissoi*.
- Dalila. (2022). *ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA PRÓPOLIS VERMELHA: uma revisão integrativa da literatura RESUMO 1. INTRODUÇÃO O nordes*. Googleusercontent.com. <https://doi.org/2319-0124>
- DECLARATORIA de vigencia de la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010*. (2010). Gob.mx. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4129/seeco1/seeco1.htm>
- Derkyi, N. S. A., Acheampong, M. A., Mwin, E. N., Tetteh, P., & Aidoo, S. C. (2018). *Product design for a functional non-alcoholic drink*. *South African Journal of Chemical Engineering*, 25, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2018.02.002>
- Fosado, R. (2021). *Producción, composición y usos de la Jamaica*. INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA. <https://leka.uaslp.mx/index.php/universitarios-potosinos/article/view/153/104>
- Guirao Goris, S. J. A. (2015). *Utilidad y tipos de revisión de literatura*. *Ene*, 9(2), 0–0. <https://doi.org/10.4321/s1988-348x2015000200002>
- Jaramillo Jiménez, A., Jaramillo Jaramillo1, C., & Rojas de Astudillo, L. (2022). *Estudio comparativo de los métodos espectrofotométrico y potenciométrico para la determinación cuantitativa de fenoles totales en plantas medicinales ecuatorianas*. *Infoanalítica (Quito - Impresa)*, 10(1), 129–141. <https://doi.org/10.26807/ia.v10i1.228>
- Jiménez, A., Jaramillo Jaramillo1, C., & Rojas de Astudillo, L. (2022). *Estudio comparativo de los métodos espectrofotométrico y potenciométrico para la*

determinación cuantitativa de fenoles totales en plantas medicinales ecuatorianas. InfoANALÍTICA, 10(1). <https://doi.org/10.26807/ia.v10i1.228>

López Nahuatt, G., Sumaya Martínez, M. T., Jiménez Ruiz, E. I., Sánchez Herrera, L. M., Bautista Rosales, P. U., Medina Carrillo, R. E., & Guzmán Ceferino, J. (2020). *Actividad hemolítica, antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de cálices de jamaica. Revista bio ciencias*, 7. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e995>

López Nahuatt, G., Sumaya Martínez, M. T., Jiménez Ruiz, E. I., Sánchez Herrera, L. M., Bautista Rosales, P. U., Medina Carrillo, R. E., & Guzmán Ceferino, J. (2020). *Actividad hemolítica, antimicrobiana y antioxidante de extractos acuosos de cálices de jamaica. Revista bio ciencias*, 7. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e995>

López, C., González Gallardo, C. E., Guerrero Ochoa, M. J., Mariño, G., Jácome, B., & Beltrán Sinchiguano, E. (2019). *Estudio de la Estabilidad de los Antioxidantes del Vino de Flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L) en el Almacenamiento. La granja*, 29(1), 105–118. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.09>

López, C., González Gallardo, C. E., Guerrero Ochoa, M. J., Mariño, G., Jácome, B., & Beltrán Sinchiguano, E. (2019). *Study of the stability of the antioxidants of the flor de jamaica's wine (hibiscussabdariffa l) under storage.la granja*, 29(1), 105–118. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.09>

López, C., González Gallardo, C. E., Guerrero Ochoa, M., Mariño, G., Jácome, B. & Beltrán Sinchiguano, E. (2019). *Estudio de la Estabilidad de los Antioxidantes del Vino de Flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L) en el Almacenamiento. La Granja*, 29(1), 105-118. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.09>

López-Astorga, M., Molina-Domínguez, C. C., Ovando-Martínez, M., & Leon-Bejarano, M. (2023). *Orujo de Uva: Más que un Residuo, una Fuente de Compuestos Bioactivos. Epistemus*, 16(33). <https://doi.org/10.36790/epistemus.v16i33.283>

Martínez- Valverde, Isabel, Periago, María Jesús, & Ros, Gaspar. (2020). *Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-18. Recuperado en 19 de agosto de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&tlng=es.

Méndez, P. D. (2015). *Efecto del uso de levaduras y concentración de Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel* (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2015.).

- Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C.-Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). *Phenolic compounds: Functional properties, impact of processing and bioavailability. En Phenolic Compounds - Biological Activity. InTech.*
- Moreno, Y., & Ovando, M. (2020). *Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) con cálices de colores, diversos. Scielo, 49(3).* https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000300004
- Muñoz, J. (2017, 10 febrero). *Las bebidas alcohólicas en la historia de la humanidad. Mediagraphic.* Recuperado 3 de febrero de 2023, de <https://www.medigraphic.com/pdfs/aapaunam/pa-2010/pae101i.pdf>
- Pacheco-Coello, F., Ramírez-Azuaje, D., Pinto-Catari, I., Peraza-Marrero, M., & Orosco-Vargas, C. (2019). Comparación de compuestos fenólicos totales en Hibiscus sabdariffa L. Venezuela. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas, 48(3).* <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84956>
- Prasetyoputri, A., Rahmawati, S. I., Atikana, A., Izzati, F. N., Hapsari, Y., Septiana, E., Bustanussalam, & Putra, M. Y. (2021). *A mini review on the antibacterial activity of Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) phytochemicals. IOP conference series. Materials science and engineering, 1192(1), 012017.* <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1192/1/012017>
- Preciado, A. M. (2018). *Desarrollo, caracterización y evaluación in vitro de una bebida funcional a base de extractos optimizados de jamaica y té verde [Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.].* <http://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1006/766>
- Ramón, C., & Gil-Garzón, M. A. (2021). *Efecto de los parámetros de operación de la extracción asistida por ultrasonido en la obtención de polifenoles de uva: una revisión. TecnoLógicas, 24(51), e1822.* <https://doi.org/10.22430/22565337.1822>
- Recalde, D. (2018). *Elaboración de una bebida alcohólica de jícama (smallanthus sonchifolius) y manzana (pyrus malus l).* Recuperado 3 de febrero de 2023, de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/2465/1/CD-3171.pdf>
- Rioja Antezana, A. P., Vizaluque, B. E., Aliaga-Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. M. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa. Revista boliviana de química, 35(5), 168–176.* http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000500006

- Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2017). *Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) nacional e importada*. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 14(2), 121–129. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000200004.
- Saranraj, P., Behera, S. S., & Ray, R. C. (2019). *Traditional Foods From Tropical Root and Tuber Crops: Innovations and Challenges*. In *Innovations in Traditional Foods (Woodhead P)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814887-7.00007-1>
- Sattar, S., Imran, M., Mushtaq, Z., Ahmad, M. H., Arshad, M. S., Holmes, M., Maycock, J., Nisar, M. F., & Khan, M. K. (2020). *Retention and stability of bioactive compounds in functional peach beverage using pasteurization, microwave and ultrasound technologies*. *Food Science and Biotechnology*, 29(10), 1381–1388. <https://doi.org/10.1007/s10068-020-00797-5>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J. y Goñi, I. (2017). *Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (Hibiscus sabdariffa L) beverage*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(19):7886-7890
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Arranz, S., Serrano, J., & Goñi, I. (2018). *Dietary fiber content and associated antioxidant compounds in Roselle flower (Hibiscus sabdariffa L.) beverage*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7886–7890. <https://doi.org/10.1021/jf070485b>
- Sinela, A., Rawat, N., Mertz, C., Achir, N., Fulcrand, H., & Dornier, M. (2017). *Anthocyanins degradation during storage of Hibiscus sabdariffa extract and evolution of its degradation products*. *Food Chemistry*, 214, 234–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.071>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent*. En *Oxidants and Antioxidants Part A* (pp. 152–178). Elsevier.
- Sobottka, S. C., Vissotto, F. Z., García, S. A., Guerreriro, E., Parra, F. G., & Alves, P. J. (2017). *Characterization and evaluation of stability of bioactive compounds in fruit 57 smoothies*. *Food Science and Technology*, 37(2), 216–223. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.16616>
- Tembo, D. T., Holmes, M. J., & Marshall, L. J. (2017). *Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (Adansonia digitata) pulp from Malawi*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.002>

- Torres L. (2022). *Estudio de estabilidad de compuestos fenólicos en una bebida de flor de jamaica y estevia, durante su almacenamiento [universidad técnica de machala]*. http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/18619/1/T-27496_TORRES%20MAZA%20GISSELLA%20CELESTE.pdf
- Valdez-López, E. N., Ramírez-Moctezuma, E., Sevilla Cervantes, L. J., & Suárez-Diéguez, T. (2019). *Cuantificación del contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante in-vitro en extractos de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa)*. *Educación y Salud Boletín Científico de Ciencias de la Salud del ICSa*, 8(15), 174–179. <https://doi.org/10.29057/icsa.v8i15.4813>
- Vega, J. A., Arteaga-Badillo, D. A., Sánchez-Gutiérrez, M., Morales-González, J. A., Vargas-Mendoza, M., Gómez-Aldapa, C. A., et al. (2020). *Organic acids from roselle (Hibiscus sabdariffa L.) - Brief Review of Its pharmacological effects*. *Biomedicines*, 8(5), 100: 1-15. <https://doi:10.3390/biomedicines8050100>
- Vidana, G. C., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). *Sources and relative stabilities of acylated and nonacylated anthocyanins in beverage systems*. *Journal of Food Science and Technology*, 59, 831–845. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05054-z>
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). *Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications (Woodhead P)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Wojdyło, A., Teleszko, M., & Oszmiański, J. (2017). *Antioxidant property and storage stability of quince juice phenolic compounds*. *Food Chemistry*, 152(1), 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.124>
- Zamora Cujilema, V., Mariño Brito, G. A., González Gallardo, C. E., Jácome Villacres, M. B., & Beltrán Sinchiguano, E. R. (2018). *Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) utilizando cálices frescos*. *Enfoque UTE*, 9(2), 1–14. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n2.305>
- Zamora Cujilema, V., Mariño Brito, G. A., González Gallardo, C. E., Jácome Villacres, M. B., & Beltrán Sinchiguano, E. R. (2018). *Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) utilizando cálices frescos*. *Enfoque UTE*, 9(2), 1–14. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n2.3>

ANEXOS.

Anexo A. Metodología para la elaboración de la bebida alcohólica de Jamaica.

<p>Materia prima.</p> 	<p>Maceración.</p> 	<p>Preparación de mosto.</p> 
<p>Trasiego</p> 	<p>Clarificación</p> 	<p>Trasiego</p> 
<p>Inactivación de levaduras</p> 	<p>Pasteurización</p> 	<p>Embotellado</p> 

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo B. Proceso de fermentación.

Fermentación.	Fermentación Final.
	

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo C. Pruebas físico-químicas.

pH.	Brix.
	

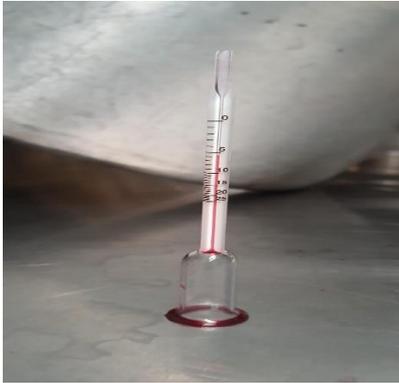
Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo D. Análisis Fenoles totales y Capacidad Antioxidante.

Fenoles Totales.	Capacidad Antioxidante.
	

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo E. Grados alcohólicos.

Cálices Deshidratados.	Cálices frescos.
	

Fuente: (Escobar, 2023)

Anexo F. Código de Fenoles totales (mg EAG/ml).

Código	Descripción	R1	R2	R3
a1b1	Cálices deshidratados, 0 días	72,2	72,00	72,15
a1b2	Cálices deshidratados, 5 días	72,08	72,08	72,06
a1b3	Cálices deshidratados, 10 días	72,01	72,01	72,00
a1b4	Cálices deshidratados, 15 días	71,58	71,56	71,56
a2b1	Cálices Frescos, 0 días	53,38	53,38	53,35
a2b2	Cálices Frescos, 5 días	53,05	53,04	53,03
a2b3	Cálices Frescos, 10 días	52,21	52,2	52,21
a2b4	Cálices Frescos, 15 días	52,00	52,03	52,01

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo F. Código de Capacidad Antioxidante (% DPPH).

Código	Descripción	R1	R2	R3
a1b0	Cálices deshidratados, 0 días	106,25	106,24	106,24
a1b1	Cálices deshidratados, 5 días	105,14	105,14	105,13
a1b2	Cálices deshidratados, 10 días	105,06	105,07	105,06
a1b3	Cálices deshidratados, 15 días	104,01	104,01	104,01
a2b0	Cálices Frescos, 0 días	92,06	92,05	92,06
a2b1	Cálices Frescos, 5 días	91,38	91,37	91,38
a2b2	Cálices Frescos, 10 días	90,75	90,76	90,75
a2b3	Cálices Frescos, 15 días	90,12	90,12	90,12

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo H. Ingreso de tabla a STATGRAPHICS. % DPPH

TRATAMIENTOS	FACTOR A	FACTOR B	REPLICAS	% DPPH
T1	1	1	1	106,25
T2	1	2	1	105,14
T3	1	3	1	105,06
T4	1	4	1	104,01
T5	2	1	1	92,06
T6	2	2	1	91,38
T7	2	3	1	90,75
T8	2	4	1	90,12
T1	1	1	2	106,24
T2	1	2	2	105,14
T3	1	3	2	105,07
T4	1	4	2	104,01
T5	2	1	2	92,05
T6	2	2	2	91,37
T7	2	3	2	90,76
T8	2	4	2	90,12
T1	1	1	3	106,24
T2	1	2	3	105,13
T3	1	3	3	105,06
T4	1	4	3	104,01
T5	2	1	3	92,06
T6	2	2	3	91,38

T7	2	3	3	90,75
T8	2	4	3	90,12

Fuente: (Escobar, 2023).

Anexo I. Ingreso de tabla a STATGRAPHICS. mg EAG/ml

TRATAMIENTOS	FACTOR A	FACTOR B	REPLICAS	mg EAG/ml
T1	1	1	1	72,2
T2	1	2	1	72,08
T3	1	3	1	72,01
T4	1	4	1	71,58
T5	2	1	1	53,38
T6	2	2	1	53,05
T7	2	3	1	52,21
T8	2	4	1	52,00
T1	1	1	2	72,00
T2	1	2	2	72,08
T3	1	3	2	72,01
T4	1	4	2	71,56
T5	2	1	2	53,38
T6	2	2	2	53,04
T7	2	3	2	52,2
T8	2	4	2	52,03
T1	1	1	3	72,15
T2	1	2	3	72,06
T3	1	3	3	72,00
T4	1	4	3	71,56
T5	2	1	3	53,35
T6	2	2	3	53,03
T7	2	3	3	52,21
T8	2	4	3	52,01

Fuente: (Escobar, 2023)

