

**Desarrollo de un refresco a partir de la mezcla de fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus glaucus*), gulupa (*Passiflora edulis Sims*) y uchuva (*Physalis peruviana L.*) fortificado con hierro y dirigida a niños en edad pre-escolar**

**Trabajo de grado para optar por el título en Magister en Innovación Alimentaria y Nutrición**

**Angélica María Serpa Guerra**

**Asesor  
Robin Zuluaga Gallego  
Ingeniero Agroindustrial  
Ph.D en Ingeniería**

**Corporación Universitaria Lasallista  
Maestría en Innovación Alimentaria y Nutrición  
Ingeniería de Alimentos  
Caldas- Antioquia  
2016**

**A mi familia por su apoyo incondicional**  
**A Luis Alejandro, por ser mi compañero de vida**

## **Agradecimientos**

En primera instancia, agradezco a Dios y a María Auxiliadora, por estar siempre conmigo, fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

Gracias a mi hermosa familia por todo su apoyo y ser el motivo para querer ser mejor cada día. Mi madre, por ser mi modelo a seguir, y mi esposo por ser mi apoyo y motivación en todo momento.

A mi director Robin Zuluaga, por todas sus enseñanzas, por su paciencia y dedicación para obtener siempre los mejores resultados. Sus conocimientos y persistencia han sido fundamentales para mi formación y por ello se ha ganado mi gratitud, admiración y respeto.

A los profesores Lina Vélez y Gustavo Hincapié por confiar en mí, y permitirme ser parte de su equipo de trabajo. Dios los bendiga hoy y siempre.

A mi amigo y compañero de trabajo, Jaime Alejandro, gracias por su colaboración y por tener siempre una sonrisa al iniciar y terminar el día.

A la Universidad Pontificia Bolivariana y a la Corporación Universitaria Lasallista por todas las oportunidades y lo aprendido durante estos años de crecimiento.

Finalmente, quisiera hacer agradecer a mis compañeros del Grupo de Investigaciones Agroindustriales (GRAIN) Jorge Cock, Diana Isabel, Diana Vasquez, Diego Sánchez, Marlon Osorio y Ana Isabel, y demás profesores del grupo, por su apoyo y colaboración durante la consecución de este nuevo sueño. ¡Siempre será un honor trabajar con ustedes!

**Tabla de contenido**

<b>Introducción</b>	<b>14</b>
<b>Justificación</b>	<b>17</b>
<b>Objetivos</b>	<b>19</b>
<i>Objetivo general</i>	19
<i>Objetivos específicos</i>	19
<b>Marco teórico</b>	<b>20</b>
<i>Importancia de los micronutrientes en la nutrición</i>	20
<i>Hierro</i>	21
Absorción y bio-disponibilidad	22
Deficiencia de hierro	25
Enfermedades asociadas al exceso	27
Fortificación de alimentos	28
Fortificación de alimentos con hierro	31
Compuestos de hierro utilizados para la fortificación de alimentos	33
<i>Frutas</i>	36
Uchuva	36
Fresa	40
Mora	45
Gulupa	48
<i>Refresco de frutas</i>	52
Características fisicoquímicas	53
Características microbiológicas	53

	5
<i>Importancia de las bebidas en la alimentación infantil</i>	54
<b>Materiales y métodos</b>	<b>56</b>
<i>Caracterización de las cuatro frutas pequeñas</i>	57
Caracterización química	57
Caracterización física	63
Caracterización microbiológica	64
Análisis estadístico	65
<i>Formulación del refresco fortificado con hierro a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva</i>	65
Fase I	66
Fase II	70
Determinación del contenido de vitamina C en el refresco final	73
<i>Estudio de vida útil del refresco desarrollado</i>	73
<b>Análisis de resultados</b>	<b>75</b>
<i>Caracterización de las cuatro frutas pequeñas</i>	75
Caracterización química	75
Caracterización física	83
Caracterización microbiológica	88
<i>Formulación del refresco fortificado con hierro a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva</i>	90
Fase I	90
Fase II	97
Cuantificación del contenido de hierro y vitamina C en el refresco final	104

Estudio de vida útil	105
<b>Conclusiones y recomendaciones</b>	<b>112</b>
<b>Referencias</b>	<b>116</b>

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Fuentes alimentarias de los minerales .....	<b>21</b>
<b>Tabla 2.</b> Tipos de fortificación en alimentos .....	<b>28</b>
<b>Tabla 3.</b> Alimentos utilizados como vehículos en fortificación.....	<b>30</b>
<b>Tabla 4.</b> Características químicas de la uchuva.....	<b>39</b>
<b>Tabla 5.</b> Composición nutricional de uchuva (por 100 g de pulpa).....	<b>40</b>
<b>Tabla 6.</b> Estados de madurez de la fresa.....	<b>44</b>
<b>Tabla 7.</b> Composición nutricional de la fresa (por 100 g de pulpa) .....	<b>44</b>
<b>Tabla 8.</b> Características químicas de la fresa la mora de Castilla.....	<b>47</b>
<b>Tabla 9.</b> Composición nutricional de la mora (por 100g de pulpa) .....	<b>48</b>
<b>Tabla 10.</b> Características químicas de la gulupa.....	<b>51</b>
<b>Tabla 11.</b> Composición nutricional de la gulupa (por 100 g de pulpa).....	<b>52</b>
<b>Tabla 12.</b> Requerimientos microbiológicos de los refrescos de fruta .....	<b>53</b>
<b>Tabla 13.</b> Matriz ortogonal de la fase I .....	<b>67</b>
<b>Tabla 14.</b> Formulaciones de los 9 prototipos evaluados .....	<b>68</b>
<b>Tabla 15.</b> Matriz ortogonal de la fase II .....	<b>71</b>
<b>Tabla 16.</b> Formulaciones de los 8 prototipos evaluados .....	<b>71</b>
<b>Tabla 17.</b> Resultados del análisis físico-químico de las cuatro frutas pequeñas.....	<b>75</b>
<b>Tabla 18.</b> Clasificación de los alimentos según el pH .....	<b>77</b>
<b>Tabla 19.</b> Resultados de la determinación de hierro y vitamina C en las cuatro frutas .	<b>78</b>
<b>Tabla 20.</b> Resultados del porcentaje de recuperación para el HPLC.....	<b>81</b>
<b>Tabla 21.</b> Resultados del análisis físico-químico de las cuatro frutas pequeñas.....	<b>83</b>
<b>Tabla 22.</b> Resultados de la caracterización microbiológica.....	<b>89</b>
<b>Tabla 23.</b> Resultados de la caracterización química .....	<b>91</b>

<b>Tabla 24.</b> Resultados de la determinación de color .....	<b>92</b>
<b>Tabla 25.</b> Resultados durante el análisis sensorial (color, olor y sensaciones).....	<b>94</b>
<b>Tabla 26.</b> Resultados durante el análisis sensorial (sabor) .....	<b>95</b>
<b>Tabla 27.</b> Resultados durante el análisis sensorial (calidad general y aceptación).....	<b>96</b>
<b>Tabla 28.</b> Resultados de la caracterización química .....	<b>98</b>
<b>Tabla 29.</b> Resultados de la determinación de color .....	<b>99</b>
<b>Tabla 30.</b> Resultados durante el análisis sensorial (color, olor y sensaciones).....	<b>101</b>
<b>Tabla 31.</b> Resultados durante el análisis sensorial (sabor) .....	<b>101</b>
<b>Tabla 32.</b> Resultados obtenidos durante el análisis sensorial (calidad general y aceptación).....	<b>103</b>
<b>Tabla 33.</b> Resultados del seguimiento del pH durante el estudio de vida útil .....	<b>106</b>
<b>Tabla 34.</b> Resultados del seguimiento microbiológico durante el estudio de vida útil .	<b>107</b>
<b>Tabla 35.</b> Seguimiento a la aceptación del refresco durante el estudio de vida útil ....	<b>110</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Uchuva ( <i>Physalis peruviana L.</i> ).....	<b>36</b>
<b>Figura 2.</b> Producción nacional de uchuva para 2013.....	<b>37</b>
<b>Figura 3.</b> Tabla de color de la uchuva.....	<b>38</b>
<b>Figura 4.</b> Fresa ( <i>Fragaria ananassa</i> ) .....	<b>41</b>
<b>Figura 5.</b> Producción nacional de fresa para 2013 .....	<b>42</b>
<b>Figura 6.</b> Tabla de color de la fresa .....	<b>43</b>
<b>Figura 7.</b> Mora ( <i>Rubus glaucus</i> ) .....	<b>45</b>
<b>Figura 8.</b> Producción nacional de mora para 2013 .....	<b>46</b>
<b>Figura 9.</b> Tabla de color de la mora .....	<b>47</b>
<b>Figura 10.</b> Gulupa ( <i>Passiflora edulis Sims</i> ).....	<b>49</b>
<b>Figura 11.</b> Producción nacional de gulupa para 2013.....	<b>50</b>
<b>Figura 12.</b> Tabla de color de la gulupa .....	<b>51</b>
<b>Figura 13.</b> Diagrama de flujo de las actividades realizadas durante la investigación ...	<b>56</b>
<b>Figura 14.</b> UHPLC <i>Thermo scientific</i> modelo <i>Ultimate 3000</i> .....	<b>60</b>
<b>Figura 15.</b> Espectofotómetro <i>Thermo scientific</i> modelo <i>Evolution 600</i> .....	<b>61</b>
<b>Figura 16.</b> Espectofotómetro de esfera X-Rite (SP-60) .....	<b>64</b>
<b>Figura 17.</b> Nanocolor UV/VIS <i>Marcherey – Nagel</i> .....	<b>69</b>
<b>Figura 18.</b> Materiales de empaque evaluados durante el estudio de vida útil .....	<b>73</b>
<b>Figura 19.</b> Cromatogramas obtenidos durante la cuantificación de vitamina C .....	<b>80</b>
<b>Figura 20.</b> Diagrama de dispersión entre los valores de pH y la coordenada “a” de color de las cuatro frutas.....	<b>84</b>
<b>Figura 21.</b> Diagrama de dispersión entre los valores del contenido de hierro y la luminosidad de las cuatro frutas.....	<b>85</b>

<b>Figura 22.</b> Diagrama del tono angular ( $h_{ab}$ ) .....	<b>86</b>
<b>Figura 23.</b> Relación entre los sólidos solubles y el pH con el color (croma) .....	<b>87</b>
<b>Figura 24.</b> Refrescos obtenidos en la fase I.....	<b>90</b>
<b>Figura 25.</b> Refrescos obtenidos durante la fase II .....	<b>97</b>
<b>Figura 26.</b> Resultados del seguimiento sensorial del producto envasado en bolsa flexible transparente .....	<b>108</b>
<b>Figura 27.</b> Resultados del seguimiento sensorial del producto envasado en estructura PED.....	<b>109</b>

**Lista de anexos**

<b>Anexo A.</b> Protocolo de la determinación de pH .....	<b>131</b>
<b>Anexo B.</b> Protocolo para la determinación de sólidos solubles .....	<b>134</b>
<b>Anexo C.</b> Protocolo para la determinación de color.....	<b>137</b>
<b>Anexo D.</b> Ensayos preliminares: relación entre % de fruta y azúcar adicionada .....	<b>142</b>
<b>Anexo E.</b> Cromatogramas de la cuantificación de vitamina C en la cuatro frutas pequeñas y en el refresco desarrollado.....	<b>146</b>

## Resumen

La deficiencia de hierro, es reconocida a nivel mundial como uno de los principales problemas de salud pública asociados a la nutrición, ya que trae consigo problemas a nivel físico, neurológico e inmunológico. En Colombia según los resultados reportados en la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia de 2010 (ENSIN, 2010), la prevalencia de anemia en niños entre 6 y 59 meses es del 27,5 %, lo que hace necesario mejorar las estrategias nutricionales encaminadas a esta población (edad preescolar), con el fin de incrementar su calidad de vida. Con la presente investigación se elaboró un refresco a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva, fortificada con hierro, como un producto que podrá ser incorporado en los programas dirigidos a tratar este problema, y que permitirá aprovechar estas cuatro frutas cultivadas en el oriente antioqueño. Para esto, se caracterizaron las cuatro frutas, y se desarrolló un refresco sin adición de hierro, partiendo de los resultados de dicha caracterización y de los requerimientos establecidos en la normativa Nacional, con el fin de obtener los niveles a introducir en el diseño experimental ortogonal seleccionado. Los mejores resultados de aceptación del producto obtenidos a partir de los análisis sensoriales, fueron el punto de partida para el desarrollo del jugo fortificado con hierro, donde los porcentajes de hierro a evaluar en el diseño ortogonal, se seleccionaron a partir de los valores diarios recomendados de ingesta para este mineral en la población infantil. Finalmente se seleccionó la mejor formulación y se realizó el estudio de vida útil del refresco evaluando dos materiales de empaque: envase de polietileno de baja densidad y bolsa flexible, presentando mayor estabilidad el producto almacenado en la bolsa flexible.

**Palabras clave:** jugo, fortificación, hierro, frutas, niños

### **Abstract**

Iron deficiency is recognized worldwide as a major public health problem related to nutrition and associated to physical, neurological and immunological problems. In Colombia according to the results reported in the National Survey of the Nutritional Situation in Colombia of 2010 “Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia de 2010”, is necessary to improve the nutritional strategies for children in order to increase their quality of life, because the prevalence of anemia in children between 6 and 59 months is 27.5 %. With this research an iron fortified mixed fruit drink from strawberry, blackberry, purple passion fruit and yellow Berry was developed, as a product that can be incorporated into nutritional programs and as an example of procesing these four fruits. For this, the four fruits were characterized, and a drink was prepared without the addition of iron, based on the results of the characterization and the requirements of the national law, in order to obtain the levels to be introduced in the orthogonal experimental design selected. The best results of acceptance of the product obtained from sensory analysis were the starting point for the development of iron-fortified juice, where the percentages of iron to assess the orthogonal design were selected from the recommended daily values Intake for children. Finally the best formulation from the results of sensory analysis was selected and life study was conducted evaluating two packaging materials: a low density polyethylene package and a flexible bag, showing more stability the product stored in the flexible bag.

**Key words:** juice, fortification, iron, fruits, children

## Introducción

El hierro es un mineral con gran importancia para el buen desarrollo del ser humano y el mantenimiento de su organismo (Nadadur, Srirama y Mudipalli, 2008, 533), y a su vez, se utiliza como indicador para determinar el estado nutricional de las personas. Este mineral, hace parte de diversas enzimas y complejos moleculares que participan en los procesos metabólicos (Conrad y Umbreit, 2000, 287). Sus principales funciones incluyen el transporte de oxígeno por medio de la hemoglobina (Hb) (Toxqui et al., 2010, 351) que se deriva en la producción de energía, su participación en la síntesis, degradación y almacenamiento de neurotransmisores (Suárez, Cimino y Bonilla, 1985, 247), en la función eritropoyética y en la respuesta inmune de las células (Muñoz et al., 2007, 389).

Los requerimientos y valores diarios recomendados de hierro son un buen punto de partida a la hora de caracterizar nutricionalmente una población, si se tiene en cuenta que la deficiencia de este mineral está considerada como una de las problemáticas nutricionales más comunes a nivel mundial, afectando aproximadamente al 30 % de la población (World Health Organization, 2006, 3). Esta situación es más predominante en los países en desarrollo (Boccio y Monteiro, 2004, 72) y Colombia no es la excepción a este escenario, ya que según la última Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN) de 2010, en el país, la prevalencia de anemia por deficiencia del mineral está entre un 7,6 % y 27 % (Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, 2011, 11). Este tipo de deficiencia es multifactorial, ya que su desarrollo está condicionado a aspectos culturales, sociales y económicos, cuya consecuencia es la alteración de la calidad de vida de las personas por efectos a nivel inmunológico, físico

y digestivo. Además, se ha establecido que las pérdidas causadas por deficiencia de micronutrientes como el hierro, representan en incapacidades y muertes, un costo del 5 % del Producto Interno Bruto (PIB), mientras que la implementación de estrategias nutricionales adecuadas como la fortificación de alimentos, tiene un costo menor al 0,3 % del PIB.

Entre las causas que pueden ocasionar una deficiencia de hierro se pueden señalar la insuficiente ingesta del mineral debido a la baja bio-disponibilidad del hierro no hemático presente en las dietas basadas en hortalizas, frutos secos y cereales, y a la baja ingesta de carne, fuente de hierro hemático o hémico (Gaitán et al., 2006, 143). Por otro lado, la deficiencia de hierro también se presenta, por la baja absorción de este mineral, debido a las interacciones entre diversos componentes de la dieta que se convierten en factores sinérgicos e inhibidores de su absorción (Gaitán et al., 2006, 144), de allí, la importancia de reconocer los mecanismos y las sustancias responsables de dicho comportamiento.

Por lo anterior, la obtención de alimentos fortificados, es decir productos con adición de micronutrientes, se presenta como una estrategia que busca contrarrestar la deficiencia de micronutrientes como el hierro en la población y a su vez, como uno de los métodos utilizados para la elaboración de productos funcionales, encaminados hacia la obtención de alimentos con alto valor agregado, teniendo en cuenta la creciente preocupación de la población por estilos de vida más saludables.

En la presente investigación, se desarrolló un refresco a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva, fortificada con hierro dirigida a niños en edad pre-escolar, (niños entre 6 y 59 meses), para quienes el valor diario recomendado de hierro según la normativa colombiana es de 12 mg (Ministerio de Protección Social, 2010, 17). Lo

anterior, se realizó con el fin de contribuir al entendimiento de la deficiencia de hierro como un problema de salud pública, que requiere especial atención. Para esto se realizó la caracterización de las cuatro frutas, cuyos resultados fueron el punto de partida para el diseño experimental del desarrollo, que se dividió en dos fases: la primera correspondiente a la evaluación de las mezclas de las cuatro frutas, y la segunda donde se incluyó el contenido de hierro como nuevo factor a evaluar. La variable respuesta de los diseños fue la aceptación sensorial del jugo, medida a través de un panel sensorial de expertos. Finalmente, la formulación seleccionada fue sometida a un estudio de vida útil, con el fin de evaluar su estabilidad microbiológica, físico química y sensorial, durante su almacenamiento.

## Justificación

Colombia es un país que por su ubicación geográfica, permite el cultivo de variadas especies vegetales, incluyendo frutas como la uchuva, mora, fresa y gulupa, las cuales hacen parte de los productos con potencial exportador, gracias a los procedimientos que se están llevando a cabo para lograr que productores y comercializadores mejoren los estándares de calidad. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos, en Colombia las pérdidas en pos-cosecha aún son representativas, por lo que se hace necesario no solo seguir uniendo esfuerzos para mejorar los procesos productivos, sino también plantear nuevas alternativas para el aprovechamiento de las frutas que no cumplen en un 100 % con los parámetros de exportación, y que aún son aptas para el consumo humano (excedentes de cosecha). Teniendo en cuenta que cada una de estas frutas representa una buena fuente de diversas vitaminas y minerales, esenciales para el buen funcionamiento del organismo, pueden ser una buena alternativa para su inclusión en el desarrollo de productos dirigidos a contrarrestar problemas nutricionales como carencia o falta de nutrientes.

La deficiencia de hierro, está considerada como la más común a nivel mundial, y se presenta como consecuencia de diversos factores característicos de cada población, aspectos culturales, sociales y económicos juegan un papel fundamental a la hora de contraer anemia por deficiencia de hierro. En Colombia según la Encuesta Nacional de la situación Nutricional (ENSIN) 2010, la prevalencia de anemia por deficiencia de hierro es un problema que aún se presenta en gran parte de la población y que afecta en mayor proporción a los niños entre 6 y 59 meses (27,5 % de prevalencia), además según los resultados publicados, este padecimiento se presenta en mayor proporción en personas del área rural y en la población perteneciente a los niveles 1 y 2 del

Sistema de Identificación y Clasificación de Potenciales Beneficiarios para los Programas Sociales (SISBEN).

Las consecuencias de la deficiencia de hierro generan manifestaciones propias de la anemia y otras causadas directamente por la mala función de las enzimas hierro dependientes, traduciéndose en alteraciones de la actividad física y motora, disminución en la velocidad de conducción de los sistemas auditivo y visual y alteraciones en la respuesta inmunológica, en la conducta y en el desarrollo mental, lo que muestra la necesidad de generar programas de intervención como la fortificación de alimentos con hierro para disminuir estas consecuencias y mejorar la calidad de vida de los habitantes.

## Objetivos

### Objetivo general

Desarrollar un refresco a partir de la mezcla de fresa (*Fragaria ananassa*), mora (*Rubus glaucus*), gulupa (*Passiflora edulis Sims*) y uchuva (*Physalis peruviana L.*) fortificada con hierro dirigida a los niños en edad pre-escolar.

### Objetivos específicos

- Caracterizar físico-químicamente la fresa, la mora, la gulupa y la uchuva, como materias primas empleadas en la producción de un refresco fortificado.
- Estandarizar la formulación de un refresco fortificado con hierro empleando diferentes mezclas de fresa, mora, gulupa y uchuva.
- Evaluar la influencia que tienen las condiciones de almacenamiento sobre la vida útil del refresco que cumpla con las mejores características sensoriales para los niños en edad pre-escolar.

## **Marco teórico**

A continuación, se presentan los principales conceptos que soportan la presente investigación, y que incluyen información acerca del hierro como micronutriente esencial para la vida, la importancia de los procesos de fortificación y aspectos sobre el desarrollo de refrescos dirigidos a la población infantil en edad pre-escolar. De igual manera, se trata información de las cuatro frutas utilizadas, como cifras de producción nacional, características nutricionales y físico químicas.

### **Importancia de los micronutrientes en la nutrición**

Las deficiencias de micronutrientes son responsables de diferentes daños funcionales, como el retraso del desarrollo mental, deficiencia del sistema inmune y disminución de la capacidad de trabajo (Scrimshaw, 2005, 64). Estas deficiencias se presentan debido a la falta o ausencia de ciertos alimentos en la dieta, quienes constituyen la primera fuente de vitaminas y minerales, importantes para el buen funcionamiento y mantenimiento del organismo.

Los minerales en la dieta, incluyen todos los elementos inorgánicos presentes en la misma y que se constituyen en la mayor parte de la ceniza restante tras la combustión de la materia orgánica (Rodríguez, 2007, 83). Se ha establecido que más de 18 elementos minerales son esenciales para los mamíferos, de los cuales 11 son micro-minerales y 7 macro-minerales. El calcio, el fósforo, el sodio y manganeso son algunos de los macro-minerales, cuyas principales funciones son el mantenimiento del equilibrio ácido-base, de las presiones osmóticas, de la conducción nerviosa, de la contracción muscular, de la estructura y de los potenciales de trans-membrana necesarios para diversas funciones celulares (Pérez Llamas y Zamora Navarro, 2002,

72). Los micro-minerales como el hierro, el zinc y el cobre, son componentes necesarios de las metalo-enzimas, responsables del control de diversas reacciones bioquímicas. Los minerales son elementos exógenos al organismo, ya que este no tiene la capacidad de bio-sintetizarlos y por lo tanto deben ser obtenidos a partir de la dieta en alimentos como verduras y cereales. En la Tabla 1, se muestran algunas fuentes alimentarias de los minerales.

**Tabla 1.** Fuentes alimentarias de los minerales

<b>Mineral</b>	<b>Fuentes</b>
Calcio (Ca)	Leche, pescados, mariscos
Fósforo (P)	Carne, pescado
Azufre (S)	Carne, huevo
Potasio (K)	Frutas, verduras
Sodio (Na)	Sal de mesa, embutidos
Magnesio (Mg)	Frutos secos, harinas integrales
Cloruro (Cl)	Sal de mesa, embutidos
Hierro (Fe)	Carnes, pescados, legumbres
Cobre (Cu)	Carnes, pescados
Cinc (Zn)	Mariscos, harinas integrales
Flúor (F)	Agua, té, pescados
Selenio (Se)	Carnes rojas, hortalizas
Yodo (I)	Productos marinos, sal de mesa

**Fuente:** (Pérez Llamas y Zamora Navarro, 2002, 73)

A continuación, se tratará uno de los minerales más importantes en la nutrición humana, estableciendo sus principales funciones, su absorción y bio-disponibilidad, al igual que las enfermedades asociadas a su deficiencia y la importancia de su inclusión en el desarrollo de alimentos, como lo es el hierro.

## **Hierro**

En la naturaleza el hierro representa el cuarto elemento más abundante de la corteza terrestre, encontrándose en forma de diversos isótopos estables e isótopos radiactivos, que se utilizan en la actualidad para estudiar su bio-disponibilidad (Gaitán et

al., 2006, 142). Biológicamente, el estado oxidado o férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) y el reducido o ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) son las formas más relevantes de este metal, mientras que en la dieta humana el hierro se encuentra de manera hemático y no hemático (Ammerman, Baker, y Lewis, 1995, 169), proviniendo el hierro hemático de la hemoglobina y mioglobina presentes en fuentes animales, mientras que el hierro no hemático está presente en tejidos vegetales, sales marinas y en algunos alimentos de origen animal (lácteos y huevos) (Gaitán et al., 2006, 143).

La importancia del hierro en el desarrollo y mantenimiento de la vida, radica en que hace parte del transporte respiratorio de oxígeno y del metabolismo oxidativo, participando activamente en el proceso de respiración celular, como parte de la hemoglobina de la sangre y la mioglobina del músculo esquelético (Boccio et al., 2003, 122); de igual manera, el hierro es un importante co-factor de diversos procesos biológicos como la respiración mitocondrial y la fijación del nitrógeno (Da Silva et al., 2013, 357) y es esencial en el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso central, ya que participa en los procesos de diferenciación celular, mielinización, sinaptogénesis y en la síntesis de neurotransmisores (Morales, Contreras, y Estrada, 2014, 409), estableciéndose así, la gran importancia de este mineral durante los procesos de desarrollo mental, motor y socio-emocional que se llevan a cabo en la infancia, para evitar problemas a nivel cognitivo y de conducta (Lozoff, 2007, 560).

### **Absorción y bio-disponibilidad**

La absorción del hierro no hemático en el tracto digestivo se da mediante diferentes mecanismos (Gaitán et al., 2006, 143): a) por solubilización y reducción en el medio gástrico, b) por adsorción en el duodeno proximal y c) por mecanismos de

reducción del hierro férrico a ferroso en el borde cepillo del enterocito y co-transporte de hierro ferroso y H<sup>+</sup> a través del transportador de metales divalentes (DMT1). Según las necesidades corporales del nutriente, este se almacena en la proteína citoplasmática ferritina y se utiliza en los procesos metabólicos celulares o se transporta hacia la sangre (Miret, Simpson, y McKie, 2003, 291).

En cuanto al hierro hemático, se conoce que es solubilizado en el tracto gastrointestinal sin ser modificado, se transporta en compañía del anillo de protoporfirina hacia el duodeno (Forrellat, Gautier du Défaix, y Fernández Delgado, 2000, 152), de allí que su absorción sea mayor al hierro no hemático, ya que es la estructura hemo la que permite su entrada directa en las células de la mucosa del intestino en forma de complejo hierro-porfirina.

Por otro lado, se ha estudiado el efecto del índice de masa corporal de las mujeres sobre la absorción de hierro, y aunque los resultados aún no permiten establecer una relación entre estos, se observó que las mujeres obesas presentaron una menor absorción de este mineral que aquellas con sobrepeso o peso normal, comportamiento atribuido a las inflamaciones subclínicas derivadas de la obesidad (Mujica-Coopman et al., 2015, 215).

En cuanto a la bio-disponibilidad del hierro, es decir la porción de este mineral que el organismo absorbe y utiliza para las funciones corporales (Hurrell y Egli, 2010, 1468), se ha establecido que depende de las cantidades ingeridas, de la combinación de alimentos en una comida (ya que a un pH básico existe la tendencia de formar precipitados con componentes de la dieta) y por factores intraluminales; lo que disminuye su solubilidad y por lo tanto su absorción (Gaitán et al., 2006, 143). A su vez, la deficiencia del metal, las anemias hemolíticas y la hipoxia, incrementan su absorción,

mientras que disminuye durante los procesos infecciosos o inflamatorios (Gaitán et al., 2006, 144).

Como se mencionó anteriormente, existen varios factores que influyen en la absorción del hierro en el organismo. Entre los principales inhibidores de la bio-disponibilidad de este mineral, se encuentran los fitatos, compuestos presentes en las dietas basadas en frutas y vegetales (Hurrell, 1997, 211), los cuales generan una inhibición entre un 51 y 82 %. De igual manera se ha encontrado que los polifenoles presentes en el té negro y en el vino actúan como inhibidores de la absorción del hierro (Binaghi et al., 2011, 316; Cook, Reddy, y Hurrell, 1995, 800), ya que contribuyen a la formación de complejos insolubles que no son absorbidos por el organismo (Allen y Ahluwalia, 1997, 14).

La presencia de calcio también influye negativamente en la absorción del hierro hemático y no hemático (Hurrell y Egli, 2010, 1461), aunque esta última afirmación está siendo estudiada, debido a los resultados contradictorios que han arrojado recientes investigaciones (Miranda et al., 2014, 771). Finalmente, algunos minerales también están siendo clasificados como antagonistas de la absorción del hierro, debido a diversos estudios in vivo e in vitro que han dado como resultado, la disminución de la absorción, debido a la interacción con otros minerales como cobre y zinc, y a la inhibición competitiva con el manganeso (Arredondo, Martínez y Nuñez, 2006, 95; Olivares et al, 2007, 279).

La presencia de vitamina C o ácido ascórbico, aumenta la bio-disponibilidad del hierro no hemático (Gaitán et al., 2006, 144). Este efecto se atribuye a su capacidad de reducir el ión férrico a su forma ferrosa (soluble), a su acción para formar quelatos

solubles y absorbibles a pH alcalino (duodeno) y a su capacidad antioxidante (Trinidad et al., 2014, 127).

La vitamina A también es reconocida por incrementar la bio-disponibilidad del hierro no hemático al formar complejos solubles con iones férricos, además, se ha establecido que la concentración de esta vitamina es uno de los nutrientes responsables de modular el metabolismo del hierro y por ende su homeostasis (Gaitán et al., 2006, 144).

### **Deficiencia de hierro**

Como se mencionó anteriormente, la deficiencia de hierro se presenta porque la mayor parte del mineral se encuentra en forma no hemático, el cual es difícil de absorber y poco bio-disponible, comportamiento inverso al hierro hemático de origen animal, que presenta una bio-disponibilidad de 2 a 3 veces mayor que la del hierro no hemático (Alcaraz López et al., 2006, 17). Sin embargo, la escasez de proteína animal en la dieta actual, hace que la deficiencia de hierro sea responsable del 15 % de los casos de anemia en la población mundial, presentándose prevalencia del 10 % y 50 % en países desarrollados, y en desarrollo respectivamente, siendo los niños, los adolescentes y las mujeres, los más afectados (World Health Organization, 2008, 1).

De manera general, se establece que la deficiencia de hierro se debe a múltiples factores, tales como un inadecuado consumo, una baja absorción, un aumento de la demanda o una excesiva pérdida del mineral (Denic y Argarwal, 2007, 603), y se caracteriza por una disminución de los depósitos de hierro, con baja concentración sérica y baja saturación de transferrina, lo que implica cambios en los niveles de la concentración de hemoglobina (De Paz y Fernandez Navarro, 2005, 365).

La anemia es una enfermedad que ha sido considerada como un problema de salud pública, debido a que afecta a un cuarto de la población mundial, principalmente a niños en edad pre-escolar (47,4 %), seguido de mujeres gestantes (41,8 %) y mujeres en edad fértil (30,2 %), siendo esta enfermedad un problema de salud severo característico de la población infantil en países Latinoamericanos como Brasil, Perú y Bolivia, y de las mujeres en período de gestación y en edad reproductiva en Perú (World Health Organization, 2008, 1). Esta enfermedad se caracteriza por la disminución de la concentración de hemoglobina (proteína que se encuentra dentro de los glóbulos rojos) en el organismo, y cuya función es el transporte de oxígeno a través de todos los tejidos del cuerpo humano. Su principal causa es la deficiencia de hierro, elemento fundamental, sin el cual no se puede obtener la movilización de dicha proteína (Moreira y López San Román, 2009, 70).

Las manifestaciones de la deficiencia de hierro incluyen las causadas por una disfunción de las enzimas dependientes de este mineral, y de aquellas propias de la anemia, e incluyen alteraciones de la capacidad de trabajo físico y de la actividad motora espontánea, alteraciones de la inmunidad celular debido al papel de este mineral en diversas enzimas como la mielo-peroxidasa, la cual es requerida para la producción de radicales hidroxilo por los neutrófilos en respuesta a la presencia de bacterias (Soyano y Gómez, 1999, 40). Otras implicaciones incluyen la alteración de la termogénesis, alteraciones funcionales e histológicas del tubo digestivo, falla en la movilización de la vitamina A hepática, menor transferencia de hierro al feto, disminución de la velocidad de crecimiento, mayor riesgo de parto prematuro y de morbilidad perinatal, y alteraciones conductuales (Allen, 2000, 1280). Todas las consecuencias derivadas de la deficiencia de hierro, principalmente del padecimiento

de la anemia, generan un impacto importante en el desarrollo del individuo desde la edad temprana, que a su vez se traduce en efectos a nivel social y económicos, ya que a esta enfermedad se asocian los costos generados al estado por su tratamiento (costos directos) y costos indirectos por la reducción en la productividad y rendimiento actual y futuro de la población (Action Against Hunger, 2013).

### **Enfermedades asociadas al exceso**

El exceso de hierro se presenta principalmente por alteraciones del metabolismo propio del mineral, como la hemocromatosis que consiste en el incremento de las reservas de hierro (Beutler, Hoffbrand, y Coock, 2003, 40), lo que implica una amenaza para células y tejidos (Papanikolau y Pantopoulos, 2005, 199), así mismo contribuye a enfermedades cardiovasculares, ya que el exceso fomenta la inflamación y la oxidación del colesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Toxqui et al., 2010, 358). Un estudio en Finlandia, descubrió que quienes tienen altos niveles de ferritina (por encima de 200 mcg/l), tienen dos veces más probabilidad de sufrir de ataques al corazón (Colbert, 2001, 24).

Sin embargo, a pesar de las enfermedades asociadas al exceso, en la actualidad las patologías asociadas a su deficiencia presentan mayor importancia, mostrando la necesidad de alternativas para disminuir su prevalencia. A continuación se presentan las principales características de la fortificación de alimentos, como una opción para tratar dicha deficiencia.

## Fortificación de alimentos

La adición o fortificación con micronutrientes de los alimentos que hacen parte de la canasta básica familiar, es una de las estrategias más empleadas para prevenir y corregir las deficiencias y enfermedades descritas anteriormente, gracias a que estos alimentos logran llegar a gran parte de una determinada población. Fue así como surgió en Suiza y Estados Unidos la fortificación de sal con yodo en 1920 (Burgi, Supersaxo, y Selz, 1990, 577) y se fue expandiendo a nivel mundial como una buena opción para controlar la deficiencia de este mineral, al igual que las fortificaciones de cereales realizadas en 1940 con tiamina, riboflavina y niacina (World Health Organization, 2006, 14), la fortificación de azúcar con vitamina A en algunos países de Centro y Sur América (Asamblea Legislativa de la República el Salvador, 1994, 1; Ministerio de Salud, 1998, 1) y la fortificación de harina de trigo con vitaminas y minerales (incluyendo el hierro) en América Latina y El Caribe (Muzzo, 2004, 336).

Al hablar de fortificación, se debe tener en cuenta que existen diferentes tipos, como se presenta en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Tipos de fortificación en alimentos

Fortificación	Características
Obligatoria	Cuando se tratan alimentos ampliamente consumidos por la población
Focalizada	Cuando se tratan alimentos diseñados para sub-grupos con características específicas, como los alimentos complementarios para niños
Voluntaria	Cuando la fortificación de los alimentos es realizada de manera intencional por parte de los productores

**Fuente:** (World Health Organization, 2006, 26)

Dentro de las fortificaciones obligatorias, se encuentran aquellas establecidas por mandatos gubernamentales, encaminadas a tratar problemas nutricionales identificados en la población y que incluyen las adiciones de micronutrientes en harina, azúcar y sal,

mencionadas anteriormente. Ejemplo de ello, es la fortificación con hierro de maicena y harina decretada en Venezuela a partir 1993, que se tradujo en una reducción de la deficiencia de hierro del 37 % al 15 % en 1994 (Layrisse et al., 1996, 903). Situación similar a la presentada en Chile después de decretar la adición de ácido fólico en la harina de trigo, que contribuyó a la disminución del 40 % en las tasas de defecto del tubo neural (Hertrampf y Cortés, 2004, 44), y la fortificación de azúcar con vitamina A en Nicaragua a partir del 2000, que generó un aumento en la concentración plasmática de retinol de 0,97 a 1,17  $\mu\text{mol/L}$  en tan solo un año (Ribaya Mercado et al., 2004, 1291).

En cuanto a la fortificación voluntaria, es decir, aquella realizada por los productores de manera autónoma, se ha establecido que en Colombia, las principales matrices utilizadas son los cereales para el desayuno, las pastas, y las bebidas, mientras que los nutrientes más adicionados son las vitaminas A, C y B1, y los minerales hierro, zinc y calcio. A nivel mundial, compañías como *General Mills*, *Gerber Products*, *Kraft Foods*, *Unilever* y *The Procter and Gamble Co.*, poseen diversas patentes para desarrollos en alimentos fortificados, que incluyen técnicas y pre-mezclas (Carvajal Hoyos, 2012, 42). De igual manera, la FAO, ha identificado los cereales, las frutas y los productos lácteos como los vehículos más utilizados en los procesos de fortificación, como se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Alimentos utilizados como vehículos en fortificación

Alimento	Nutriente
Frutas y bebidas enlatadas. Productos lácteos enlatados y secos	Vitamina C
Cereales secos, harina, pan, pasta y productos lácteos	Tiamina, riboflavina y niacina
Productos de cereales, productos lácteos, aceites vegetales y chocolate	Vitamina A
Productos de cereales, pan, leche en polvo	Hierro
Productos de cereales y pan	Calcio

**Fuente:** (Latham, 2002)

Fortificar alimentos con nutrientes es un asunto de gran importancia, su propósito va dirigido a beneficiar la salud de las personas, por ello debe hacerse de manera responsable y con conocimientos científicos y técnicos del tema, además, debe tener en cuenta los siguientes aspectos (Latham, 2002):

- La carencia (o riesgo) del micronutriente en la población debe estar demostrada en gran parte de la población.
- El alimento o matriz a fortificar debe ser de alto consumo en la población para la cual está dirigida la fortificación.
- Si se fortifica, la declaración de salud de un alimento funcional debe estar aceptada en la normativa existente, o se debe contar con los estudios científicos requeridos que demuestren que dicho nutriente genera cierto beneficio o disminución del riesgo de enfermedad.
- La interacción entre la matriz alimenticia y el nutriente que se va adicionar, no debe disminuir su absorción y bio-disponibilidad; o generar cambios organolépticos indeseados en el producto final.
- Se debe evaluar la factibilidad técnica para que a nivel industrial se pueda realizar la adición del nutriente, teniendo en cuenta costos operacionales.

- Tener en cuenta los valores diarios recomendados que se debe adicionar del nutriente, según la población a quien va dirigido el alimento.

Por otra parte, la adición de nutrientes en los alimentos se constituye como una de las formas más utilizadas y adecuadas para la obtención de productos alimenticios funcionales, los cuales se orientan a proporcionar beneficios para la salud o de disminución de riesgo de enfermedad y que son regulados por entidades tales como el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) en Colombia, el Instituto de Salud Pública en Chile, el *European Food Safety Authority* (EFSA) en Europa, y la *United States Food and Drug Administration* (FDA) en Estados Unidos, instituciones bajo las cuales se deben registrar las diferentes compañías de alimentos para el desarrollo y la elaboración de productos fortificados o adicionados, teniendo en cuenta el lugar de producción y comercialización de los mismos.

### **Fortificación de alimentos con hierro**

La fortificación de alimentos con hierro, surge como una estrategia nutricional que busca solucionar los problemas generados por la deficiencia de este mineral. En Colombia dicha fortificación es una de las más comunes (Carvajal Hoyos, 2012, 92), en gran parte, debido a los resultados obtenidos en la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia de los años 2005 y 2010, en las que se evidencia la deficiencia de hierro como uno de los indicadores con mayor prevalencia en la población del país, generando la necesidad de proveer mecanismos para evitar y disminuir la anemia, enfermedad asociada a esta deficiencia. En Colombia gracias al Decreto 1994 de 1996, la fortificación de harina de trigo con hierro es una medida obligatoria en el territorio nacional, para todos los productores y comercializadores, ya sea para la venta directa al

consumidor o para la fabricación de productos de panadería, pastelería, galletería entre otros (Ministerio de Salud, 1996, 1). Esta situación es similar a lo ocurrido en otros 30 países de América Latina y el Caribe incluyendo Bolivia, Argentina, Brasil, Chile y Costa Rica, donde esta fortificación es obligatoria por declaración gubernamental (Muzzo, 2004, 336-347).

Diferentes estudios han demostrado que el consumo de alimentos enriquecidos con hierro mejora la concentración de hemoglobina y ferritina en sangre. Este es el caso de un estudio realizado en Pontal, Brasil, con 50 niños entre 12 y 72 meses de edad con el fin de evaluar el consumo de un jugo de naranja fortificado con hierro, en el que se determinó la hemoglobina antes y después del estudio, cuya duración fue de 4 meses durante los cuales de lunes a viernes, se suministró a cada niño dos porciones de 200 ml de jugo de naranja fortificado con 20 mg de sulfato ferroso (heptahidratado). Los resultados mostraron un incremento de la Hb de 10,48 mg/dl a 11,60 mg/dl, y una disminución de la anemia (hemoglobina menor a 11,00 mg/dl) del 60 % al 20 % (Nogueira de Almeida et al., 2003, 27). En Teresina, Brasil, se suministró un *snack* rico en proteína, vitaminas y hierro, a niños con anemia entre 32 y 72 meses de edad, el cual generó una reducción del 61,5 % al 11,5 % de prevalencia de la enfermedad (Moreira et al., 2008, 158).

En Vietnam se estableció que el consumo de salsa de pescado fortificado con etilendiaminotetraacetato ferrosódico (NaFeEDTA), puede aumentar el estado nutricional de hierro, incrementado los valores de ferritina de 13,6 mg/L a 30,9 mg/L y minimizando la deficiencia en las mujeres anémicas de esta población (Thuy et al., 2003, 284), mientras que en la India, un estudio llevado a cabo durante dos años, donde se le brindó a la población curry fortificado con hierro, mostró una reducción de la

anemia por deficiencia de hierro del 22 % al 5 % en la población femenina y un aumento de los niveles de ferritina en la población masculina (Ballot et al., 1989, 162).

De igual manera, se ha demostrado que la fortificación con hierro de bebidas como la avena (Trinidad et al., 2014, 124) y las fórmulas para bebés (Maldonado Lozano et al., 2007, 591) ofrecen un mecanismo para aumentar los niveles del mineral en niños y así minimizar la presencia de anemia.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que el hierro también hace parte de los procesos de investigación que se llevan a cabo en bio-fortificación, y surge como una metodología para lograr la incorporación de nutrientes en alimentos vegetales durante su producción primaria, gracias a la importancia de los productos agrícolas en la canasta familiar, nuevamente como alternativa para dar solución a las deficiencias nutricionales de la población. Por ejemplo, se ha evaluado la posibilidad de incrementar la concentración de hierro en el arroz, a través de su adición en los suelos de cultivo del cereal, con el fin de aumentar la absorción desde las raíces de la planta, gracias a los mecanismos de reducción y solubilización que han surgido como respuesta evolutiva de los cultivos (Bashir et al., 2013, 1624). De igual manera, se ha utilizado la manipulación genética, para mejorar el almacenamiento del hierro en los granos de arroz, logrando la expresión de la ferritina, proteína encargada de dicho proceso (Masuda et al., 2012, 1).

### **Compuestos de hierro utilizados para la fortificación de alimentos**

Compuestos de alta solubilidad como el sulfato ferroso aportan hierro de alta bio-disponibilidad para ser adicionado, pero poseen la desventaja de permitir que el hierro libre iónico interactúe con los componentes del alimento, produciendo cambios en las propiedades sensoriales del mismo, además este metal ayuda a la oxidación de los

ácidos grasos insaturados y al enranciamiento de los lípidos ya que actúa como catalizador (Boccio y Monteiro, 2004, 73). El proceso de oxidación afecta las vitaminas y las enzimas, disminuyendo el valor nutricional del alimento (Hurrell, 1997, 212), sin embargo, estudios recientes están encaminados a la utilización de compuestos que ayuden a evitar la oxidación producida por el hierro orgánico empleado para la fortificación, es así como se ha establecido que el uso de palmitato ascorbilo, podría generar estabilidad oxidativa en productos de panificación, mientras que el ácido cítrico actúa como sustancia pro-oxidante (Alemán et al., 2014, 300-301).

Otros compuestos como el fumarato ferroso y succinato ferroso, son de solubilidad media y presentan buena bio-disponibilidad. Sin embargo, poseen la restricción de ser utilizados en alimentos líquidos, ya que se precipitan en medios acuosos y la fracción del hierro interactúa con el alimento. Finalmente, compuestos como el orto-fosfato-férrico y el hierro elemental son de baja solubilidad y por lo tanto no producen cambios significativos en el alimento, pero presentan la desventaja de una reducida absorción y a su vez una baja bio-disponibilidad (Boccio y Monteiro, 2004, 74).

La utilización de compuestos de hierro protegidos, surgen como una estrategia para fortificar los alimentos debido a la necesidad de la industria, por elementos con alta bio-disponibilidad y que no interactúen con el alimento. Uno de estos es el sulfato ferroso estabilizado o micro encapsulado, en el cual, la sal se encuentra protegida por una membrana de almidón/maltodextrina/goma arábica (Gupta et al., 2015, 622) o por fosfolípidos (Boccio et al., 1997, 240), evitando la interacción del metal con el alimento. Sin embargo, es importante tener en cuenta, que los altos costos de procesamiento (micro encapsulación) se desplazan al producto final, lo que restringe su utilización. Otro ejemplo de un compuesto protegido es el hierro aminoquelado, que mostró mayor

efectividad que el sulfato ferroso, en un estudio clínico en niños pre-escolares con deficiencia de hierro (sin anemia), llevado a cabo en la ciudad de Medellín Colombia, y que tenía como objetivo determinar la eficacia de la fortificación de leche con los dos compuestos. Se concluyó que aunque ambos compuestos aumentaron los niveles de ferritina en el organismo, el grupo de niños que consumió hierro amino-quelado logró un aumento mayor que los que consumieron sulfato ferroso (Rojas et al., 2013, 350). De igual manera, se ha evaluado la biodisponibilidad de este compuesto cuando es adicionado en agua, y se encontró que hay una relación entre la absorción del hierro y la ferritina en el suero, mostrando que, para este caso, la absorción del bisglicinato ferroso esta regulada por las reservas de hierro en el organismo (Olivares y Pizarro, 2001, 22), además, se ha encontrado que este compuesto de hierro adicionado en un alimento de maíz, no interactúa con el hierro presente en el maíz y se absorbe mejor que cuando se utiliza sulfato ferroso (Bovell-Benjamin, Viteri y Allen, 2000 1563).

Por otro lado, compuestos estabilizados como el EDTA-Fe (etildiaminotetraacetato ferroso), presentan una elevada bio-disponibilidad en presencia de inhibidores y son estables en los procesos industriales, no obstante, generan cambios de color en las matrices alimenticias en las que se adicionan (Boccio y Monteiro, 2004, 74).

Finalmente y como se ha mencionado con anterioridad, existen diversos productos alimenticios que representan la principal fuente de hierro en la dieta. Un ejemplo de ello son las frutas y verduras. A continuación se presentan las principales características de las frutas utilizadas como materia prima durante la presente investigación.

## Frutas

Para la presente investigación se utilizaron cuatro frutas pequeñas: uchuva, fresa, mora y gulupa, dada su importancia durante la formulación de proyectos estatales que buscan dar valor agregado a las mismas, y teniendo en cuenta los crecientes niveles de producción en la región.

### Uchuva

#### *Descripción:*

La uchuva (*Physalis peruviana*), ver Figura 1, pertenece a la familia de las solanáceas del reino plantae y al género *physalis*, se caracteriza por ser una baya jugosa, azucarada y carnososa de color amarillo, que se desarrolla dentro de un cáliz para su protección del medio externo (Marin, Cortes, y Montoya, 2010, 5395). Esta especie se caracteriza por presentar más de ochenta variedades, siendo la uchuva originaria de los Andes, la más reconocida (Mendoza, Rodríguez, y Millán, 2012, 189),

**Figura 1.** Uchuva (*Physalis peruviana* L.)



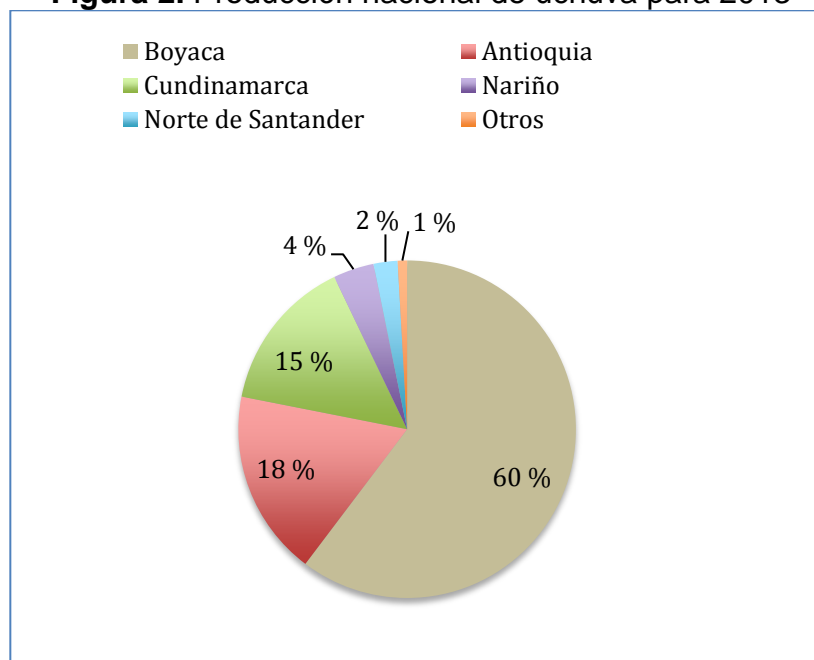
**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

**Producción nacional:**

La uchuva crece entre los 1500 y los 3000 metros sobre el nivel del mar, sin embargo, en Colombia los mejores cultivos se ubican a una altura entre los 1800 y los 2800, con una temperatura entre 13 y 18 °C y una humedad relativa promedio entre 70 y 80 %.

La producción nacional de uchuva alcanzó las 12873 toneladas con 880 hectáreas cultivadas para el 2013, siendo Boyacá, Antioquia y Cundinamarca los principales departamentos productores de esta fruta, como se observa en la Figura 2 (Agronet, 2013).

**Figura 2.** Producción nacional de uchuva para 2013



**Fuente:** Sistema de Estadísticas Agropecuarias (Agronet, 2013)

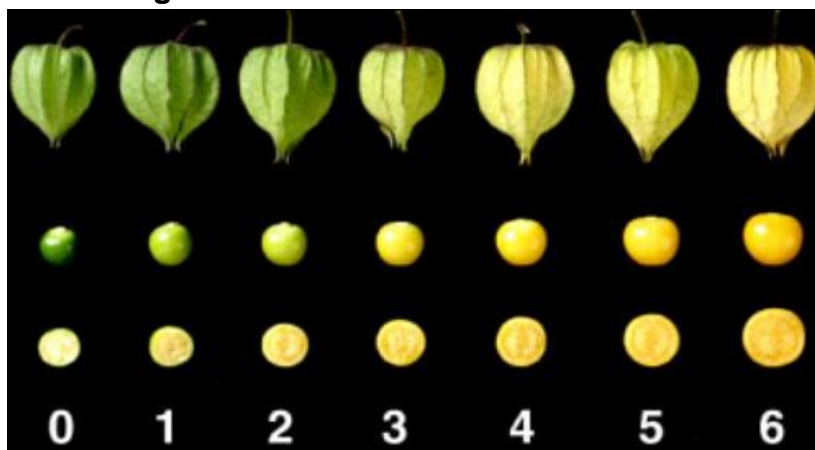
Gracias a la productividad de la uchuva a nivel nacional, y a su característica de fruta exótica que goza de un alto posicionamiento en los mercados internacionales por su precio elevado y consumo elitista (José y Velásquez, 2008, 39), se logró para el

2014 alcanzar exportaciones de esta fruta por un valor de 30,2 millones de USD (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015)

***Características fisicoquímicas:***

En la norma técnica Colombiana 4580 (ICONTEC, 1999, 5), la uchuva se clasifica en 6 grados según su madurez, siendo el nivel 0, el fruto fisiológicamente desarrollado pero que presenta un color verde oscuro, mientras que el nivel 6 corresponde al fruto de color naranjado intenso, como se muestra en la Figura 3. Adicionalmente, se ha encontrado que la madurez influye directamente en el contenido de compuestos bio-activos, en donde el aumento del color amarillo se relaciona con un aumento en el contenido de carotenos (Repo de Carrasco y Encina Zelada, 2008, 121).

**Figura 3.** Tabla de color de la uchuva



**Fuente:** Norma Técnica Colombiana 4580. Frutas Frescas. Uchuva (ICONTEC, 1999, 5)

Cada uno de los niveles establecidos en la norma, presenta características químicas específicas como se presenta en la Tabla 4 y se relacionan con el índice de madurez.

**Tabla 4.** Características químicas de la uchuva

Estado	°Brix mínimo	% de Ácido cítrico máximo	Índice de madurez
Cero	9,4	2,69	3,5
Uno	11,4	2,7	4,2
Dos	13,2	2,56	5,2
Tres	14,1	2,34	6
Cuatro	14,5	2,03	7,1
Cinco	14,8	1,83	8,1
Seis	15,1	1,68	9

**Fuente:** (ICONTEC, 1999, 5)

La uchuva a ganado importancia debido a su uso como alimento nutraceútico para el tratamiento de hepatitis, dermatitis y reumatismo (Wu et al., 2004, 2061), al igual que por su contenido de algunos compuestos químicos reconocidos por sus propiedades citotóxicas contra diversos tipos de cáncer incluyendo el de seno (Lan et al., 2009, 462; Wu et al., 2004, 2061). Todos estos beneficios atribuidos a la uchuva están determinados por su contenido de nutrientes, que se muestran en la Tabla 5 (Floréz, Fisher, y Sora, 2000, 112) y compuestos antioxidantes (Wu et al., 2005, 965) e inmuno-moduladores (Marín, Cortés, y Montoya, 2010, 5396).

**Tabla 5.** Composición nutricional de uchuva (por 100 g de pulpa)

<b>Componente</b>	<b>Contenido</b>
Calorías (Kcal)	54,00
Agua (g)	79,60
Proteína (g)	1,10
Grasa (g)	0,40
Carbohidratos (g)	13,10
Fibra (g)	4,80
Ceniza (g)	1,00
Calcio (mg)	7,00
Fósforo (mg)	38,00
Hierro (mg)	1,20
Vitamina A (UI)	648,00
Tiamina (mg)	0,18
Riboflavina (mg)	0,03

**Fuente:** (Floréz, Fisher, y Sora, 2000, 112)

## **Fresa**

### **Descripción:**

La fresa (*Fragaria ananassa Duch*), ver Figura 4, pertenece a la familia *Rosaceae* y se caracteriza por ser considerada como la fruta del placer (Dominí, 2012, 34). Su fruto se encuentra formado por receptáculos carnosos y jugosos de color rojo brillante, con sabor y aroma característicos (Resende et al., 2008, 371).

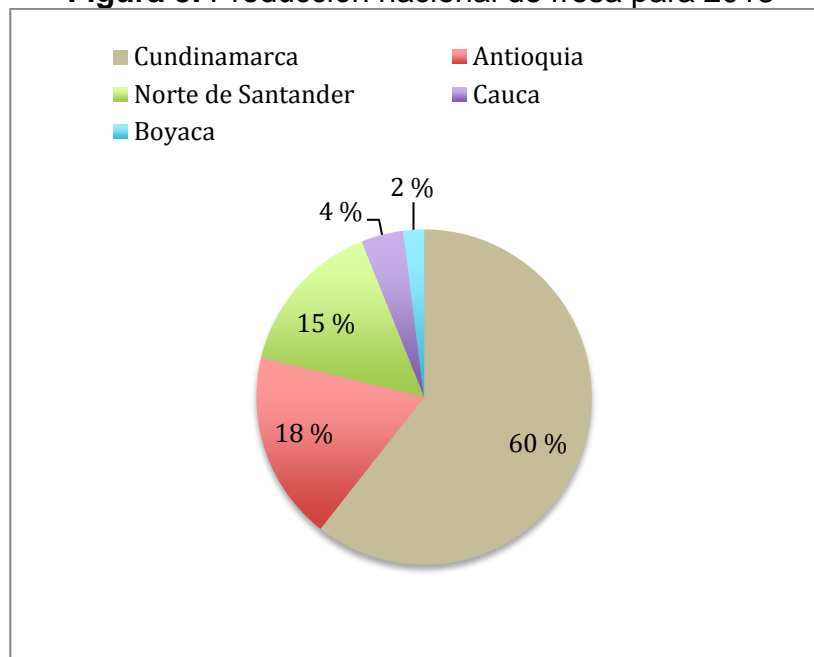
**Figura 4.** Fresa (*Fragaria ananassa*)



**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

***Producción nacional:***

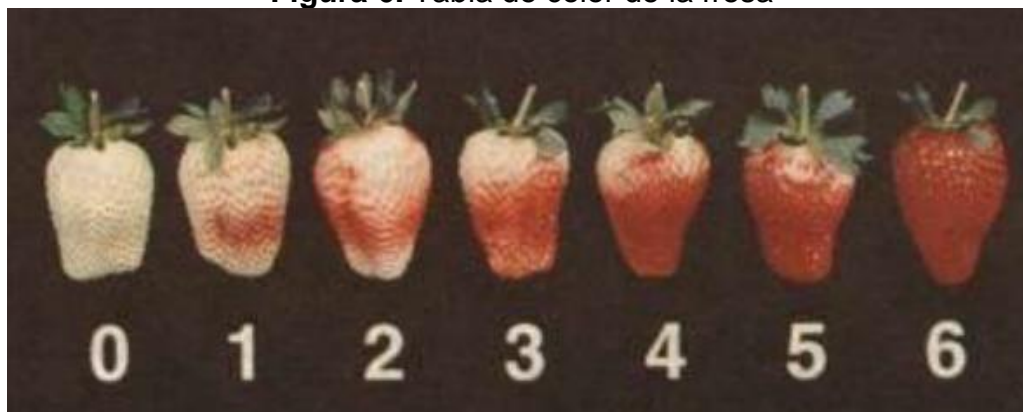
Colombia no es uno de los principales productores de fresa a nivel mundial, su producción nacional para el 2013 fue de 42453 toneladas con un área sembrada de aproximadamente 1201 hectáreas, concentrada en los departamentos de Cundinamarca, Antioquia y Norte de Santander, como se aprecia en la Figura 5, convirtiéndose en una de las frutas cuya exportación evidenció un incremento del 30 % en el 2013 con respecto al 2012 (Agronet, 2013).

**Figura 5.** Producción nacional de fresa para 2013

**Fuente:** Sistema de Estadísticas Agropecuarias (Agronet, 2013)

***Características fisicoquímicas:***

Según la NTC 4103 (ICONTEC, 1997<sup>a</sup>, 5), la madurez de la fresa variedad Chandler (*Fragaria chiloensis* L.) se aprecia visualmente por su color externo que varía conforme el fruto se va desarrollando, comenzando en un tono blanco verdoso bien desarrollado, luego aumenta el área de color rojo y finalmente cubre toda la fruta, como se observa en la Figura 6, donde se aprecian los 6 niveles de maduración de la misma (ICONTEC, 1997<sup>a</sup>, 5).

**Figura 6.** Tabla de color de la fresa

**Fuente:** Norma Técnica Colombiana 4580. Frutas Frescas. Fresa (ICONTEC, 1997<sup>a</sup>, 5)

La expresión de color de la fresa se asocia con la concentración y composición de antocianinas. Las principales antocianinas son pelargonidina-3-glucósido, pelargonidina-3-malonylglucoside, pelargonidina-3-rutinósido y cianidina-3-glucósido, pero la composición varía con el genotipo; mientras que la concentración total de antocianinas aumenta significativamente durante la maduración (Aaby et al., 2012, 86).

Los seis niveles de color establecidos en la norma (ICONTEC, 1997a, 5), presentan características químicas específicas como se presenta en la Tabla 6 que actúan como punto de partida para los procesos de recolección, poscosecha y procesamiento.

**Tabla 6.** Estados de madurez de la fresa

Estado	°Brix mínimo	°Brix máximo	% de Ácido cítrico máximo
Cero	6	6,5	1,07
Uno	6,3	6,8	1,01
Dos	6,5	7,1	0,99
Tres	6,8	7,3	0,96
Cuatro	6,9	7,5	0,93
Cinco	7,4	8,1	0,9
Seis	16,4	8,5	0,89

**Fuente:** (ICONTEC, 1997a, 5)

La fresa, se destaca por su contenido de vitaminas y minerales como se muestra en la Tabla 7 (Giampieri et al., 2012, 10), y por contener diversos compuestos antioxidantes como flavonoides, taninos y ácidos orgánicos, los cuales ayudan a minimizar el riesgo de enfermedades cardiovasculares y mejoran el perfil lipídico en plasma, los marcadores biológicos del estado antioxidante y anti hemolítico (Alvarez-Suarez et al., 2014, 289).

**Tabla 7.** Composición nutricional de la fresa (por 100 g de pulpa)

Componente	Contenido
Calorías (Kcal)	32,000
Agua (g)	90,950
Proteína (g)	0,670
Grasa (g)	0,300
Carbohidratos (g)	7,680
Fibra dietaria (g)	2,000
Ceniza (g)	0,400
Calcio (mg)	16,000
Hierro (mg)	0,410
Vitamina C (mg)	58,800
Tiamina (mg)	0,0240
Riboflavina (mg)	0,0220

**Fuente:** (USDA, 2014)

## Mora

### *Descripción:*

La mora (*Rubus glaucus Benth*), ver Figura 7, conocida comúnmente como mora de castilla, es una fruta originaria de Sur América, mide aproximadamente 1 a 2,5 cm de largo y está compuesta por pequeñas drupas que se caracterizan por su color rojo oscuro y sabor entre dulce y ácido (Osorio et al., 2012, 1916), sin embargo la mora es perecedera debido a su estructura física, por lo que en la actualidad la mayor comercialización de esta fruta se lleva a cabo en forma de productos procesados como dulces y jaleas, dificultando su exportación como fruta fresca (Pérez-moncada et al., 2012, 141).

**Figura 7.** Mora (*Rubus glaucus*)



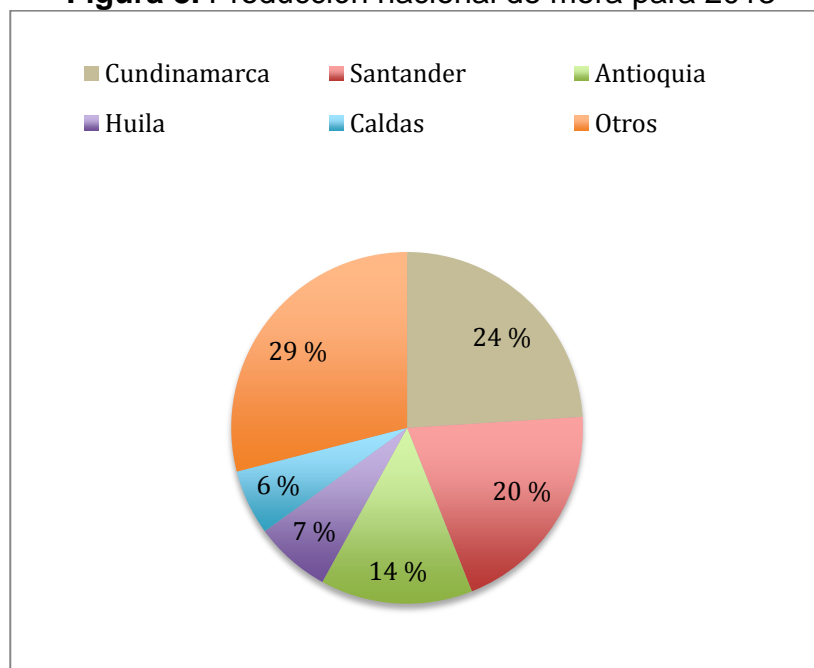
**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

### *Producción nacional:*

En Colombia durante el año 2013, se produjeron 105285 toneladas de mora, cultivadas en 11986 hectáreas, principalmente en los departamentos de Cundinamarca,

Santander y Antioquia (Agronet, 2013), como se observa en la Figura 8. En cuanto a las exportaciones de esta fruta, no se cuenta con valores específicos, ya que a pesar de que Colombia es uno de los principales productores de mora a nivel mundial, sus características físicas y químicas hacen que para esta, se recomiende la mínima manipulación después de su cosecha y un tiempo de comercialización de 12 horas, dificultando los procesos de exportación (Grijalba Rativa et al., 2010, 26), debido a la falta de tecnificación de los procesos de pos-cosecha en el país.

**Figura 8.** Producción nacional de mora para 2013



**Fuente:** Sistema de Estadísticas Agropecuarias (Agronet, 2013)

#### ***Características fisicoquímicas:***

Para la mora de castilla, en Colombia se cuenta con una norma técnica a partir de la cual esta fruta se clasificó en 6 estados de madurez. En la Figura 9 se muestra la tabla de color correspondiente a los 6 niveles de maduración (ICONTEC, 1997b, 5).

**Figura 9.** Tabla de color de la mora

**Fuente:** Norma Técnica Colombiana 4580. Frutas Frescas. Mora de castilla. (ICONTEC, 1997b, 5)

El estado de madurez de la mora se confirma por medio de la determinación de los sólidos solubles totales, acidez titulable y el índice de madurez el cual se obtiene de la relación entre el valor mínimo de los sólidos solubles totales contra el valor máximo de la acidez titulable. Los valores mínimos y máximos de los sólidos solubles totales ( $^{\circ}\text{Bx}$ ) y los valores de la acidez titulable (% de ácido málico) de acuerdo con la tabla de color se muestran en la Tabla 8 (ICONTEC, 1997b, 5)

**Tabla 8.** Características químicas de la fresa la mora de Castilla

Estado	$^{\circ}\text{Brix}$ mínimo	$^{\circ}\text{Brix}$ máximo	% de Ácido cítrico máximo
Cero	5,4	5,7	3,3
Uno	5,7	6,1	3,4
Dos	5,9	6,4	3,5
Tres	6,3	6,9	3,4
Cuatro	6,7	7,3	3,1
Cinco	7,2	7,9	2,8
Seis	7,7	8,5	2,5

**Fuente:** (ICONTEC, 1997b, 6)

La mora dentro de su composición nutricional como se muestra en la Tabla 9 presenta vitaminas, minerales (USDA, 2014) y sustancias antioxidantes como ácidos

orgánicos, flavonoides y antocianinas (Garzón, Riedl, y Schwartz, 2009, 227) que han incrementado el interés por esta fruta.

**Tabla 9.** Composición nutricional de la mora (por 100g de pulpa)

<b>Componente</b>	<b>Contenido</b>
Calorías (Kcal)	43
Agua (g)	88,15
Proteína (g)	1,39
Grasa (g)	0,49
Carbohidratos (g)	9,61
Fibra (g)	5,3
Ceniza (g)	-
Calcio (mg)	29
Fósforo (mg)	22
Hierro (mg)	0,62
Vitamina A (U.I.)	214
Riboflavina (mg)	0,026
Niacina	0,646
Vitamina C (mg)	21

**Fuente:** (USDA, 2014)

## **Gulupa**

### **Descripción:**

La gulupa (*Passiflora edulis Sims*), ver Figura 10, pertenece al género de las pasifloras que comprende aproximadamente 450 especies nativas del sur de los Andes (Carvajal et al., 2011, 355), que se caracterizan por presentar dentro del fruto, semillas rodeadas por la pulpa (Jiménez et al., 2011, 1912). Esta fruta redonda con diámetro entre 4 y 6 cm, presenta coloración de verde a púrpura oscuro dependiendo de su estado de madurez, mientras que la pulpa presenta color amarillo con aroma intenso y sabor ácido (Pinzón, Fisher, y Corredor, 2007, 84). Su pulpa que representa entre el 37

al 44 % del fruto, está recubierto por la cáscara (46 a 52 %) y contiene entre 9 y 11 % de semillas (Orjuela Baquero et al., 2011, 9).

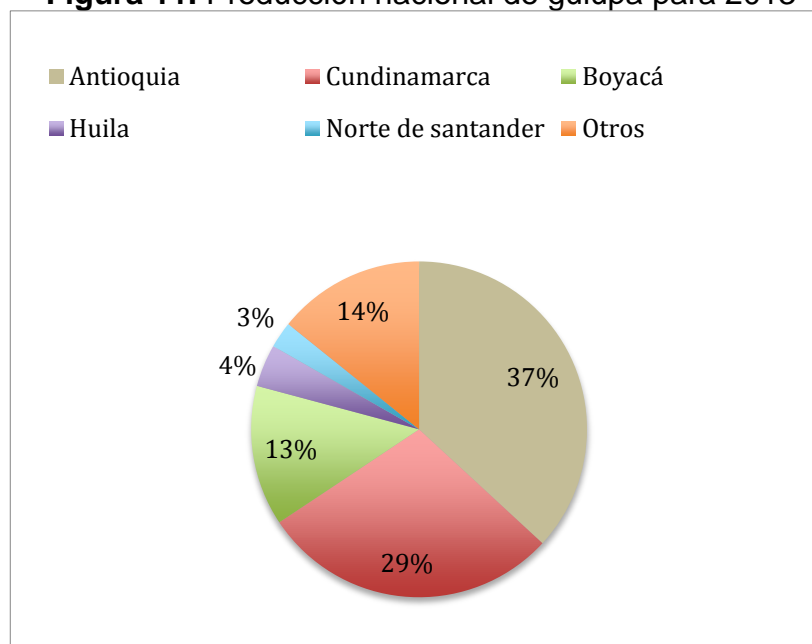
**Figura 10.** Gulupa (*Passiflora edulis* Sims)



**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

***Producción nacional:***

En Colombia, la producción de la gulupa se centra en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca y Boyacá como se presenta en la Figura 11, con un área sembrada a nivel nacional de 480 hectáreas y una producción total de 6304 toneladas para el 2013 (Agronet, 2013). En cuanto a las exportaciones de esta fruta, no se cuenta con valores específicos, ya que estos se incluyen en los reportes de las exportaciones de maracuyá, sin embargo la venta de gulupa en el exterior representó en el 2012 la entrada de 12.047.548 dólares al país hacia los Países Bajos, Alemania, Canadá y Francia (Legiscomex, 2013).

**Figura 11.** Producción nacional de gulupa para 2013

Fuente: Sistema de Estadísticas Agropecuarias (Agronet, 2013)

***Características fisicoquímicas:***

A diferencia de las frutas presentadas anteriormente, la gulupa no presenta Norma Técnica Colombiana que permita establecer los criterios de madurez de esta fruta, sin embargo, en estudios realizados por Pinzón et al., 2007 se establecieron 6 niveles de color que se muestra en la Figura 12 y que se asocian con las características químicas que se presentan en la Tabla 10.

**Figura 12.** Tabla de color de la gulupa

**Fuente:** Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (Pinzón et al., 2007, 85)

**Tabla 10.** Características químicas de la gulupa

Estado	°Brix mínimo	% de Ácido cítrico
Cero	11,89	5,73
Uno	13,79	5,14
Dos	15,17	4,99
Tres	15,9	4,65
Cuatro	15,92	3,97
Cinco	16,21	3,92
Seis	16,14	3,72

**Fuente:** (Pinzón et al., 2007, 92)

Al igual que otras especies pertenecientes al género de las pasifloras, la gulupa presenta un incremento en su aceptación a nivel internacional, al tratarse de una fruta exótica que presenta características sensoriales, nutracéuticas y nutricionales de gran importancia en los mercados exteriores (Jiménez et al., 2011, 1912), tal y como se observa en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Composición nutricional de la gulupa (por 100 g de pulpa)

<b>Componente</b>	<b>Contenido</b>
Agua (g)	74,40- 88,90
Proteína (g)	0,39- 3,00
Grasa (g)	0,05-0,70
Carbohidratos (g)	13,60- 21,20
Fibra (g)	0,01-0,04
Ceniza (g)	0,30-1,36
Calcio (mg)	3,60-13,00
Fósforo (mg)	12,50-21,00
Hierro (mg)	0,24-1,70
Vitamina C (mg)	18,00-30,00
Vitamina A (UI)	712-718
Riboflavina (mg)	0,10-0,15

**Fuente:** (Ocampo Pérez et al., 2012, 11; Ojasild, 2009, 12)

Las cuatro frutas mencionadas anteriormente se consumen en fresco, como parte de la dieta, sin embargo existen diversos procesos que permiten su transformación para la obtención de nuevos productos alimenticios. A continuación, se presentan las principales características de los refrescos de frutas, como producto que se puede desarrollar a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva.

### **Refresco de frutas**

Un refresco de fruta, es el producto elaborado a partir de jugo o pulpa de frutas o la mezcla de éstas, con un contenido mínimo de fruta del 8 %, adicionado con agua y aditivos permitidos, sometidos a un tratamiento de conservación (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 16).

Este producto, debe cumplir con ciertas características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas establecidas en la normativa Colombiana.

### Características fisicoquímicas

Cuando el producto se elabora con dos o más jugos (zumo) o pulpa de fruta, los sólidos solubles totales de fruta en el producto están determinados por la suma del aporte porcentual de sólidos solubles de cada una de las frutas constituyentes. La fruta predominante será la que más sólidos solubles aporte a la formulación.

Los sólidos solubles o °Brix, determinados mediante lectura refractométrica a 20 °C en porcentaje w/w no debe exceder 13,0, mientras que el pH debe ser máximo 4 y la acidez titulable expresada como ácido cítrico no debe ser inferior a 0,2 % (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17).

### Características microbiológicas

Las características microbiológicas de los refrescos con fruta sometidas a proceso de pasteurización, se presentan en la Tabla 12.

**Tabla 12.** Requerimientos microbiológicos de los refrescos de fruta

Requisito	n	m	M	C
Recuento de microorganismos mesófilos ufc/g o ml	5	100	300	1
Recuento E coli ufc/g o ml	5	<10	-	0
Recuento de mohos y levaduras ufc/g o ml	5	10	100	1

n: número de unidades a examinar, m: índice máximo permisible para identificar nivel buena calidad, M: índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad y C: número máximo de muestras permisibles con resultado entre m y M

**Fuente:** (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 18).

Los requisitos, establecen los índices máximos para establecer si el refresco es de buena calidad microbiológica o si presenta nivel aceptable de calidad. Así mismo, presenta la cantidad de muestras que deben ser evaluadas, y el número máximo permisible para cada parámetro.

## **Importancia de las bebidas en la alimentación infantil**

La principal razón por la que se realiza la inclusión de bebidas en la dieta, es que estas constituyen la primera fuente de agua en el organismo (Lajusticia Bergasa, 2005, 59), compuesto reconocido como solvente vital, importante, al ser el principal constituyente de los fluidos corporales, el producto final de las reacciones de óxido-reducción, el medio en el cual se transportan los nutrientes hacia las células y el compuesto a través del cual se diluyen y transportan los desechos metabólicos tóxicos generados (Rodríguez Rivera y Magro, 2008, 117). En los niños, la necesidad de agua es de 1 a 1,5 ml por Kcal metabolizada, y es esencial para alcanzar los objetivos nutricionales de esta etapa: lograr el crecimiento adecuado, evitar el déficit de nutrientes y consolidar hábitos alimentarios saludables (Hernández Rodríguez, 2001, 73). Particularmente, en la edad pre-escolar, etapa que inicia cuando el niño adquiere autonomía para caminar hasta que empieza a asistir a la escuela (Feigelman, 2011, 76), se caracteriza por un crecimiento lento y estable, y una disminución del apetito, relacionado con los caprichos del niño, es decir, en este período él adquiere sus preferencias, influidas por aspectos sensoriales, como sabor, olor y aspecto (García de Moizat et al., 2011, 118), en otras palabras, y como se mencionó anteriormente, es en esta etapa, donde se deben enseñar hábitos para una alimentación saludable, que incluyan también el consumo de frutas y verduras, que como se mencionó anteriormente, constituyen la principal fuente de vitaminas y minerales en la dieta. Sin embargo, a pesar de esta importancia, se ha encontrado que solo el 5,17 % de los niños consumen 3 o más raciones de fruta al día en España (Alba Tamarit et al., 2012, 64), mientras que en Venezuela, las frutas no se encuentran entre los alimentos más consumidos por esta población (Del Rea et al., 2005, 279). No obstante, en México, se

encontró que los niños en edad pre-escolar, tienen preferencia por los jugos o bebidas de fruta, y los asocian con estilos de vida saludables (Campos Rivera y Reyes Lagunes, 2014, 1385).

La situación anterior, es un ejemplo clave de la importancia que hay en el mercado actual por generar productos alimenticios dirigidos a la edad pre-escolar, a partir de frutas, que actúen como precursores de hábitos alimentarios saludables y contribuyan al mantenimiento de los niveles nutricionales normales, importantes para los procesos de crecimiento y desarrollo característicos de esta población.

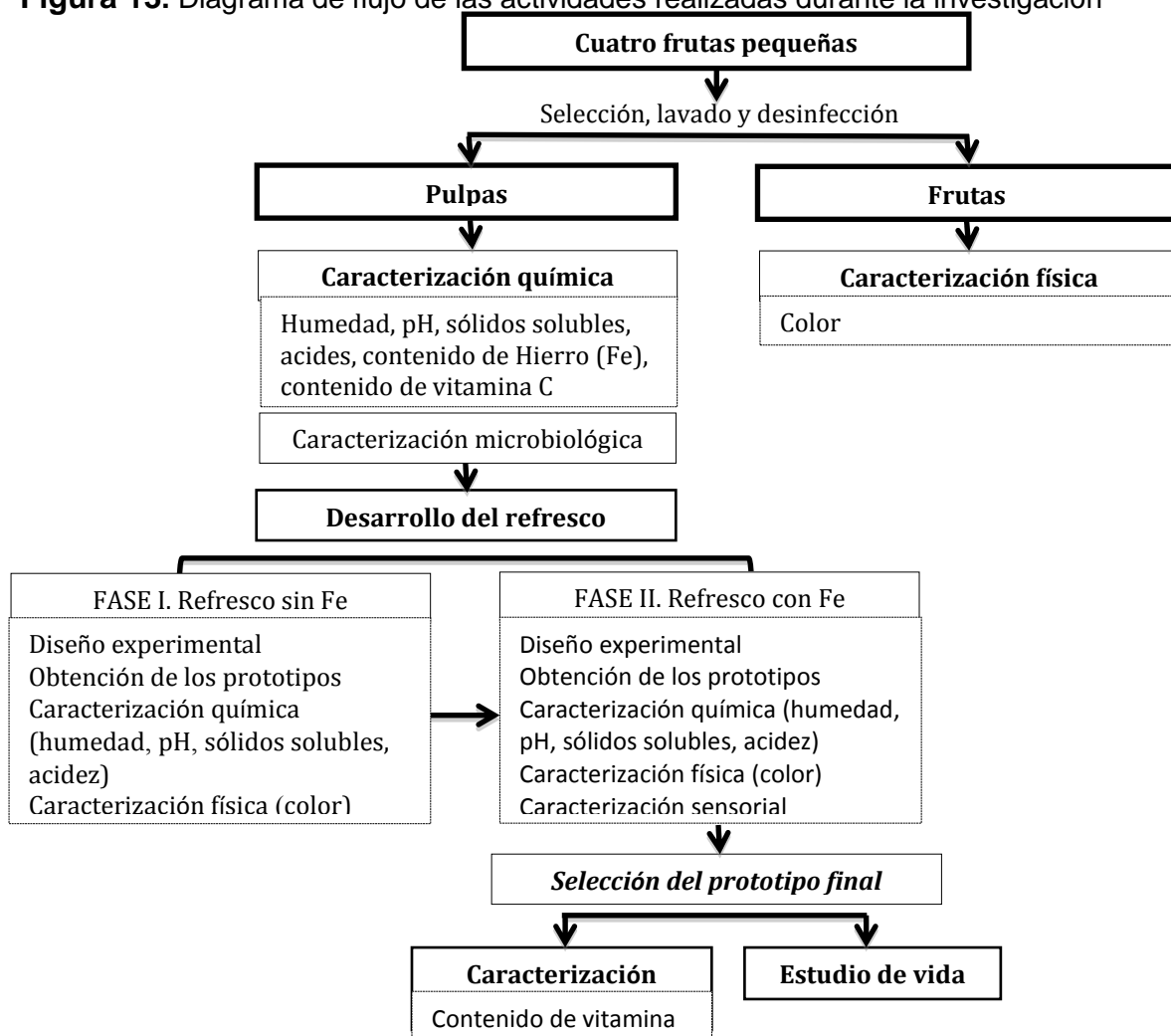
Por otro lado, se ha establecido la importancia de las bebidas como producto a fortificar para disminuir o prevenir problemas nutricionales asociados a la deficiencia de nutrientes (Sichert-Heller y Kersting, 2001, 356). Ejemplo de esto son los estudios realizados en Botswana y Tanzania, donde se brindó a niños de bajos ingresos, una bebida multi-fortificada durante 8 semanas y 6 meses respectivamente, observándose un incremento en el estatus nutricional de los pequeños (Abrams et al., 2003, 1834; Ash et al., 2003, 891).

Finalmente, es importante destacar, que la Organización Mundial de la Salud ha reportado una creciente preocupación por la asociación entre el consumo de bebidas de fruta con azúcar y la obesidad (World Health Organization, 2015, 7). Sin embargo se ha observado que si bien el consumo de jugos de fruta incrementa el aporte de energía en niños, no aumenta el índice de masa corporal a corto plazo (O'Connor, Yang, y Nicklas, 2006, 1010), debido muy posiblemente a los requerimientos energéticos propios de dicha población, es decir, una dieta balanceada donde se incluyan refrescos a partir de frutas, continúa siendo una posibilidad de transformación y establecimiento de hábitos de vida saludables.

## Materiales y métodos

En el presente capítulo, se tratan las metodologías utilizadas durante el desarrollo de la investigación, y los procedimientos que se realizaron para dar cumplimiento a los objetivos presentados anteriormente. Se incluyen las actividades llevadas a cabo durante la caracterización de las cuatro frutas, el desarrollo del refresco y el estudio de vida útil. En la Figura 13, se presenta el diagrama de flujo, que resume dichas actividades.

**Figura 13.** Diagrama de flujo de las actividades realizadas durante la investigación



**Fuente:** Diagrama desarrollado por el autor

## Caracterización de las cuatro frutas pequeñas

### Caracterización química

Las cuatro frutas pequeñas seleccionadas fueron lavadas con agua potable y desinfectadas por inmersión en una solución al 1,3 % de ácido peracético (Kyanko et al., 2010, 125) durante 15 minutos, con lavado posterior. Acondicionadas las frutas, se procedió a la disminución del tamaño de cada una para obtener su pulpa, utilizando una licuadora VITAMIX. En el caso de la fresa, la mora y la uchuva, el licuado se realizó en el nivel medio/alto de velocidad por 40 segundos, mientras que para la gulupa, se llevó a cabo la extracción manual de la pulpa y se separó de las semillas licuando en el nivel bajo/medio de velocidad durante 40 segundos. Obtenidas las pulpas, se procedió a la caracterización que se trata a continuación.

#### ***Humedad:***

La determinación del contenido de humedad, se realizó por triplicado utilizando el método gravimétrico oficial AOAC 934.01/05 modificado, pesando 2 g de la pulpa en cápsulas de porcelana previamente taradas durante 30 minutos a 105 °C y enfriadas en desecador por 15 minutos. Las cápsulas con las muestras fueron transferidas a una estufa de secado por convección natural hasta que alcanzaran peso constante a 105 °C.

El porcentaje de humedad, se calculó utilizando la ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{W_1 - W_2}{W} * 100 \quad (1)$$

$W_1$ : peso de la muestra húmeda (g)

$W_2$ : peso de la muestra seca (g)

***pH:***

La lectura del pH, se realizó por triplicado para cada pulpa de fruta, utilizando un potenciómetro marca *SCHOTT INSTRUMENTS* modelo Lab. 850, introduciendo el electrodo en la muestra de la pulpa de cada fruta, siguiendo el protocolo desarrollado que se presenta en el anexo A. El valor de pH fue registrado una vez el valor se estabilizara en su segunda cifra decimal.

***Sólidos solubles:***

Para las pulpas de las cuatro frutas pequeñas, se determinaron los sólidos solubles por triplicado a través de lectura refractométrica, utilizando un refractómetro digital marca ATAGO modelo pal-1, previamente calibrado con agua, en el cual se dispuso una gota de la pulpa de fruta, según el protocolo desarrollado, que se presenta en el anexo B. Los resultados se expresaron como °Brix.

***Acidez:***

La acidez total titulable se determinó por el método de titulación potenciométrica. Para esto, se tomaron 20 g de la pulpa, se aforaron a 100 ml con agua destilada y se procedió a la titulación con una solución de NaOH al 0,1N previamente estandarizada con ftalato ácido de potasio, hasta un valor de pH de  $8,1 \pm 0,2$ .

La acidez titulable se expresó como el porcentaje de ácido cítrico contenido en la fruta, y se calculó con la ecuación 2.

$$\% \text{ Ácido cítrico} = \frac{V * N * P_{eq}}{W} * 100 \% \quad (2)$$

V: volumen de NaOH utilizado para la titulación (ml)

N: Normalidad de la solución de NaOH (0,1 N)

P<sub>eq</sub>: peso equivalente del ácido cítrico (0,06404 g)

W: peso de la muestra (g)

### ***Vitamina C:***

La determinación de vitamina C presente en las cuatro frutas pequeñas se realizó en términos de ácido ascórbico, evaluando 2 metodologías.

La primera se realizó empleando un UHPLC *Thermo scientific* modelo *Ultimate 3000* acoplado a un detector Uv-Vis (Figura 14), dotado de una columna C-18, un automuestreador *Dionex Ultimate 3000 RS* y un detector UV-VIS *Thermo Dionex UltiMate 3000*. En este caso, la extracción del ácido ascórbico se realizó en una solución de ácido metafosfórico (Abushita et al., 1997, 208; Gutzeit et al., 2008, 616; Kubola, Siriamornpun, y Meeso, 2011, 974; Ramful et al., 2011, 2090) mezclando 10 g de pulpa de fruta con 50 ml de ácido, seguido de agitación durante 5 minutos y centrifugación a 9000 rpm por 20 minutos, para finalmente filtrar la solución resultante con discos de 0,25 μm e inyectar la muestra en el equipo. La lectura se realizó a una longitud de onda de 245 nm, y los resultados se obtuvieron teniendo en cuenta la curva de calibración realizada a partir de una solución patrón de ácido ascórbico en ácido metafosfórico.

**Figura 14.** UHPLC *Thermo scientific* modelo *Ultimate 3000*



**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

La segunda metodología evaluada fue la colorimétrica 2-nitroanilina, extrayendo el analito en una solución de ácido oxálico al 0,15 %, seguido de la lectura en un espectrofotómetro UV-Visible marca Thermo, modelo *Evolution 600* (Figura 15) a una longitud de onda de 540 nm.

**Figura 15.** Espectrofotómetro *Thermo scientific* modelo *Evolution 600*



**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

### ***Hierro:***

El hierro presente en las frutas y en el refresco final se cuantificó utilizando la técnica analítica de espectroscopia de absorción atómica posterior a una digestión ácida, según el método establecido por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (United States Environmental Protection Agency, 1996, 3). Para esto se secó 1 kg de cada fruta a 100 °C durante 48 horas y el material resultante se tamizó utilizando un tamiz # 8 de la serie ASTM *standard*, con el fin de obtener partículas de 2 mm, a partir de las cuales se obtuvo la muestra para proceder con la digestión ácida. Para esto se pesó 1 g de fruta seca en un recipiente para digestión, se adicionaron 10 ml de ácido nítrico 1:1 y se calentó a 95 °C por 15 minutos. Transcurrido el tiempo y una

vez enfriada la mezcla, se adicionaron 5 ml del mismo ácido y se dejó el sistema en reflujo por 30 minutos, con el fin de llevar a cabo el proceso de oxidación, el cual terminó una vez los gases generados fueran blancos, en caso contrario, se adicionaron nuevamente 5 ml de ácido nítrico hasta que la reacción de oxidación terminara. Finalmente, se dejó reducir la mezcla en calentamiento a 95 °C por 2 horas, hasta obtener un volumen final de aproximadamente 5 ml. Enfriado el sistema, se adicionaron 2 ml de agua, 3 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y se calentó hasta que la efervescencia terminara, adicionando 1 ml de peróxido de hidrógeno, teniendo especial cuidado en no adicionar más de 10 ml de esta sustancia. Logrado esto, se continuó el calentamiento a 95 °C por 2 horas para obtener una disminución del volumen hasta 5 ml. Enfriada la mezcla, se adicionaron 10 ml de ácido clorhídrico concentrado y se calentó por 15 minutos a 95 °C. Finalmente, enfriado el producto de la digestión, se filtró utilizando un papel filtro *whatman* No. 41 y se colectó el filtrado en un balón volumétrico de 100 ml.

Para el análisis instrumental, se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica de llama *Thermo Scientific* serie 3000, dotado de una lámpara de cátodo hueco de hierro, donde el combustible fue acetileno y el gas oxidante fue el aire. La lectura de la absorbancia se realizó a una longitud de onda de 248 nm, realizando primero la curva de calibración utilizando una solución patrón de hierro, grado analítico (United States Environmental Protection Agency, 1986, 2).

Debido a las variaciones observadas durante la caracterización de las frutas, se realizó la verificación de los resultados, cuantificando el hierro presente en las mismas por medio de espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). En este caso al igual que en el método anterior, las muestras fueron las

partículas de 2 mm obtenidas después del secado de cada fruta, y las cuales fueron sometidas a digestión ácida asistida por microondas. Para esto, se tomaron 0,5 gr de muestra y se adicionaron 10 ml de ácido nítrico concentrado y se procedió con la digestión hasta que la mezcla alcanzara los 175 °C. Posteriormente se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente y se centrifugó a 2000 rpm por 10 min, con el fin de obtener el sobrenadante libre de partículas, el cual fue transferido volumétricamente a un matraz y ajustado a un volumen conocido (United States Environmental Protection Agency, 2007, 2), para proceder con el análisis instrumental que se llevó a cabo en un equipo *Thermo Scientific*, según la norma EPA 6010C, utilizando una solución estándar de hierro en una mezcla caliente de 20 ml de HCL (1:1) y 2 ml de ácido nítrico concentrado (United States Environmental Protection Agency, 2000, 3).

### **Caracterización física**

Para la caracterización física de las cuatro frutas pequeñas, se realizó el análisis del color, partiendo de las frutas seleccionadas según los parámetros mencionados en el numeral 2.1.

El color se determinó en las coordenadas CIELAB, que se basan en el modelo de los colores opuestos, definiendo cada color a partir de unas coordenadas, siendo ( $L^*$ ) la luminosidad (tomando valores desde 0 (blanco) hasta 100 (negro)), ( $a^*$ ) la cromaticidad verde (-) a rojo (+), y ( $b^*$ ) la cromaticidad azul (-) a amarillo (+) (Mendoza et al., 2012, 192).

Utilizando un espectrofotómetro de esfera *X-rite* serie SP60, como el que se muestra en la Figura 16, se midieron los parámetros ( $L^*$ ), ( $a^*$ ) y ( $b^*$ ), para cada una de las frutas en tres puntos de la línea ecuatorial, siguiendo los pasos establecidos en el

protocolo que se presenta en el anexo C. Los resultados se expresaron como promedio aritmético.

**Figura 16.** Espectrofotómetro de esfera X-Rite (SP-60)



**Fuente:** Incorporated, X.-R. (2007). Guía Rapida. Serie SP60. Espectrofotómetro de esfera. Michigan.

Finalmente, se calcularon otros dos parámetros importantes para definir el color, el tono angular ( $h$ ) como atributo cualitativo de color y el croma ( $*C$ ) como atributo cuantitativo de color, según las ecuaciones 3 y 4 (Jiménez et al., 2011, 1913).

$$C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (4)$$

### **Caracterización microbiológica**

Los análisis microbiológicos de las frutas, se realizaron antes y después del proceso de desinfección, con el fin de determinar el porcentaje de remoción. En todos los casos, se realizó el recuento de aerobios mesófilos (ICONTEC, 2009, 10), mohos y

levaduras (ICONTEC, 1997c, 11) y *Escherichia coli* (ICONTEC, 2007, 12), teniendo en cuenta las Normativas Colombianas correspondientes.

Para el análisis, se realizó una solución madre de cada muestra, diluyendo 10 ml de pulpa de fruta en 90 ml de agua peptonada, a partir de la cual se realizaba la siembra, depositando 1 ml de muestra en la caja de Petri con el agar correspondiente (*sabouraud* o *plate count*). En el caso de la mora y la fresa sin desinfección, previo a la siembra, se realizó una dilución ( $10^1$ ), debido a la alta carga microbiana, característica de estas frutas. Transcurridas 24 horas y 8 días, se realizó el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) de manera manual y se realizó el cálculo del porcentaje de remoción a partir de la ecuación (5).

$$\% \text{ remoción} = \frac{UFC_F}{UFC_O} \quad (5)$$

Donde,  $UFC_F$ : son las unidades formadoras de colonia después del proceso de desinfección, y las  $UFC_O$  corresponden a las presentes en la fruta sin tratamiento.

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos durante la caracterización de las cuatro frutas pequeñas fueron analizados por medio de un análisis de varianza, utilizando el software *Statgraphics Centurion* Versión XVII.

### **Formulación del refresco fortificado con hierro a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva**

El desarrollo del refresco mixto fortificado con hierro, se dividió en 2 fases, la primera, correspondiente a la evaluación de los porcentajes de fruta y la segunda a la

evaluación del aporte de hierro a realizar en el producto. En ambas fases, la variable respuesta de los diseños experimentales correspondientes fue la aceptación del jugo, evaluado por medio de un análisis sensorial descriptivo- cuantitativo. A continuación, se describen las actividades llevadas a cabo en cada una de estas fases.

## **Fase I**

### ***Diseño experimental:***

La determinación de la formulación estándar del refresco, inició con la realización de un diseño experimental ortogonal (Taguchi) con 4 factores: % de fresa, % de mora, % gulupa y % de uchuva, cuyos niveles (3,75 %, 6,75 % y 10 %) fueron establecidos por ensayos preliminares donde se mezclaron diferentes porcentajes de las cuatro frutas y se determinaron los °Brix finales. Estos resultados permitieron establecer que el mayor porcentaje de fruta permitido en el refresco a partir de las cuatro frutas trabajadas fue del 40 %, para que este alcanzase los 13 °Brix permitidos en la normativa colombiana (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17), y a pesar de que la norma establece un contenido mínimo de fruta del 8 %, para la presente investigación se seleccionó como valor mínimo el correspondiente a 15 % de fruta, teniendo en cuenta también los ensayos preliminares mencionados anteriormente, y que en la presente investigación se buscaba aprovechar el mayor contenido de fruta.

La matriz de diseño obtenida por medio del software Minitab 1, se presenta en la Tabla 13.

**Tabla 13.** Matriz ortogonal de la fase I

% Gulupa	% Uchuva	% Mora	% Fresa
3,75	3,75	3,75	3,75
3,75	6,75	6,75	6,75
3,75	10,00	10,00	10,00
6,75	3,75	6,75	10,00
6,75	6,75	10,00	3,75
6,75	10,00	3,75	6,75
10,00	3,75	10,00	6,75
10,00	6,75	3,75	10,00
10,00	10,00	6,75	3,75

De igual manera, es importante aclarar, que el contenido de azúcar de la formulación no se incluyó en el diseño experimental, ya que éste, se encuentra directamente relacionado con el contenido de fruta adicionado debido a los sabores ácidos característicos de las cuatro frutas pequeñas. Para esto se estableció la relación entre el porcentaje de fruta y el de azúcar necesario, a partir de los resultados sensoriales preliminares obtenidos con 30 consumidores (Anexo D), y cuyo resultado, permitió establecer la relación lineal que se presenta en la ecuación 6, cuyo coeficiente de linealidad fue de 0,99436.

$$\% \text{ azúcar} = 0,1211(\% \text{ fruta}) + 2,1053 \quad (6)$$

***Obtención de los prototipos:***

Los prototipos desarrollados, se elaboraron en las instalaciones del Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana. Las cuatro frutas pequeñas seleccionadas fueron lavadas con agua potable, desinfectadas por inmersión en una solución al 1,3 % de ácido peracético (Kyanko et al., 2010, 125) durante 15 minutos con lavado posterior y escaldadas por inmersión en agua a 90 °C por 5 minutos (Barbosa Cánovas et al., 2002), seguido de enfriamiento rápido en agua fría.

Acondicionadas las frutas, se procedió a la disminución del tamaño de cada fruta, utilizando una licuadora VITAMIX. En el caso de la fresa, la mora y la uchuva, el licuado se realizó por 40 segundos a 10000 RPM, mientras que para la gulupa, se llevó a cabo la extracción manual de la pulpa y se separó de las semillas licuando la pulpa durante 40 segundos A 700 RPM. Obtenidas las pulpas de las cuatro frutas, se tamizaron con un cedazo para obtener los zumos de fruta y proceder a la mezcla con el agua y el azúcar de cada formulación (Tabla 14).

**Tabla 14.** Formulaciones de los 9 prototipos evaluados

<b>Prototipo</b>	<b>Gulupa (%)</b>	<b>Uchuva (%)</b>	<b>Mora (%)</b>	<b>Fresa (%)</b>	<b>Azúcar (%)</b>	<b>Agua (%)</b>
<b>553</b>	3,75	3,75	3,75	3,75	3	82
<b>564</b>	3,75	6,75	6,75	6,75	4	72
<b>141</b>	3,75	10	10	10	6	60,25
<b>879</b>	6,75	3,75	6,75	10	4	68,75
<b>986</b>	6,75	6,75	10	3,75	4	68,75
<b>456</b>	6,75	10	3,75	6,75	4	68,75
<b>191</b>	10	3,75	10	6,75	3	66,5
<b>710</b>	10	6,75	3,75	10	3	66,5
<b>156</b>	10	10	6,75	3,75	3	66,5

Finalmente se realizó la pasteurización lenta de la mezcla obtenida hasta alcanzar los 72 °C, el envasado en caliente utilizando bolsas flexibles y el enfriamiento rápido por inmersión de los prototipos en agua fría (4-7 °C). Finalmente, los prototipos fueron rotulados aleatoriamente con 3 dígitos numéricos y almacenados bajo condiciones de refrigeración, hasta llevar a cabo su caracterización fisicoquímica y sensorial.

***Caracterización química:***

Los nueve prototipos, fueron caracterizados en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana, determinando el pH, la acidez y los sólidos solubles según las metodologías descritas en el numeral 2.2.1.

***Caracterización física:***

Para los refrescos, el color se determinó utilizando un nanocolor UV/VIS *Marcherey – Nagel* acoplado al software MN nanocolor UV/VIS 6.0.0. (Figura 17). La lectura se realizó utilizando una semi-micro cubeta de 50 mm. Previo a lectura, se realizó la separación de los sólidos presentes en el producto por medio de centrifugación a 6000 rpm durante 10 minutos.

**Figura 17.** Nanocolor UV/VIS *Marcherey – Nagel*



**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Corporación Universitaria Lasallista.

***Caracterización sensorial:***

La caracterización sensorial de los refrescos desarrollados, se realizó en las instalaciones de la Fundación Intal, por medio de un panel de expertos conformado por 6 personas, quienes seleccionaron 11 descriptores: color, olor/aroma característico, olor objetable, sabor ácido, sabor dulce, sabor a mora, sabor a fresa, sabor a gulupa, sabor a uchuva, sensación astringente y sensación picante, siguiendo la metodología descrita en la normativa colombiana (ICONTEC, 1996, 2) y la cual permite establecer la descripción completa de los atributos sensoriales de un producto.

Seleccionados los descriptores, estos fueron evaluados en una escala de 0 (ausente) a 7 (intenso), para finalmente establecer la calidad del producto y el porcentaje de aceptación o rechazo de cada prototipo evaluado, mediante el test de Karlsruhe (Zamora Utset, 2007).

**Fase II*****Diseño experimental:***

Se elaboró la nueva matriz ortogonal que se presenta en la Tabla 15 por medio del software Minitab 1, teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante la fase I, e incluyendo el aporte del % del valor diario recomendado (VDR) de hierro para niños entre 6 meses y 4 años (12 mg) (Ministerio de la Protección Social, 2011) como un nuevo factor, cuyos niveles fueron 30 y 40 %.

Es importante tener en cuenta que al igual que durante el diseño experimental de la fase I, en este caso, el contenido de azúcar de la formulación no se incluyó en el diseño experimental, y para establecer la cantidad necesaria en cada prototipo, se

utilizó la relación encontrada durante los ensayos preliminares, que se presentó en el numeral 2.3.1 correspondiente al diseño experimental de la fase I.

**Tabla 15.** Matriz ortogonal de la fase II

% Gulupa	% Uchuva	% Mora	% fresa	% VDR (Fe)
6,75	6,75	6,75	6,75	30
6,75	6,75	6,75	10	40
6,75	10	10	6,75	30
6,75	10	10	10	40
10	6,75	10	6,75	40
10	6,75	10	10	30
10	10	6,75	6,75	40
10	10	6,75	10	30

**Obtención de los prototipos:**

Los 8 prototipos correspondientes a esta fase, se elaboraron siguiendo las actividades que se describen en el numeral 2.3.1 para la obtención de los prototipos de la fase I. En este caso, los zumos de fruta obtenidos, se mezclaron con el agua, el azúcar y el bisglicinato ferroso de cada formulación (Tabla 16).

**Tabla 16.** Formulaciones de los 8 prototipos evaluados

Prototipo	% Gulupa	% Uchuva	% Mora	% fresa	% Azúcar	% Bisglicinato ferroso	% Agua
<b>517</b>	6,75	6,75	6,75	6,75	4,05	0,02	68,93
<b>264</b>	6,75	6,75	6,75	10	4,92	0,03	64,81
<b>844</b>	6,75	10	10	6,75	5,86	0,02	60,62
<b>527</b>	6,75	10	10	10	6,89	0,03	56,33
<b>190</b>	10	6,75	10	6,75	5,86	0,03	60,61
<b>273</b>	10	6,75	10	10	6,89	0,02	56,34
<b>944</b>	10	10	6,75	6,75	5,86	0,03	60,61
<b>593</b>	10	10	6,75	10	6,89	0,02	56,34

Es importante tener en cuenta que el compuesto utilizado para la fortificación con hierro fue bisglicinato ferroso (con un aporte del 17 % de hierro), teniendo en cuenta los aspectos encontrados en la bibliografía, que describen este compuesto como una de las mejores alternativas para fortificar, dadas sus características tecnológicas y de biodisponibilidad (Rojas, Sánchez, Villada, Montoya, Díaz, Vargas, Chica y Herrera, 2013, 350; Olivares y Pizarro, 2001, 22; Bovell-Benjamin, Vitery y Allen, 2000, 1563). De igual manera, para la presente investigación, se estableció que el tamaño por porción de refresco fuese de 230 ml.

***Caracterización química:***

Los ocho prototipos, fueron caracterizados en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana, determinando el pH, la acidez y los sólidos solubles según las metodologías descritas en el numeral 2.2.1.

***Caracterización física:***

A los 8 prototipos obtenidos, se les determinó el color, siguiendo la metodología que se describe en el numeral 2.3.1, empleada igualmente para la caracterización física de los prototipos obtenidos en la fase I.

***Caracterización sensorial:***

Los 8 prototipos obtenidos, fueron caracterizados sensorialmente, siguiendo la metodología que se describe en el numeral 2.3.1.

A partir de dichos resultados se realizó la selección de la formulación final del refresco y se procedió a la determinación del contenido de hierro y vitamina C presentes en la misma.

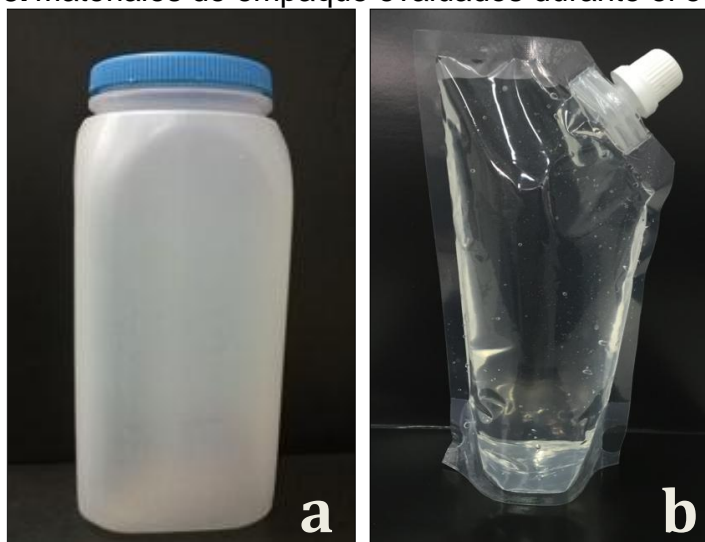
### **Determinación del contenido de vitamina C en el refresco final**

Se realizó la determinación del contenido de vitamina C presente en el prototipo final, siguiendo las metodologías presentadas en el numeral 2.2.1, para la caracterización química.

### **Estudio de vida útil del refresco desarrollado**

Seleccionada la formulación final del refresco mixto fortificado con hierro se llevó a cabo el estudio de vida útil, evaluando dos materiales de empaque de fácil manipulación por los niños, encontrados en el mercado para este tipo de productos: envase de polietileno de alta densidad (PEAD) de 230 ml y bolsa flexible de 250 ml (Figura 18). La comprobación de la vida útil producto se llevó bajo condiciones de refrigeración, realizando seguimiento a la calidad sensorial, al pH como parámetro físico químico y a la calidad microbiológica.

**Figura 18.** Materiales de empaque evaluados durante el estudio de vida útil



a. Envase de PEAD y b. Bolsa flexible

**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

Para el estudio de estabilidad se utilizó un muestreo de diseño parcialmente escalonado, tomando la muestra aleatoriamente (Camejo et al., 2008, 65), en relación a la magnitud del cambio presentado en las variables medidas y estableciendo como rechazo, la modificación de los atributos físico-químicos y microbiológicos en relación con la normativa colombiana, o los atributos sensoriales, al disminuir la calidad sensorial del producto hasta el punto de ser rechazado por los panelistas.

## Análisis de resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos durante la ejecución de la presente investigación, que se alcanzaron siguiendo las metodologías descritas en el capítulo anterior, y que permitieron la obtención de un refresco a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva, fortificado con hierro, dirigido a niños en edad pre-escolar.

### Caracterización de las cuatro frutas pequeñas

Para el inicio de todo desarrollo, es de gran importancia establecer las características de las materias primas a utilizar, en especial cuando se tratan materias heterogéneas como las frutas, donde sus atributos químicos, físicos y nutricionales dependen de diversos factores, incluyendo su estado de madurez, agroecología y pos-cosecha (Ruiz López et al., 2010, 168). A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante la caracterización química, física y sensorial, de las cuatro frutas pequeñas.

#### Caracterización química

En la Tabla 17, se presentan los resultados de los análisis de humedad, acidez titulable, °Brix y pH realizados a las cuatro frutas pequeñas.

**Tabla 17.** Resultados del análisis físico-químico de las cuatro frutas pequeñas

Parámetro	Fresa	Mora	Gulupa	Uchuva
Humedad (%)	91,640 ± 0,903	87,758 ± 0,806	73,694 ± 1,552	83,04 ± 1,0919
Acidez (g ácido cítrico/100ml)	0,723 ± 0,069	2,343 ± 0,055	3,528 ± 0,178	1,361 ± 0,011
°Brix	7,554 ± 0,722	8,118 ± 1,319	15,013 ± 0,873	14,575 ± 0,524
pH	3,403 ± 0,097	2,823 ± 0,063	2,869 ± 0,091	3,364 ± 0,315

Si bien los productos hortofrutícolas, se caracterizan por presentar grandes diferencias en su composición, de manera general las frutas, al igual que los vegetales, se destacan por presentar altos contenidos de agua. Lo anterior se verifica en la Tabla 17, dónde se observa que los contenidos de humedad de las cuatro frutas pequeñas se encuentran entre el 82 y 92 %, siendo la fresa, la fruta con mayor aporte de agua, mientras que la gulupa, presentó el menor. Los resultados obtenidos, se encuentran entre los rangos reportados en la literatura de 90,00 % y 90,95 % para la fresa (Giampieri et al., 2012, 10; Restrepo, Cortés, y Rojano, 2009, 264), de 84,57 % y 87,33 % para la mora (De Souza et al., 2014, 365; Tosun, Ustun, y Tekguler, 2008, 88), y de 84,09 % y 86,65 % para la uchuva (Duque, Giraldo, y Quintero, 2011, 78; Mendoza, Rodríguez, y Millán, 2012, 190). En el caso de la gulupa, los valores consultados de 82,1 % y 88,9 % (Jiménez et al., 2011, 1914; Orjuela Baquero et al., 2011, 9), son mayores a los obtenidos experimentalmente, debido muy probablemente a los cambios generados durante la poscosecha, asociados a los tiempos de transporte y adquisición de la fruta.

En cuanto a la acidez titulable de las cuatro frutas pequeñas, cabe destacar que los mayores valores se presentaron en la mora y la gulupa, quienes a su vez, obtuvieron los menores valores de pH; comportamiento asociado a la madurez de las frutas si se tiene en cuenta el proceso de selección de las mismas para el presente estudio, ya que en los últimos estados de madurez, se genera una reducción de los ácidos orgánicos como resultado de la maduración (López Camelo, 2003, 103), y un aumento de los sólidos solubles (°Brix) debido a la transformación de las reservas de almidón en azúcares (Ruiz López et al., 2010, 168). Aun así, es relevante destacar, que las cuatro frutas pequeñas se caracterizan por ser alimentos de alta acidez, según la

clasificación que se presenta en la Tabla 18, pues sus valores de pH se encuentran por debajo de 3,7 (Nunes Damaceno, 2007, 19), a diferencia de productos como el banano, cuyo pH entre 5,3 y 5,7 permite clasificarlo como alimento de baja acidez (Millán y Ciro Velásquez, 2012, 188) o el mango que se caracteriza por ser un producto de acidez media con un pH de 5,3 (Quintero et al., 2013, 15).

**Tabla 18.** Clasificación de los alimentos según el pH

<b>Característica</b>	<b>pH</b>	<b>Frutas</b>
Acidez baja	>5,3	Banano
Acidez media	4,5 - 5,3	Mango
Alimentos ácidos	3,7 - 4,5	
Alimentos muy ácidos	<3,7	Fresa, mora, gulupa y uchuva

En general, los valores obtenidos durante la caracterización química de las cuatro frutas pequeñas, se encuentran en los rangos reportados en la bibliografía, sin embargo, es importante destacar que las variaciones encontradas, se deben a la influencia que tienen las condiciones agronómicas y las características de poscosecha, sobre las características físicas y químicas de los frutos.

Si bien las frutas son reconocidas a nivel mundial como una excelente fuente de nutrientes (Liu, 2003, 517), que incluyen vitaminas, minerales y otros compuestos con actividad biológica como las antocianinas y carotenos, asociados a la disminución del riesgo de enfermedades (Ruel et al., 2014, 516), en la presente investigación se hace énfasis en dos nutrientes especiales, el hierro y la vitamina C. El primero, debido a que la fortificación a realizar en el producto fue con este mineral, y el segundo, por su importancia como antioxidante exógeno (Cobley et al., 2015, 66) en la dieta humana y como marcador de calidad en la industria alimentaria.

En la Tabla 19, se presentan los resultados obtenidos, durante la determinación del contenido de hierro y vitamina C, de las cuatro frutas pequeñas.

**Tabla 19.** Resultados de la determinación de hierro y vitamina C en las cuatro frutas

Parámetro	Método	Fresa	Mora	Gulupa	Uchuva
Hierro (mg/100g)	Absorción atómica	0,2605 ± 0,082	0,5088 ± 0,155	0,6467 ± 0,075	0,5412 ± 0,029
Hierro (mg/100g)	ICP-AES	0,3027 ± 0,001	0,3555 ± 0,001	0,6333 ± 0,002	0,4453 ± 0,002
Vitamina C (mg/100g)	U-HPLC	27,996 ± 7,122	10,385 ± 1,712	22,419 ± 3,629	19,593 ± 3,453
Vitamina C (mg/100g)	Colorimétrico	28,974 ± 6,176	23,975 ± 2,457	21,479 ± 3,337	18,544 ± 2,509

La fresa se caracterizó por presentar el menor contenido de hierro, seguido por la mora y la uchuva, siendo la gulupa, la fruta pequeña con el mayor aporte de este mineral. Dicha variación entre el contenido de hierro de las cuatro frutas pequeñas se asocia a comportamientos realizados en la producción primaria; ya que este mineral, como micronutriente, es de gran importancia para el desarrollo de las plantas, al intervenir en procesos como la fotosíntesis y el transporte de electrones (Tafur y Menjivar, 2010, 324). Sin embargo, debido a la variación en las prácticas de cultivo (Roca, Pazos, y Bech, 2007, 31), la concentración de este mineral en el suelo presenta grandes variaciones, que a su vez se reflejan en el contenido de hierro de los frutos. Además, como se mencionó anteriormente, debido a las variaciones observadas durante la cuantificación del hierro en las frutas por absorción atómica, se realizó también la determinación por ICP-AES, debido a que este método presenta mayor precisión de los resultados (Harris, 2003, 494), cuyos valores obtenidos permitieron establecer que dicho comportamiento se debe a la heterogeneidad propia de las muestras trabajadas. Lo anterior, se puede comprobar también al comparar los resultados obtenidos experimentalmente con los presentados en la literatura, cuyos

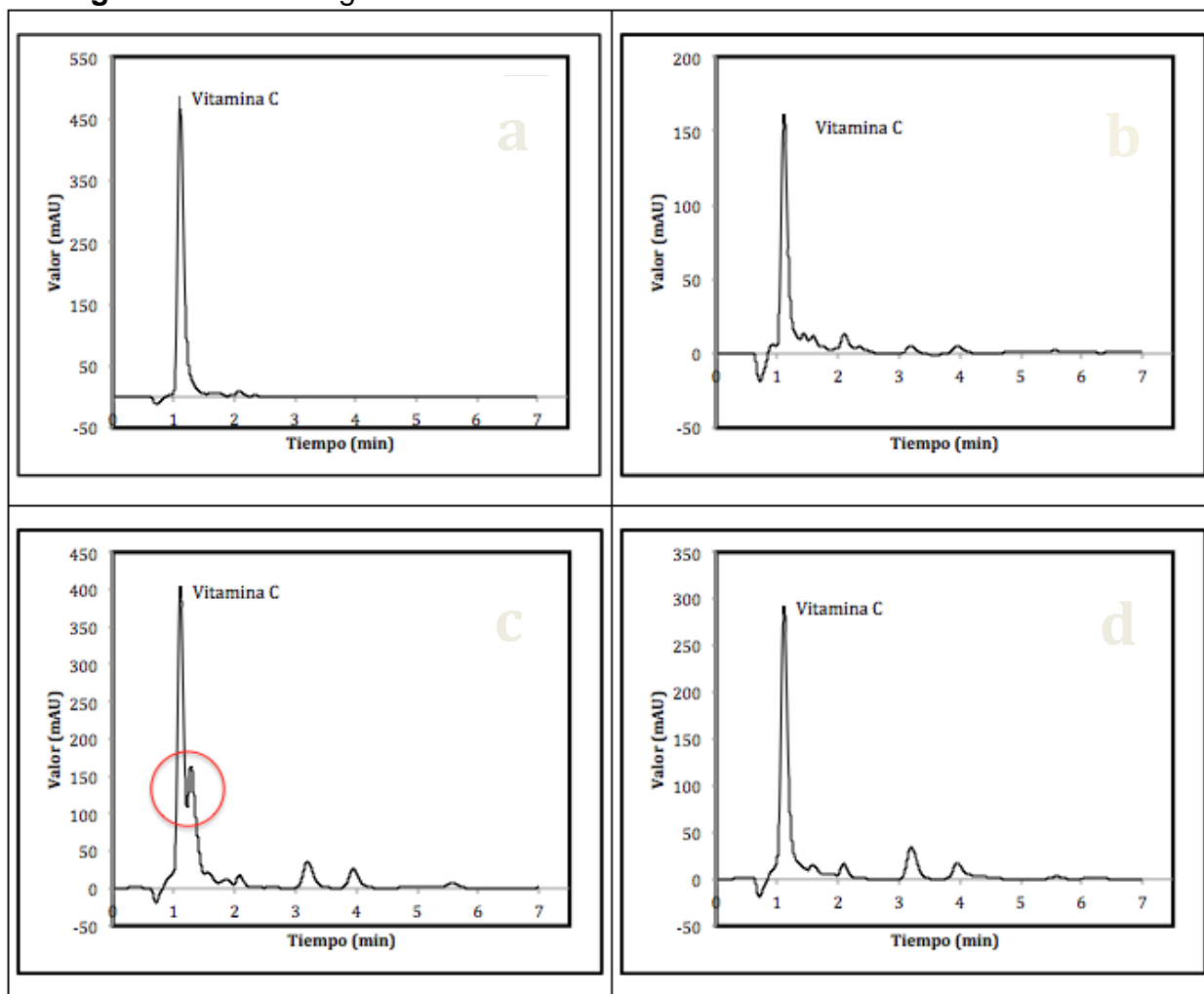
valores reportados para la fresa (0,41 mg/100g), la gulupa (1,6 mg/100g) (USDA, 2014) y la uchuva (1,2 mg/100 g) (Floréz et al., 2000, 112) son mayores a los establecidos en la presente investigación.

En cuanto a la vitamina C, se ha establecido que hace parte de las sustancias con mayor interés en la caracterización de frutas, debido a su actividad biológica como antioxidante natural (Rojas-Barquera y Narváez-Cuenca, 2009, 2336), y como parámetro de calidad durante los procesos de transformación de alimentos (Kalt, 2006, 11). Sin embargo a diferencia del hierro, para la vitamina C, no se cuenta con una metodología estándar que permita asegurar su cuantificación, debido a la complejidad para lograr su extracción, derivada de la naturaleza química propia de la vitamina. Como resultado de esto, se encuentra en la literatura una gran cantidad de metodologías propuestas para diferentes matrices alimenticias (Esch, Friend, y Kariuki, 2010, 1466; Hernández, Lobo, y González, 2006, 656), cada una de ellas con diversas variaciones y ajustes en concordancia con el tipo de muestra, siendo la metodología de espectroscopia líquida de alta eficiencia (HPLC) una de las más estudiadas y reportadas en este tema. Por lo anterior, y teniendo en cuenta la disponibilidad del equipo de Ultra HPLC con el que se contó para la presente investigación, se inició el desarrollo de la metodología para la cuantificación de la vitamina C por este método, basados en reportes de la literatura (Abushita et al., 1997, 209; Gutzeit et al., 2008, 616; Kubola et al., 2011, 974; Ramful et al., 2011, 2090) y en la Norma Española para la determinación de vitamina C mediante HPLC (Asociación Española de Normalización y Certificación, 2003, 3).

Los resultados obtenidos por este método, muestran que la fresa es la fruta con mayor aporte de vitamina C, seguido por la gulupa, la uchuva y la mora

respectivamente. Sin embargo, a la hora de analizar los cromatogramas, que se presentan en la Figura 19, y donde se observan unos picos pequeños correspondientes a otras sustancias no identificadas, se percibe una derivación en el pico de cuantificación de vitamina C para la gulupa (Figura 19 c).

**Figura 19.** Cromatogramas obtenidos durante la cuantificación de vitamina C



Cromatogramas correspondientes al primer análisis realizado: a. Fresa, b. Mora, c. Gulupa y d. Uchuva. El reporte de todos los ensayos se presenta en el anexo E.

Lo anterior se pudo presentar debido a que, por las restricciones tecnológicas del equipo derivadas de ser un Ultra HPLC, durante el desarrollo de la metodología, no se realizó la adición del agente reductor (cisteína) para la conversión del ácido

dehidroascórbico en ácido ascórbico, por la posibilidad de su precipitación en la columna y generar daños en la misma. Debido a este comportamiento, se realizó la cuantificación de vitamina C mediante el método colorimétrico 2-nitroanilina, como una alternativa para corroborar los resultados obtenidos por el método U-HPLC. En este caso los contenidos de vitamina C de la fresa, la gulupa y la uchuva se asemejan a los obtenidos por la metodología de HPLC tal y como se observa en la Tabla 18; sin embargo, los alcanzados durante la caracterización de la mora duplican el valor establecido en la primera metodología.

Debido al comportamiento anterior, se realizó la evaluación del % de recuperación para la mora durante la determinación del contenido de hierro por HPLC, con el fin de corroborar el resultado obtenido por este método. Para ello, se realizó la metodología de adición de estándar (*Spiking*), adicionando una cantidad conocida de ácido ascórbico en la pulpa de fruta, seguido por el proceso de extracción y cuantificación. Los resultados de este proceso, se presentan en la Tabla 20.

**Tabla 20.** Resultados del porcentaje de recuperación para el HPLC

Fruta	% Recuperación
Mora	92,3473

Al observar el porcentaje de recuperación obtenido para la mora, se puede establecer una falla en el método colorimétrico para la determinación de vitamina C presente en esta fruta, debido a la interferencia que genera el color propio de la fruta (morado oscuro) al presentar una coloración verde después de la reacción de la 2-nitrofenilhidrazida en presencia del hidróxido de sodio, limitando la aparición de la coloración rojo-violeta propia del método (De Ramírez, 1993, 200). Así, el desarrollo la

metodología para la cuantificación de la vitamina C por U-HPLC que se inició durante la ejecución de la presente investigación, es una buena alternativa para generar un método estándar que permita caracterizar diversas frutas, como punto de partida para los procesos de desarrollo de nuevos productos alimenticios.

En cuanto a los resultados de la cuantificación de la vitamina C presente en las cuatro frutas pequeñas, se observan variaciones para la fresa (27,996 mg/ 100 g) y la mora (10,385 mg/ 100 g), con respecto a los valores reportados por la USDA de 58 mg/100 g y 21 mg/100 g respectivamente (USDA, 2014), mientras que el contenido establecido para la uchuva (19,593 mg/ 100 g) y la gulupa (22,419 mg/ 100 g) se encuentran cercanos los valores reportados de 20 mg/ 100 g de uchuva (Restrepo Duque y Cortés Rodríguez, 2013, 253) y entre 18 y 30,00 mg/ 100 g para la gulupa (Ocampo Pérez et al.,2012, 11; Ojasild, 2009, 13). Los comportamientos anteriores, se deben principalmente a que el contenido de vitamina C en frutas y verduras está altamente influenciado por factores genotípicos, por las condiciones de pre y poscosecha, al igual que la madurez del fruto (Lee y Kader, 2000, 207).

Por otro lado, al observar los resultados obtenidos para las cuatro frutas pequeñas, se puede establecer que ninguna de ellas, representa una alta fuente de vitamina C, si se tienen en cuenta los valores reportados para frutos caracterizados por un alto aporte de esta vitamina como la guayaba con 228 mg/ 100g (USDA, 2014) y la acerola con 1341 mg/100 g (Marques, Ferreira, y Freire, 2007, 454). Sin embargo, las cuatro frutas, pueden ser consideradas como alimentos con “alto contenido” de vitamina C, dado que una porción de 100 g aporta entre el 31,25 % y 84,37 % del valor diario recomendado de esta vitamina para niños en edad pre-escolar.

Finalmente, la caracterización química de las cuatro frutas pequeñas, representa el punto de partida para el desarrollo del refresco, si se tiene en cuenta que parámetros como los °Brix y el pH, están directamente relacionados con el proceso de formulación de los prototipos, ya que en la normativa vigente de refrescos de fruta, existen restricciones para estas dos variables (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17). De igual manera, los contenidos de vitamina C y hierro asociadas a las cuatro frutas pequeñas, hacen de estas, productos potenciales para el desarrollo de alimentos dirigidos a niños en edad pre-escolar, teniendo en cuenta que durante esta etapa se espera el sostenimiento de los niveles nutricionales adecuados para el desarrollo propio de esa edad (Hernández Rodríguez, 2001, 74).

Si bien la caracterización química de las materias primas, es fundamental para la determinación de los procesos de transformación, en la actualidad, el establecimiento de parámetros físicos surge como otro aspecto importante de la caracterización inicial.

### Caracterización física

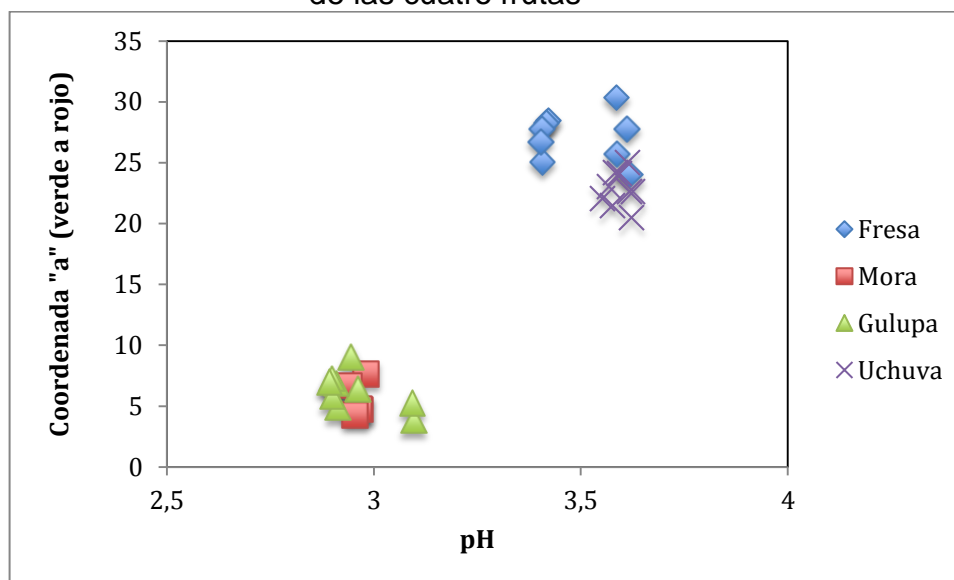
En la Tabla 21, se presentan los resultados obtenidos durante la determinación del color, de las cuatro frutas trabajadas en la presente investigación.

**Tabla 21.** Resultados del análisis físico-químico de las cuatro frutas pequeñas

Parámetro	Fresa	Mora	Gulupa	Uchuva
L	32,344 ± 1,5411	18,421 ± 0,982	31,717 ± 1,792	62,411 ± 1,692
a	27,113 ± 1,9597	5,558 ± 1,145	6,246 ± 1,530	22,843 ± 1,463
Color b	15,719 ± 2,1275	1,003 ± 0,303	3,338 ± 0,825	50,824 ± 0,790
h <sub>ab</sub>	30,037 ± 3,239	10,079 ± 1,101	28,553 ± 6,320	65,925 ± 0,954
C <sup>ab</sup>	31,386 ± 2,276	5,649 ± 1,179	7,121 ± 1,548	55,731 ± 1,232

Durante el análisis del color, los valores positivos de a y b, permiten establecer que las cuatro frutas pequeñas presentan tonalidades entre rojo y amarillo, colores característicos en frutas con alto contenido de carotenoides, sustancias responsables de dicha coloración (Wills et al., 1984, 100). Además, los resultados obtenidos para la coordenada "a" en todas las frutas, presentaron una relación con el pH, como se observa en la Figura 20, permitiendo establecer, que las frutas con pH entre 2,75 y 3,2, (mora y gulupa) tienden a tener menores valores de "a", que las que poseen pH entre 3,3 y 3,75 (fresa y uchuva). Es decir, en estas cuatro frutas, valores de pH bajos, se asocian a coloraciones más verdes que rojas.

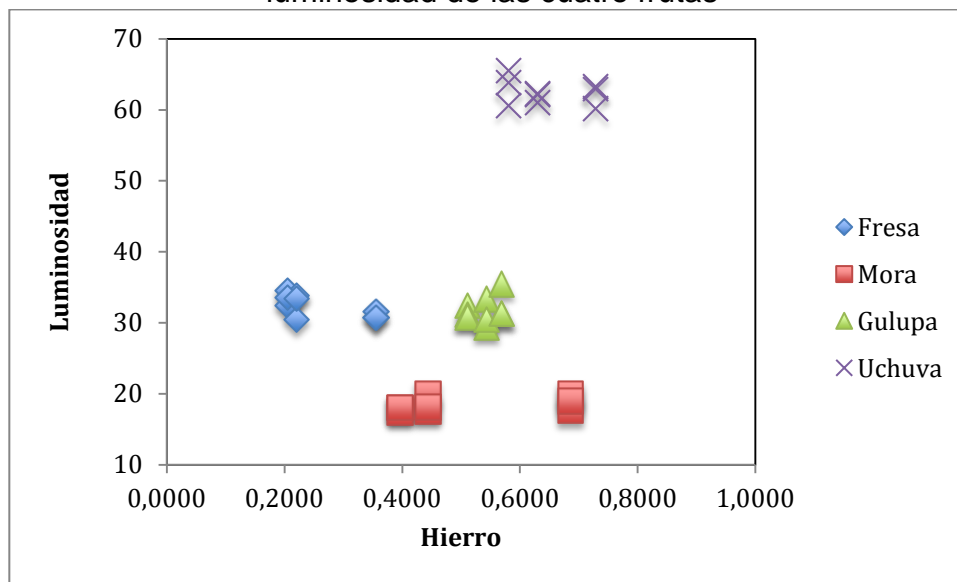
**Figura 20.** Diagrama de dispersión entre los valores de pH y la coordenada "a" de color de las cuatro frutas



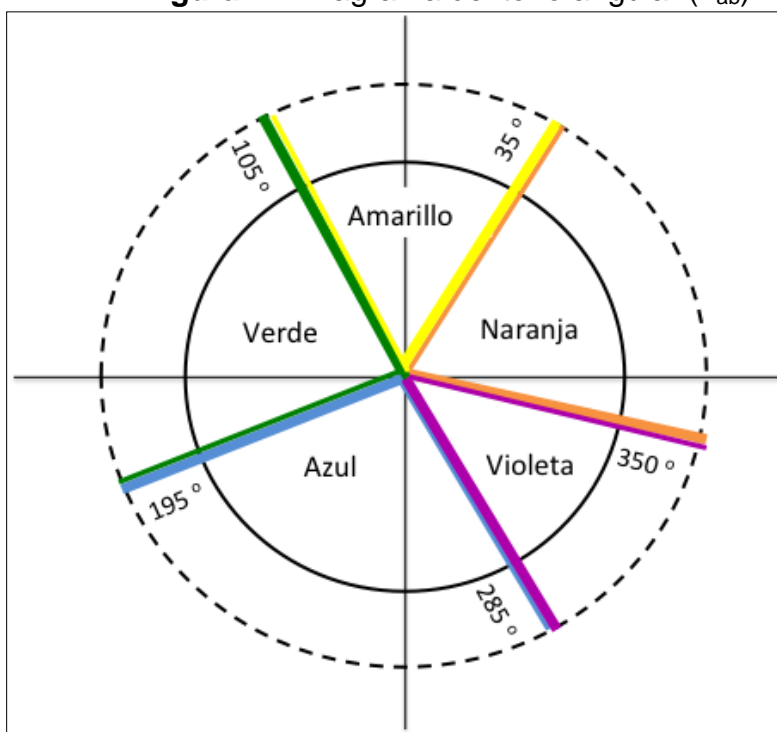
En cuanto a la asociación tradicional que se tiene frente a que las frutas de color oscuro aportan altos contenidos de hierro, el presente estudio mostró que no existe en las cuatro frutas trabajadas, una tendencia definida frente a este comportamiento, como se observa en la Figura 21, asociado a que como se mencionó anteriormente, los

contenidos de hierro en matrices vegetales dependen de diversos factores agroecológicos.

**Figura 21.** Diagrama de dispersión entre los valores del contenido de hierro y la luminosidad de las cuatro frutas



Por otro lado, los valores de L en las cuatro frutas, se relacionan con luminosidades claras (blancas), mientras que los obtenidos para el chroma o  $C_{ab}$ , asocian la uchuva y la fresa con mayores intensidades de color ( $>C_{ab}$ ), que los obtenidos para la gulupa y la mora. Sin embargo, todas las frutas se relacionan con intensidades de color medias-altas, características de colores amarillos, naranjas y rojos (Gupte, 2010, 83), mientras que el valor obtenido para el tono angular o  $h_{ab}$ , de las cuatro frutas, las ubican en el rango establecido para el color naranja (Gupte, 2010, 85), como se muestra en la Figura 22.

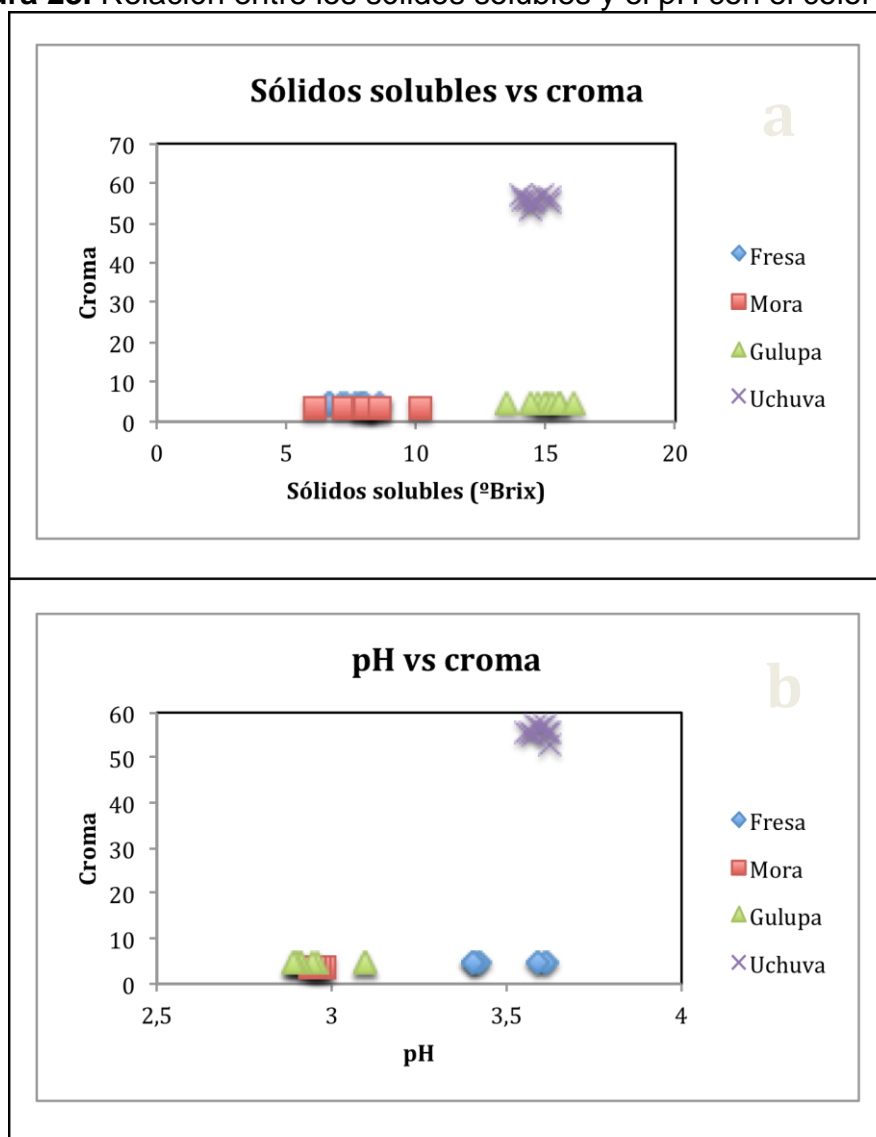
**Figura 22.** Diagrama del tono angular ( $h_{ab}$ )

**Fuente:** Diagrama elaborado por el autor (Gupte, 2010, 85)

Las coordenadas de color establecidas experimentalmente, se encuentran en los rangos reportados para la gulupa (Jiménez et al., 2011, 1914), la fresa y la mora (Patras et al., 2009, 312), mientras que las determinadas para la uchuva difieren de las reportadas en la literatura (Mendoza et al., 2012, 195), debido a la variación en el estado de madurez del material caracterizado, teniendo en cuenta que durante el proceso de maduración, se da la degradación de la clorofila y síntesis de otros compuestos responsables del color (Ruiz López et al., 2010, 168), como las antocianinas responsables de las coloraciones rojas, azules y moradas (Tosun et al., 2008, 88). Lo anterior, permite establecer, que existe una relación entre los °Brix, el pH y el color de cada fruta, asociado a las reacciones que se generan durante los procesos de maduración. Sin embargo, para establecer dicha relación, es necesario hacer el seguimiento de las variables en frutos con diferentes niveles de maduración (Torres,

Montes, Pérez, & Andrade, 2013, 52), ya que, como se muestra en las Figuras 23 a y b, para las cuatro frutas trabajadas, no se observó una tendencia definida entre dichas variables, siendo la uchuva, la fruta con mayor valor de croma, pero presentando también valores similares de sólidos solubles y pH a los observados para la gulupa y la fresa respectivamente, frutas con valores de croma bajos.

**Figura 23.** Relación entre los sólidos solubles y el pH con el color (croma)



Los resultados obtenidos durante la determinación del color, son un ejemplo claro de la heterogeneidad característica de las frutas (Jiménez et al., 2011, 1914), donde la distribución de los pigmentos depende en gran medida del estado de madurez de la misma y que se traduce en una variación significativa de los valores obtenidos. De igual manera, es importante recordar que el proceso de selección de las frutas para el presente estudio se realizó teniendo en cuenta los dos últimos estados de madurez reportados en la literatura, debido a las altas variaciones observadas durante la adquisición de la fruta, especialmente para la fresa y la mora, de allí, que estas dos frutas presenten las mayores variaciones en los valores analizados.

Finalmente, es importante destacar, la determinación del color de las cuatro frutas pequeñas como punto de partida para el desarrollo del refresco dirigido a niños en edad pre-escolar, teniendo en cuenta que el color, juega un papel fundamental en las preferencias de los niños (García de Moizat et al., 2011, 120), quienes se inclinan por una mayor variedad de color a la hora de alimentarse (Zampollo et al., 2012, 61).

### **Caracterización microbiológica**

En la Tabla 22, se presentan los resultados del recuento de mesófilos, levaduras y coliformes totales realizados a las cuatro frutas pequeñas con y sin tratamiento de desinfección.

**Tabla 22.** Resultados de la caracterización microbiológica

		<b>Fresa</b>	<b>Mora</b>	<b>Gulupa</b>	<b>Uchuva</b>
<b>Sin tratamiento</b>	Mesófilos (UFC)	20x10 <sup>3</sup>	40x10 <sup>3</sup>	0	159
	Levaduras (UFC)	10x10 <sup>3</sup>	40x10 <sup>2</sup>	0	50x10 <sup>3</sup>
	Coliformes totales (UFC)	2	0	0	0
<b>Con tratamiento</b>	Mesófilos (UFC)	0	1	0	0
	Levaduras (UFC)	0	60	0	0
	Coliformes totales (UFC)	0	0	0	0
<b>% Remoción</b>	Mesófilos (UFC)	100	0,0025	N/A	100
	Levaduras (UFC)	100	1,5	N/A	100
	Coliformes totales (UFC)	100	N/A	N/A	N/A

La mayor presencia de microorganismos se obtuvo para las muestras de fresa y mora, debido a la estructura característica de estas dos frutas, que permite la exposición del material con el exterior. Además, la mora, al ser una polidrupa (estar formada por la unión de varias drupas), permite el acceso y acumulación de material contaminante al interior del fruto (Sancho Barrantes y Barrona Cockrell, 1998, 119).

En el caso de la uchuva, el capacho actúa como barrera primaria y protege el fruto de contaminantes físicos, químicos y microbiológicos, situación similar a la gulupa, cuya pulpa se encuentra inmersa en el interior del exocarpio, quien la protege hasta el momento de su extracción.

Por otro lado, los porcentajes de remoción calculados, permiten establecer que el tratamiento de lavado y desinfección con ácido peracético, fue el indicado, ya que contribuye a la disminución de la carga microbiana presente en las frutas. Comportamiento observado también, durante la evaluación de su efectividad para disminuir la carga de esporas responsables de las alteraciones pos-cosecha de frutas y hortalizas (Kyanko et al., 2010, 125).

Finalmente, gracias a los resultados obtenidos, se puede afirmar que el tratamiento de desinfección con ácido peracético, permite obtener frutas que cumplen con la normativa vigente, aptas para el desarrollo de refrescos.

### **Formulación del refresco fortificado con hierro a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva**

Caracterizadas las cuatro frutas pequeñas, se procedió al desarrollo del refresco. A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante las dos fases desarrolladas para llevar a cabo dicho proceso y obtener la formulación final del producto.

#### **Fase I**

En la Figura 24, se presentan los 9 prototipos obtenidos durante la primera fase, los cuales fueron envasados en bolsas flexibles y almacenados bajo refrigeración, hasta su caracterización.

**Figura 24.** Refrescos obtenidos en la fase I



Formulaciones: a. 141, b. 191, c. 986, d. 564, e.879, f.156, g. 553, h. 456, i.710

**Fuente:** Foto tomada en el Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Pontificia Bolivariana

En la Tabla 23, se presentan los resultados de la determinación de acidez titulable, °Brix y pH, realizada a los 9 prototipos presentados anteriormente.

**Tabla 23.** Resultados de la caracterización química

Prototipo	Acidez (g ácido cítrico/100ml)	°Brix	pH
<b>553</b>	0,295 ± 0,013 <b>a</b>	5,117 ± 0,133 <b>a</b>	3,263 ± 0,005 <b>a</b>
<b>564</b>	0,362 ± 0,009 <b>b</b>	6,567 ± 0,344 <b>b,c</b>	3,270 ± 0,005 <b>a,b</b>
<b>141</b>	0,537 ± 0,057 <b>c</b>	9,317 ± 0,172 <b>d</b>	3,280 ± 0,026 <b>b,c</b>
<b>879</b>	0,464 ± 0,018 <b>d</b>	6,933 ± 0,207 <b>e</b>	3,163 ± 0,015 <b>d</b>
<b>986</b>	0,499 ± 0,025 <b>c,d</b>	6,850 ± 0,122 <b>c,e</b>	3,165 ± 0,005 <b>d</b>
<b>456</b>	0,478 ± 0,002 <b>d</b>	7,233 ± 0,459 <b>f</b>	3,290 ± 0,006 <b>c</b>
<b>191</b>	0,532 ± 0,020 <b>c</b>	6,183 ± 0,313 <b>g</b>	3,103 ± 0,005 <b>e</b>
<b>710</b>	0,529 ± 0,015 <b>c</b>	6,533 ± 0,121 <b>b</b>	3,193 ± 0,006 <b>f</b>
<b>156</b>	0,583 ± 0,013 <b>e</b>	6,783 ± 0,172 <b>b,c,e</b>	3,213 ± 0,012 <b>g</b>

Para cada columna no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores que comparten una misma letra (prueba de Fisher con 95 % de confianza)

Las 9 formulaciones obtenidas, cumplen con los requisitos establecidos para los niveles de acidez (mínimo 0,2), sólidos solubles (máximo 13) y pH (máximo 4), descritos en la normativa colombiana (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17). Además, en cada una de las variables determinadas, existieron diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones, asociadas a los diferentes porcentajes de fruta evaluados. Sin embargo, se presentaron también grupos homogéneos, como el conformado por las formulaciones 879, 986 y 456, que presentan el mismo contenido de gulupa y quienes no presentaron diferencia estadísticamente significativa para el valor de acidez. Por otro lado, es importante destacar la relación directa entre los sólidos solubles y el contenido de fruta y azúcar, observado en las formulaciones 141 y 553, ya que la primera arrojó el mayor valor de sólidos solubles y se caracterizó por presentar el mayor contenido de estos dos componentes, mientras

que el prototipo 553, con el menor contenido de fruta, presentó el menor valor para esta variable; no obstante, para las demás formulaciones no fue posible observar más claramente esta relación, debido a las variaciones en el contenido de fruta, lo que generó los grupos homogéneos observados. Los comportamientos anteriores, permiten establecer, que no hay una tendencia definida para las variables químicas evaluadas, con respecto a los porcentajes de fruta adicionados, derivada de la heterogeneidad observada durante la caracterización química, que se presentó en el capítulo 3.1.1.

En los prototipos elaborados, se evaluó también el color como parámetro físico, relacionado con el contenido de fruta adicionado, cuyos resultados se presentan en la Tabla 24.

**Tabla 24.** Resultados de la determinación de color

Prototipo	L	a	b	$h_{ab}$	$C^{ab}$
553	9,883 ± 0,958 <b>a</b>	8,867 ± 0,704 <b>a,b</b>	16,583 ± 1,886 <b>a</b>	61,738 ± 2,163 <b>a,b</b>	18,819 ± 1,879 <b>a,b</b>
564	8,617 ± 0,813 <b>b</b>	8,550 ± 0,499 <b>a,b</b>	14,733 ± 1,451 <b>b</b>	59,762 ± 1,488 <b>a,b,c</b>	17,040 ± 1,472 <b>a,c</b>
141	7,833 ± 0,754 <b>b</b>	8,083 ± 1,088 <b>c,d</b>	13,150 ± 1,480 <b>b,c</b>	58,351 ± 4,131 <b>a,c</b>	15,477 ± 1,487 <b>c,d,e</b>
879	7,733 ± 0,795 <b>b</b>	8,217 ± 0,596 <b>a</b>	12,783 ± 0,997 <b>c</b>	57,229 ± 1,728 <b>c,d</b>	15,203 ± 1,066 <b>c,e</b>
986	5,900 ± 0,570 <b>c</b>	7,083 ± 0,880 <b>c</b>	9,567 ± 1,056 <b>d</b>	53,503 ± 2,259 <b>d</b>	11,913 ± 1,295 <b>f</b>
456	8,450 ± 1,215 <b>b</b>	8,517 ± 1,177 <b>a</b>	14,567 ± 2,146 <b>b</b>	59,659 ± 0,708 <b>a,b,c</b>	16,875 ± 2,438 <b>c,d</b>
191	10,317 ± 0,631 <b>a,d</b>	8,967 ± 0,506 <b>a,b</b>	17,033 ± 0,850 <b>a</b>	62,231 ± 1,099 <b>b</b>	19,253 ± 0,916 <b>b</b>
710	11,453 ± 1,200 <b>d</b>	9,633 ± 1,417 <b>b</b>	12,950 ± 0,640 <b>c</b>	53,480 ± 5,066 <b>d</b>	16,204 ± 0,597 <b>c,d</b>
156	8,350 ± 0,960 <b>b</b>	8,333 ± 0,229 <b>a</b>	11,567 ± 0,844 <b>c</b>	54,130 ± 2,550 <b>d,e</b>	14,269 ± 0,616 <b>e</b>

Para cada columna no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores que comparten una misma letra (prueba de Fisher con 95 % de confianza)

Según los valores obtenidos para las coordenadas a y b, las nueve formulaciones presentan tonalidades entre rojo y amarillo, situación esperada, si se tienen en cuenta los resultados establecidos durante la caracterización de las frutas. Sin

embargo, todos los prototipos presentan una mayor tendencia hacia las tonalidades amarillas que a las rojas, comportamiento contrario al observado para la fresa, la mora y la gulupa durante la caracterización de las frutas, quienes presentaron mayor afinidad por las tonalidades rojas. Lo anterior, permite establecer, que el proceso de transformación llevado a cabo para la obtención de los refrescos, genera un cambio importante en la cromaticidad.

En cuanto a la luminosidad, todos los prototipos se relacionan con valores claros (blancos), observándose al igual que en las demás coordenadas grupos heterogéneos (con diferencia estadísticamente significativa), derivada de las desviaciones estándar obtenidas, asociadas a que durante los procesos de transformación y almacenamiento de los alimentos, se generan cambios de color debido a que pigmentos brillantes como la clorofila, antocianinas y/o carotenoides se transforman por efecto del calor, en pigmentos más opacos (Kilcast y Subramaniam, 2011, 187). Por otro lado, el tono angular presenta una tendencia entre 53,229 y 62,231, ubicando a las nueve formulaciones en el rango de color establecido para el naranja (Gupte, 2010, 85).

Finamente, al comparar los valores de las coordenadas de color en los refrescos con los obtenidos para las frutas, se observa como la disolución de estas últimas genera una disminución en la luminosidad y el croma, y un aumento en el tono angular. Dicho comportamiento se asocia a los cambios generados durante los procesos de transformación y almacenamiento de los alimentos, debido a que pigmentos brillantes como la clorofila, antocianinas y/o carotenoides se transforman por efecto del calor en pigmentos más opacos (Kilcast y Subramaniam, 2011, 187).

Los resultados anteriores, son un ejemplo claro de los cambios de color que se generan durante el procesamiento de alimentos, de allí, que esta variable, se utilice

como indicativo de calidad, y se adicionen sustancias como ascorbatos, para regular los cambios de color en bebidas a nivel industrial (Lea, 1994, 34).

Si bien las características químicas y físicas de los productos alimenticios son importantes para determinar si cumplen o no con los parámetros establecidos en la norma, a la hora de realizar un desarrollo de este tipo, el análisis sensorial es fundamental, pues en sus resultados radica la aceptación o rechazo de un alimento. En las Tablas 25, 26 y 27, se presentan los resultados obtenidos durante la evaluación sensorial de los 9 prototipos desarrollados, incluyendo la calidad sensorial y el % de aceptación de cada muestra.

**Tabla 25.** Resultados durante el análisis sensorial (color, olor y sensaciones)

<b>Muestra</b>	<b>Color</b>	<b>Olor/aroma característico</b>	<b>Olor objetable</b>	<b>Sensación astringente</b>	<b>Sensación picante</b>
553	4,600 ± 0,346	5,467 ± 0,153	0	1,033 ± 0,058	0,100 ± 0,1
564	5,400 ± 0,900	5,633 ± 0,115	0	1,067 ± 0,153	0,133 ± 0,115
456	4,200 ± 0,100	4,667 ± 0,153	0	1,133 ± 0,208	0,000
141	5,833 ± 0,058	5,200 ± 0,346	0	0,833 ± 0,058	0,000
156	5,300 ± 0,265	4,800 ± 0,100	0	0,633 ± 0,115	0,133 ± 0,058
879	5,400 ± 0,173	5,133 ± 0,115	0,067 ± 0,058	0,700 ± 0,361	0,100 ± 0,100
191	5,967 ± 0,115	5,300 ± 0,00	0	0,533 ± 0,058	0,067 ± 0,058
986	5,833 ± 0,115	4,933 ± 0,058	0	0,500 ± 0,100	0,000
710	4,600 ± 0,173	4,667 ± 0,231	0	0,533 ± 0,231	0,067 ± 0,115

Las nueve formulaciones evaluadas, presentaron intensidades entre medias (4) e intensas (6) para el color y aroma característico, derivados de las cuatro frutas utilizadas, mientras que las intensidades de sensaciones astringentes y picantes se ubicaron entre ausentes (0) y leves (1).

**Tabla 26.** Resultados durante el análisis sensorial (sabor)

Muestra	Sabor ácido	Sabor dulce	Sabor mora	Sabor gulupa	Sabor uchuva	Sabor fresa
553	2,233 ± 0,058	2,400 ± 0,173	2,933 ± 0,231	2,100 ± 0,361	1,800 ± 0,200	2,767 ± 0,115
564	3,033 ± 0,289	3,200 ± 0,200	3,433 ± 0,416	2,300 ± 0,458	2,400 ± 0,200	3,233 ± 0,208
456	3,733 ± 0,404	2,933 ± 0,231	2,833 ± 0,058	3,233 ± 0,208	3,200 ± 0,173	3,233 ± 0,503
141	3,733 ± 0,153	3,667 ± 0,253	3,967 ± 0,153	2,700 ± 0,100	2,533 ± 0,208	3,600 ± 0,100
156	3,067 ± 0,321	2,533 ± 0,208	3,100 ± 0,265	3,000 ± 0,265	2,767 ± 0,115	2,567 ± 0,321
879	3,233 ± 0,115	2,967 ± 0,115	3,000 ± 0,200	3,367 ± 0,551	2,267 ± 0,153	2,667 ± 0,153
191	4,100 ± 0,00	2,467 ± 0,289	3,067 ± 0,115	3,900 ± 0,173	2,967 ± 0,289	2,267 ± 0,115
986	2,967 ± 0,153	3,267 ± 0,153	3,233 ± 0,153	2,967 ± 0,503	2,700 ± 0,173	2,600 ± 0,173
710	2,600 ± 0,00	2,600 ± 0,100	2,667 ± 0,351	2,933 ± 0,208	2,467 ± 0,058	2,667 ± 0,231

Los resultados obtenidos durante la evaluación de los sabores presentes en los prototipos, permiten establecer, que el sabor a mora fue el más predominante, si se tiene en cuenta que en la muestra 553 donde el aporte fue igual para las cuatro frutas, el sabor con mayor reconocimiento por parte de los evaluadores fue la mora. De igual manera, en el prototipo 156, donde la gulupa y la uchuva estaban en mayor cantidad, se reconoció este sabor como el de mayor intensidad. En cuanto a la presencia de sabores ácidos y dulces, los resultados se relacionan con la acidez característica de cada fruta, teniendo en cuenta que las cuatro, son consideradas como frutas de alta acidez ( $\text{pH} < 4$ ). Este comportamiento, se puede observar en el prototipo 191, que presentó la mayor intensidad del sabor ácido y que corresponde a la formulación con mayor contenido de gulupa y mora, frutas que presentaron el mayor contenido de acidez, durante la caracterización química inicial.

**Tabla 27.** Resultados durante el análisis sensorial (calidad general y aceptación)

Muestra	Calidad general %		Aceptación/ rechazo %
	Alta	Media	
553	62,77	38,9	100
564	100	0	100
456	94,33	5,67	100
141	94,33	5,67	100
156	83	17	100
879	94,33	5,67	100
191	60	40	100
986	75,33	24,67	100
710	72,33	27,67	100

Los nueve prototipos presentaron variaciones en los 12 descriptores evaluados que se tradujeron a su vez en diferencias durante la determinación de la calidad general de cada muestra, sin embargo, todos los prototipos alcanzaron una aceptación del 100 %, debido a que la calidad general fue mayor al 3,5 (valor menor a la categoría media de calidad).

El comportamiento anterior, no permitió la realización del análisis estadístico correspondiente a la metodología Taguchi “Mayor es mejor”, teniendo en cuenta que la variable respuesta “aceptación sensorial” presentó en todos los prototipos la misma calificación numérica (100 %), por lo que sería imposible, llevar a cabo la optimización de dicho valor.

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de la Fase I, permiten establecer, que las cuatro frutas evaluadas pueden ser aprovechadas para el desarrollo de alimentos, incluyendo refrescos mixtos de fruta, que cumplen con los parámetros establecidos en la norma nacional para este tipo de productos y presentan características sensoriales atractivas para la población infantil.

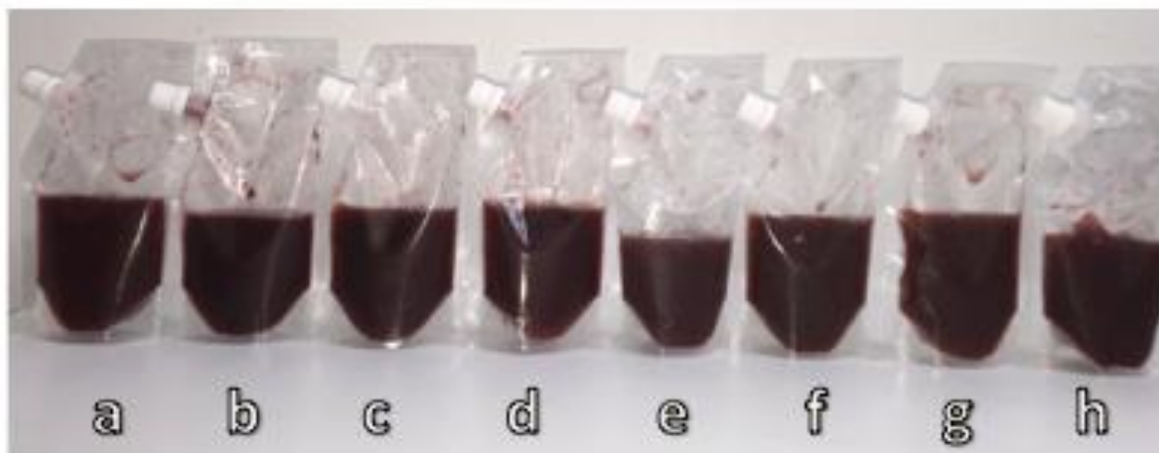
Culminada la fase I, se procedió con el desarrollo de la fase II, correspondiente a la elaboración de los refrescos adicionados con hierro, donde la concentración de este mineral se adicionó como un nuevo factor.

## Fase II

Debido a la aceptación sensorial de los 9 prototipos elaborados durante la determinación de la formulación estándar del refresco, se seleccionaron los niveles de mayor porcentaje de fruta (6,75 y 10 %) para el nuevo diseño experimental, con el fin de obtener un refresco con mayor contenido de fruta y por tanto aprovechar en mayor proporción las cuatro frutas pequeñas trabajadas.

En la Figura 25, se presentan los 8 prototipos obtenidos durante la evaluación de la formulación del refresco mixto fortificado con hierro.

**Figura 25.** Refrescos obtenidos durante la fase II



Fotografía de las 8 formulaciones: a. 517, b. 264, c. 844, d. 527 , e.190 , f.273, g. 944, h. 593

**Fuente:** Autor

En la Tabla 28, se presentan los resultados de la determinación de acidez titulable, °Brix y pH, realizada a los 8 prototipos evaluados.

**Tabla 28.** Resultados de la caracterización química

Prototipo	Acidez (g ácido cítrico/100ml)	°Brix	pH
<b>517</b>	0,461 ± 0,006 <b>a</b>	6,967 ± 0,052 <b>a</b>	3,187 ± 0,006 <b>a</b>
<b>264</b>	0,625 ± 0,079 <b>a,b</b>	8,350 ± 0,122 <b>b</b>	3,163 ± 0,006 <b>b</b>
<b>844</b>	0,588 ± 0,006 <b>a,b</b>	9,967 ± 0,052 <b>c</b>	3,173 ± 0,006 <b>c</b>
<b>527</b>	0,645 ± 0,012 <b>a</b>	11,583 ± 0,842 <b>d</b>	3,180 ± 0,001 <b>a,c</b>
<b>190</b>	0,631 ± 0,027 <b>c</b>	9,917 ± 0,075 <b>c</b>	3,103 ± 0,006 <b>d</b>
<b>273</b>	0,653 ± 0,009 <b>b</b>	10,933 ± 0,472 <b>e</b>	3,103 ± 0,006 <b>d</b>
<b>944</b>	0,633 ± 0,033 <b>a,b</b>	9,850 ± 0,207 <b>c</b>	3,147 ± 0,006 <b>e</b>
<b>593</b>	0,633 ± 0,017 <b>a</b>	11,033 ± 0,082 <b>e</b>	3,270 ± 0,006 <b>a</b>

Para cada columna no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores que comparten una misma letra (prueba de Fisher con 95 % de confianza)

Al igual que en la fase anterior, los 8 prototipos cumplen con la normativa colombiana vigente establecida para los niveles de acidez (mínimo 0,2), sólidos solubles (máximo 13) y pH (máximo 4) en refrescos de fruta (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17). Además, existieron grupos homogéneos, como los observados durante la determinación de sólidos solubles, donde se refleja claramente, la dependencia que tiene esta variable con los contenidos de fruta, así, los mayores valores de sólidos solubles fueron alcanzados por las formulaciones con mayor aporte de fruta (36,75 %): 527, 273 y 259, seguidos por los prototipos con 33,5 % (944, 190, 844) y 30,25 % de fruta (264), para finalmente tener el prototipo 517 quien arrojó el menor contenido de sólidos solubles, al ser la formulación con el menor contenido de fruta (27 %), permitiendo establecer que existe una tendencia directa entre el contenido de fruta adicionado en el refresco y los sólidos solubles finales. No obstante, en cada una de las variables determinadas, existieron diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones, asociadas a los diferentes porcentajes de fruta evaluados.

De igual manera, es importante tener en cuenta, que en los 8 prototipos anteriores se adicionó el compuesto de hierro responsable de la fortificación, que al no ser 100 % hierro, puede generar un incremento en los valores de sólidos solubles si dentro de su matriz presenta sustancias como maltodextrina o gomas (Cano-Chauca et al., 2005, 423).

En los 8 prototipos elaborados, se evaluó también el color como parámetro físico, relacionado con el contenido de fruta adicionado, cuyos resultados se presentan en la Tabla 29.

**Tabla 29.** Resultados de la determinación de color

Prototipo	L	a	b	$h_{ab}$	$C^{ab}$
517	5,717 ± 0,912 <b>a,b</b>	6,250 ± 0,936 <b>a</b>	8,883 ± 1,562 <b>a</b>	54,724 ± 2,274	10,879 ± 1,769 <b>a</b>
264	5,167 ± 0,499 <b>a,b,c</b>	5,917 ± 0,380 <b>a</b>	8,550 ± 0,946 <b>a,b</b>	55,200 ± 1,398	10,401 ± 0,987 <b>a</b>
844	5,350 ± 0,75 <b>a,b</b>	5,980 ± 0,740 <b>a</b>	8,680 ± 1,510 <b>a</b>	55,234 ± 1,347	10,548 ± 1,659 <b>a</b>
527	5,185 ± 0,899 <b>a,b,c</b>	6,517 ± 0,495 <b>a</b>	7,467 ± 1,322 <b>a,b</b>	48,535 ± 2,819	9,924 ± 1,317 <b>a,b</b>
190	5,183 ± 0,706 <b>a,c</b>	6,233 ± 0,806 <b>a</b>	8,667 ± 1,306 <b>a</b>	54,137 ± 2,947	10,689 ± 1,439 <b>a</b>
273	4,120 ± 0,380 <b>c</b>	4,850 ± 0,330 <b>b</b>	7,100 ± 0,660 <b>b</b>	55,567 ± 2,630	8,607 ± 0,631 <b>b</b>
944	5,767 ± 0,715 <b>a,c</b>	8,052 ± 0,446 <b>c</b>	10,783 ± 0,467 <b>c</b>	53,251 ± 1,841	13,465 ± 0,483 <b>c</b>
593	6,270 ± 0,359 <b>b</b>	8,050 ± 0,932 <b>c</b>	10,717 ± 1,025 <b>c</b>	53,143 ± 1,690 <b>a</b>	13,409 ± 1,329 <b>c</b>

Para cada columna no existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores que comparten una misma letra (prueba de Fisher con 95 % de confianza)

Según los valores obtenidos para las coordenadas a y b, todos los prototipos presentan tonalidades entre rojo y amarillo, y se relacionan con luminosidades claras. En este caso, al igual que durante la evaluación de los prototipos de la fase uno, se observan grupos sin diferencia estadísticamente significativa para cada variable, debido

nuevamente a los cambios que se presentan durante el proceso de transformación y a que en la investigación no se adicionaron colorantes u otras sustancias que se utilizan en la industria para estandarizar el color.

Por otro lado, los valores del croma, permiten establecer que el prototipo 273 fue quien presentó menor intensidad de color, asociado al valor obtenido para la coordenada a, siendo éste quien presentó menor magnitud para esta variable. Mientras que el tono angular de las ocho formulaciones las ubican en el rango de color establecido para el naranja (Gupte, 2010, 85).

Finamente, al comparar los valores de las coordenadas de color en los refrescos con los obtenidos para las frutas, se observa como la disolución de estas últimas genera una disminución en la luminosidad y el croma, mientras que se genera un aumento en el tono angular.

Como se mencionó anteriormente, a la hora de realizar un desarrollo de producto, el análisis sensorial es fundamental, pues en sus resultados radica la aceptación o rechazo de un alimento. En las Tablas 30, 31 y 32, se presentan los resultados obtenidos durante la evaluación sensorial de los 8 prototipos desarrollados, incluyendo la calidad sensorial y el % de aceptación de cada muestra.

**Tabla 30.** Resultados durante el análisis sensorial (color, olor y sensaciones)

Prototipo	Color	Olor/aroma característico	Olor objetable	Sensación astringente	Sensación picante
<b>517</b>	5,433 ± 0,321	5,000 ± 0,265	0,000	0,200 ± 0,000	0,067 ± 0,058
<b>264</b>	6,100 ± 0,346	5,167 ± 0,208	0,000	0,300 ± 0,100	0,167 ± 0,153
<b>844</b>	6,000 ± 0,173	5,333 ± 0,416	0,000	0,467 ± 0,058	0,067 ± 0,058
<b>527</b>	6,400 ± 0,100	5,300 ± 0,200	0,000	0,367 ± 0,058	0,133 ± 0,115
<b>190</b>	6,267 ± 0,115	5,667 ± 0,153	0,000	0,433 ± 0,058	0,167 ± 0,058
<b>273</b>	6,233 ± 0,115	5,467 ± 0,351	0,000	0,300 ± 0,000	0,100 ± 0,010
<b>944</b>	5,733 ± 0,115	5,200 ± 0,300	0,033 ± 0,058	0,400 ± 0,100	0,033 ± 0,058
<b>593</b>	5,767 ± 0,058	5,433 ± 0,289	0,000	0,267 ± 0,115	0,100 ± 0,017

Las ocho formulaciones evaluadas, presentaron intensidades entre medias/altas (5) e intensas (6) para el color y aroma característico, derivados de las cuatro frutas utilizadas, mientras que las intensidades de sensaciones astringentes y picantes fueron ausentes. Por otro lado, al comparar estos resultados con los obtenidos para los nueve prototipos de la fase anterior, se refleja el efecto que presentó la adición del compuesto de hierro (bisglicinato ferroso) sobre la intensidad del color, sin embargo, los resultados para el olor objetable, permiten establecer que el compuesto de hierro, no genera olores residuales molestos al consumidor.

**Tabla 31.** Resultados durante el análisis sensorial (sabor)

Prototipo	Sabor ácido	Sabor dulce	Sabor mora	Sabor gulupa	Sabor uchuva	Sabor fresa
<b>517</b>	3,400 ± 0,346	2,800 ± 0,173	3,300 ± 0,265	3,033 ± 0,252	2,400 ± 0,173	2,767 ± 0,208
<b>264</b>	3,300 ± 0,265	2,900 ± 0,200	3,500 ± 0,265	3,033 ± 0,252	2,300 ± 0,200	2,567 ± 0,208
<b>844</b>	3,467 ± 0,115	3,467 ± 0,208	4,067 ± 0,115	3,000 ± 0,173	2,633 ± 0,153	3,033 ± 0,289
<b>527</b>	3,433 ± 0,231	3,600 ± 0,173	4,100 ± 0,173	2,833 ± 0,321	2,400 ± 0,265	3,267 ± 0,058
<b>190</b>	3,500 ± 0,265	3,500 ± 0,265	4,200 ± 0,100	3,533 ± 0,058	2,500 ± 0,100	2,633 ± 0,153
<b>273</b>	3,333 ± 0,058	4,167 ± 0,153	4,167 ± 0,321	2,967 ± 0,252	2,233 ± 0,058	3,000 ± 0,346
<b>944</b>	3,433 ± 0,321	3,400 ± 0,265	3,933 ± 0,231	2,933 ± 0,208	2,400 ± 0,000	2,767 ± 0,153
<b>593</b>	3,400 ± 0,000	3,633 ± 0,153	3,733 ± 0,231	3,067 ± 0,252	2,567 ± 0,058	3,167 ± 0,306

Los resultados obtenidos para la evaluación de los sabores, permiten establecer que la mora es el sabor con mayor percepción por parte de los panelistas, si se tiene en cuenta que en los 8 prototipos evaluados, el sabor a mora fue el percibido con mayor intensidad, es decir la variación en los porcentajes de fruta no afecta dicha característica, aun así, los prototipos que mayor aporte de mora tuvieron dentro de su formulación (844, 527, 190 y 273) se asociaron con una mayor percepción de su sabor. Por otro lado, el sabor dulce, estuvo directamente relacionado con la cantidad de azúcar utilizado en cada formulación, presentando los mayores valores de su percepción los prototipos con mayor contenido de azúcar (527, 273 y 593). El comportamiento anterior, permite establecer que existe una relación entre el sabor dulce de los prototipos y los sólidos solubles correspondientes, asociado al contenido de azúcar adicionado. Finalmente al comparar los resultados obtenidos con los establecidos en las nueve formulaciones de la fase 1, se observa que en ambos casos las intensidades de sabor ácido y dulce fueron similares, lo anterior debido a que el contenido de azúcar adicionada se relacionó con el contenido de fruta para cada prototipo.

**Tabla 32.** Resultados obtenidos durante el análisis sensorial (calidad general y aceptación)

Prototipo	Calidad general %	Aceptación/ rechazo %
<b>517</b>	81,00	19,00
<b>264</b>	86,67	13,33
<b>844</b>	100,00	0,00
<b>527</b>	100,00	0,00
<b>190</b>	100,00	0,00
<b>273</b>	100,00	0,00
<b>944</b>	76,67	23,33
<b>593</b>	86,67	13,33

De los ocho prototipos evaluados, cuatro presentaron una calidad general alta del 100 %, comportamiento relacionado con el alto contenido de mora, fruta asociada con sabores florales (Du et al., 2010, 1080) y aromas a miel y caramelo (Du, Finn, y Qian, 2010, 1127). Sin embargo, al igual que durante la primera fase del establecimiento de la formulación del refresco, los valores de calidad general de los prototipos, permitieron establecer un aceptación del 100 % para todos ellos. La situación anterior, es evidencia clara, que a partir de los excedentes de cosecha de fresa, mora, gulupa y uchuva, se pueden desarrollar productos innovadores que pueden ser incluidos dentro de la dinámica creciente actual de los alimentos naturales y funcionales, como alternativa de aprovechamiento y generación de valor agregado en las cadenas productivas de dichos frutales.

Finalmente, debido al comportamiento obtenido durante el análisis sensorial de las 8 formulaciones evaluadas, que presentaron una aceptación del 100 %, al igual que en la primera fase, no fue posible realizar el análisis estadístico correspondiente a la metodología Taguchi “Mayor es mejor”, razón por la cual, la selección del prototipo final, se realizó teniendo en cuenta que la presente investigación busca alternativas de

aprovechamiento de las cuatro frutas pequeñas, y la formulación de un producto fortificado con hierro, es decir, se seleccionó el prototipo 527, por ser el que permitió la mayor incorporación de fruta y hierro dentro de su formulación.

Con el cumplimiento de la fase II, es posible establecer que el desarrollo de refrescos fortificados con hierro a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva, son una buena alternativa para el aprovechamiento de las mismas y para la generación de productos fortificados con diferentes aportes de hierro, dirigidos a niños en edad pre-escolar, dada la aceptación sensorial de los mismos.

Seleccionada la formulación del refresco final, se procedió a la determinación del contenido real de hierro en el producto y se llevó a cabo la cuantificación de vitamina C, parámetro asociado a la bio-disponibilidad de hierro.

### **Cuantificación del contenido de hierro y vitamina C en el refresco final**

Seleccionado el producto, se realizó la cuantificación del hierro y la vitamina C presentes en una porción de 250 ml del refresco, cuyos resultados se presentan en la Tabla 33.

**Tabla 34.** Resultados de la cuantificación de hierro y vitamina C en el refresco

<b>Parámetro</b>	<b>Refresco</b>
Hierro (mg/250 ml)	4,1875 ± 0,042
Vitamina C por HPLC (mg/250 ml)	23, 071 ± 2,707
Vitamina C por colorimetría (mg/250 ml)	20,174 ± 1,910

Los resultados anteriores, permiten confirmar que el refresco desarrollado, aporta el 40 % del valor diario recomendado de hierro. Además, presenta mayor contenido de vitamina C que una porción de mora, gulupa o uchuva, aportando el 71,87 % del valor

diario recomendado de esta vitamina para niños entre 6 meses y cuatro años (Ministerio de la Protección Social, 2011, 17). De igual manera, el contenido de esta vitamina en el refresco desarrollado, se encuentra dentro del rango establecido por la USDA para bebidas con más del 3 % de fruta y altos en vitamina C “*Fruit juice drink, greater than 3 % juice, high vitamin C*”, haciendo que el refresco a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva, fortificado con hierro, sea una buena alternativa de producto, para incorporar la vitamina C, en la dieta de la población en edad pre-escolar. Sin embargo, es importante tener en cuenta, que durante el proceso de almacenamiento se puede generar la degradación de esta vitamina en el producto, por lo que la expresión anterior debe ajustarse según el valor final en el producto.

Establecido el contenido de vitamina C en el refresco desarrollado, se procedió a la determinación del material de empaque del mismo, por medio de un estudio de vida útil.

### **Estudio de vida útil**

Seleccionado el refresco a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva fortificado con hierro dirigido a niños en edad pre-escolar, se desarrolló el estudio de vida útil, siguiendo el pH y características nutricionales y microbiológicas, cuyos resultados se presentan en la Tabla 34.

**Tabla 33.** Resultados del seguimiento del pH durante el estudio de vida útil

Tiempo de almacenamiento (Días)	Estructura	pH
0	Flexible	3,25
28		3,32
57		3,25
66		3,24
0	Envase PEAD	3,25
26		3,31
57		3,24
62		3,25

En términos generales, los valores de pH del refresco envasado en las dos estructuras, se mantuvieron dentro de un rango estable durante el tiempo de evaluación, cumpliendo con el parámetro establecido en la normativa colombiana de máximo 4 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 17).

En cuanto al seguimiento de la calidad microbiológica, en la Tabla 35, se observan los resultados obtenidos, para las dos estructuras, y los cuales, permiten establecer que el refresco envasado en ambos materiales de empaque, cumple durante el tiempo de evaluación con las especificaciones microbiológicas establecidas en la normativa colombiana (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, 18). Lo anterior asociado a las buenas prácticas de manufactura (BPM), que se siguieron durante el proceso de transformación de las frutas, y que incluyeron lavado y desinfección de materias primas, equipos e implementos. Además, el proceso de pasteurización lenta llevado a cabo, también contribuyó a que el producto permaneciera estable durante su almacenamiento, presentando siempre resultados de los recuentos de mesófilos, mohos y levaduras, por debajo de los rangos especificados.

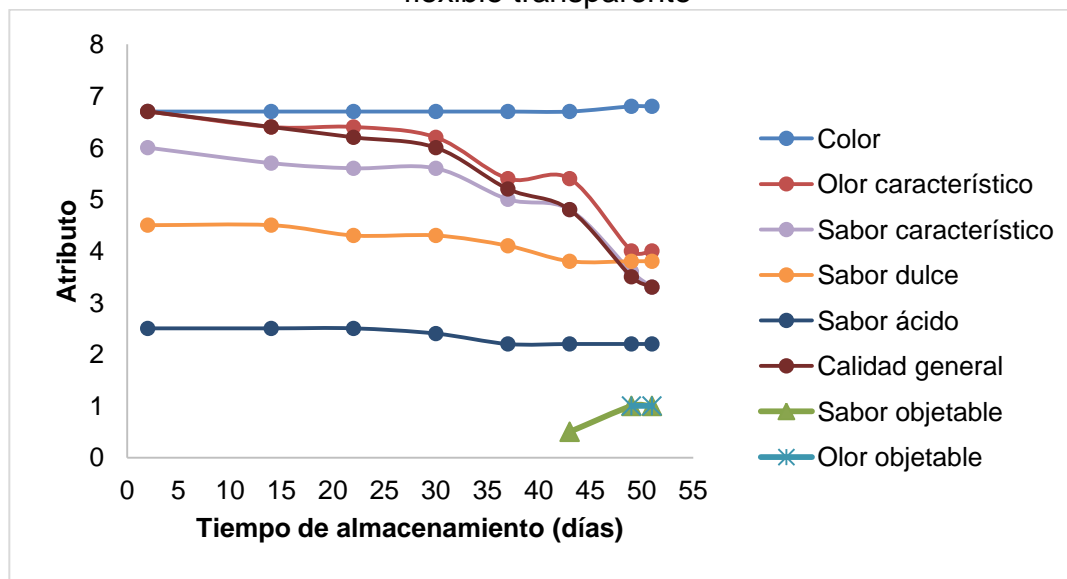
**Tabla 34.** Resultados del seguimiento microbiológico durante el estudio de vida útil

Tiempo de almacenamiento (Días)	Estructura	Recuento de mesófilos aerobios (UFC/ml)	Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)	Recuento de E.coli (UFC/ml)
0		<10	<10 de mohos <10 de levaduras	<10
23	Flexible	<10	<10 de mohos <10 de levaduras	<10
54		10	20 de mohos <10 de levaduras	<10
0		<10	<10 de mohos <10 de levaduras	<10
23	Envase PEAD	<10	<10 de mohos <10 de levaduras	<10
55		20	<10 de mohos <10 de levaduras	<10
<b>Especificaciones*</b>		<b>100-300</b>	<b>10-100</b>	<b>&lt;10</b>

- Resolución 3929 de 2013 (Ministerio de Salud y Protección Social, 2013)

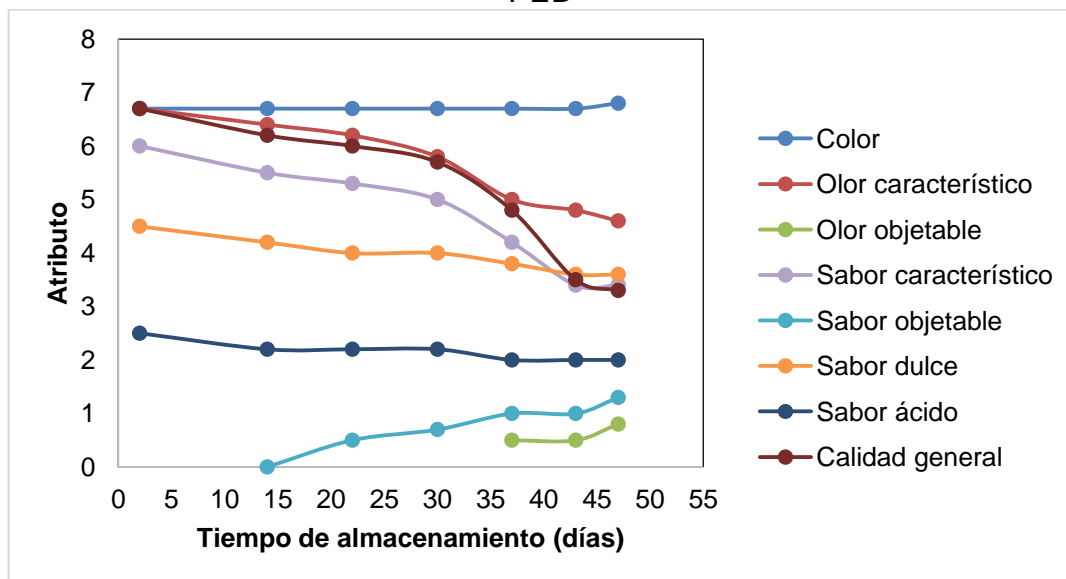
Finalmente, en cuanto a la calidad sensorial, en las Figuras 26 y 27, se presentan los resultados del seguimiento realizado al refresco envasado en las dos estructuras evaluadas.

**Figura 26.** Resultados del seguimiento sensorial del producto envasado en bolsa flexible transparente



En el caso del refresco envasado en bolsa flexible transparente, es posible observar como el color, sabor dulce y sabor ácido, permanecieron constantes durante todo el estudio, mientras que se refleja una leve disminución del olor y sabor característico del producto a partir del día 30 de almacenamiento. Finalmente, es importante destacar que la disminución de la calidad general del refresco, se asoció no solo a la alteración de los descriptores anteriores, sino también a la aparición de sabor y olor objetable después del día 40 de análisis.

**Figura 27.** Resultados del seguimiento sensorial del producto envasado en estructura PED



Para el producto envasado en estructura PED, se observa también una tendencia estable para los descriptores de color, sabor dulce y sabor ácido. Sin embargo, se refleja una disminución más marcada en el olor y sabor característico, asociado a la aparición de sabor y olor objetable después de los días 15 y 35 de análisis.

Al comparar los resultados obtenidos para las dos estructuras evaluadas, es de gran importancia observar, como el refresco envasado en la bolsa flexible transparente, solo presenta la aparición de sabor y olor objetable en los días 43 y 49 respectivamente, mientras que en el refresco envasado en la estructura de polietileno, el sabor objetable fue percibido desde el día 14 de almacenamiento y el olor objetable desde el día 37. Lo anterior se encuentra asociado a notas metálicas y a la aparición de olor asociado al material de empaque, comportamiento que contribuyó a la aceptación o rechazo de las muestras, como se presenta en la Tabla 36, donde el refresco mixto

fortificado con hierro almacenado en la bolsa flexible, presenta mayor estabilidad en el tiempo que el envasado en la estructura de polietileno.

**Tabla 35.** Seguimiento a la aceptación del refresco durante el estudio de vida útil

<b>Tiempo de almacenamiento (Días)</b>	<b>2</b>	<b>14</b>	<b>22</b>	<b>30</b>	<b>37</b>	<b>43</b>	<b>49</b>	<b>51</b>
<b>Atributo</b>	<b>Bolsa flexible transparente</b>							
Aceptación/rechazo	A	A	A	A	A	A	A	R
<b>Tiempo de almacenamiento (Días)</b>	<b>2</b>	<b>14</b>	<b>22</b>	<b>30</b>	<b>37</b>	<b>43</b>	<b>47</b>	
<b>Atributo</b>	<b>Envase de polietileno</b>							
Aceptación/rechazo	A	A	A	A	A	A		R

Los resultados anteriores, permiten establecer, que el material de empaque recomendado para el envasado del refresco a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva fortificado con hierro dirigido a niños en edad pre-escolar, es la bolsa transparente flexible, ya que su estructura permite conservar por mayor tiempo las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del producto desarrollado.

Finalmente, es importante aclarar que durante el estudio de vida útil, no se realizó el seguimiento al contenido de hierro total, puesto que este compuesto al ser un mineral, no es susceptible a procesos de degradación asociados a variables de almacenamiento como temperatura, humedad o luz, y su alteración se asocia solo a cambios en la estructura química (Bello Gutiérrez, 2000). De igual manera, no se realizó el seguimiento al contenido de vitamina C durante la vida útil, debido a que esta vitamina ha sido trabajada en diversas investigaciones encontradas en la bibliografía,

las cuales han permitido establecer que a temperaturas altas, mayor es su pérdida o degradación (Burdrulu, Koca, y Karadeniz, 2006, 211; Ordóñez-Santos, Portilla, y Rodríguez, 2013, 44; Sánchez-Chávez et al., 2015, 11), y que bajas temperaturas de almacenamiento contribuyen a la disminución de su velocidad de degradación (Gliguem y Birlouez-Aragon, 2005, 891; Stešková, Morochovičová, y Lešková, 2006, 55), al igual que la adición de azúcar durante la obtención de bebidas de fruta (Sapei y Hwa, 2014, 62). Además, se ha demostrado que la pérdida de vitamina C en bebidas pasteurizadas almacenadas entre 4 y 8 °C está entre 80 y 90 % en el día 30, y que la adición de conservantes acelera el proceso de su degradación, sobrepasando el 97 % de la vitamina C pérdida durante el almacenamiento (Cvetković y Jokanovic, 2009, 1). Según esto, y teniendo en cuenta los resultados del aporte de vitamina C determinado anteriormente en el refresco desarrollado, el contenido final de esta vitamina en el producto, después de 30 días de almacenamiento bajo refrigeración, estará entre 2,3071 y 4,614 mg por cada porción de 230 ml, equivalente al 14 % del VDR de esta vitamina para los niños entre 6 y 48 meses. El cálculo anterior es un buen acercamiento a la determinación del comportamiento del contenido de vitamina C en el refresco durante su almacenamiento, dado que el seguimiento durante todo el proceso puede ser elevado, asociado a las técnicas analíticas disponibles para su cuantificación.

## Conclusiones y recomendaciones

En la presente investigación se desarrolló un refresco a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva, fortificado con hierro dirigido a niños en edad pre-escolar. Las conclusiones que se obtuvieron después de realizar dicho proceso de investigación fueron las siguientes:

- Las cuatro frutas pequeñas pueden ser consideradas como materias primas potenciales para el desarrollo de alimentos dirigidos a la población infantil, dados los resultados obtenidos durante la caracterización química y física.
- Las cuatro frutas, pueden ser consideradas como alimentos con “alto contenido” de vitamina C, dado que una porción de 100 g aporta entre el 31,25 % y 84,37 % del valor diario recomendado de esta vitamina para niños en edad pre-escolar.
- El desarrollo del método para la cuantificación de la vitamina C por U-HPLC que se inició durante la ejecución de la presente investigación, es una buena alternativa para generar un método estándar que permita caracterizar diversas frutas, como punto de partida para los procesos de desarrollo de nuevos productos alimenticios.
- Los resultados de la determinación de color, permitieron establecer que existe una relación entre el pH y la coordenada de color “a” característica de representar las tonalidades de verde a rojo. Así, las frutas con pH entre 2,75 y 3,2, (mora y gulupa) tienden a tener menores valores de “a”, que las que poseen pH entre 3,3 y 3,75 (fresa y uchuva). Es decir, en estas cuatro frutas, valores de pH bajos, se asocian a coloraciones más verdes que rojas.

- En las cuatro frutas trabajadas no se observó el comportamiento tradicional, que asocia las frutas más oscuras con mayores contenidos de hierro, dado que los resultados obtenidos no mostraron una tendencia definida para estas dos variables.
- La determinación del color de las cuatro frutas pequeñas como punto de partida para el desarrollo del refresco dirigido a niños en edad pre-escolar, juega un papel fundamental en las preferencias de los niños, quienes se inclinan por una mayor variedad de color a la hora de alimentarse.
- Según los resultados obtenidos durante la evaluación del porcentaje de remoción de carga microbiana, el tratamiento de desinfección con ácido peracético, permite obtener frutas que cumplen con la normativa vigente, aptas para el desarrollo de refrescos.
- Las cuatro frutas evaluadas pueden ser aprovechadas para el desarrollo de alimentos, incluyendo refrescos mixtos de fruta, que cumplen con los parámetros establecidos en la norma nacional para este tipo de productos y presentan características sensoriales atractivas para la población infantil.
- El refresco desarrollado es una buena alternativa para incluir dentro de los planes nutricionales balanceados que busquen incrementar el aporte de hierro en la dieta de la población infantil.
- El desarrollo de refrescos fortificados con hierro a partir de la mezcla de fresa, mora, gulupa y uchuva, son una buena alternativa para el aprovechamiento de las mismas y para la generación de productos fortificados con diferentes aportes

de hierro, dirigidos a niños en edad pre-escolar, dada la aceptación sensorial de los mismos.

- El refresco desarrollado, aporta el 71,87 % del valor diario recomendado de vitamina C para niños entre 6 meses y cuatro años, lo que hace que este producto pueda ser demarcado como “Alta fuente” de vitamina C.
- El refresco envasado en la bolsa flexible transparente, presentó la aparición de sabor y olor objetable en los días 43 y 49 respectivamente, mientras que en el refresco envasado en la estructura de polietileno, el sabor objetable fue percibido desde el día 14 de almacenamiento y el olor objetable desde el día 37. Lo anterior relacionado con la aparición de notas metálicas y de olor asociado al material de empaque.
- El material de empaque recomendado para el envasado del refresco a partir de fresa, mora, gulupa y uchuva fortificado con hierro dirigido a niños en edad pre-escolar, es la bolsa transparente flexible, ya que su estructura permite conservar por mayor tiempo las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del producto desarrollado.

De acuerdo a las conclusiones alcanzadas en la presente investigación se plantean algunas recomendaciones para dar continuidad al proceso de aprovechamiento de las cuatro frutas y generación de nuevos productos a partir de las mismas:

- Continuar con el desarrollo de una metodología que permita la cuantificación de la vitamina C presente en frutas, como punto de partida para la caracterización de las mismas.

- Es importante, en futuros trabajos, evaluar la bio-disponibilidad del hierro presente en el refresco desarrollado por medio de ensayos pre-clínicos, que permitan establecer su potencial a nivel nutricional.
- Establecer la cinética de degradación de la vitamina C presente en el refresco, dado que el empaque seleccionado es transparente y puede afectar el contenido final de esta vitamina.
- Continuar con el proceso de desarrollo de bebidas a partir de estas cuatro frutas, evaluando nuevas sustancias edulcorantes y sus efectos en las características sensoriales del producto final, dada la preocupación mundial por disminuir el consumo de azúcar.
- Evaluar el proceso de escalado del producto desarrollado, con el fin de lograr su optimización como parte fundamental para que el refresco pueda ser producido a nivel industrial.

## Referencias

Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., y Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry*, 132(1), 86–97.

Abrams, S., Mushi, A., Hilmers, D., Griffin, I., Davila, P., y Allen, L. (2003). A multinutrient-fortified beverage enhances the nutritional status in Botswana. *The Journal of Nutrition*, 133(6), 1834–1840.

Abushita, A. a, Hebshi, E. a, Daood, H. G., & Biacs, P. a. (1997). Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Science*, 60(2), 207–212.

Action Against Hunger. (2013). El problema de la anemia en Perú. Recuperado de <http://www.actionagainsthunger.org/blog/peru-fresh-take-combating-childhood-anemia>

Agronet. (2013). Sistema de Estadísticas Agropecuarias. Recuperado de [http://www.agronet.gov.co/www/html3b/ReportesAjax/parametros/reporte16\\_2011.aspx?cod=16](http://www.agronet.gov.co/www/html3b/ReportesAjax/parametros/reporte16_2011.aspx?cod=16)

Alba Tamarit, E., Gandía Balaguer, A., Olaso González, G., Vallada Regalado, E., y Garzón Farinós, M. (2012). Determinación de las preferencias en el consumo de frutas y verduras de un grupo de niños valencianos en edad escolar. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 32(3), 64–71.

Alcaraz López, G., Bernal Parra, C., Aristizábal Gil, M., Ruiz Villa, M., y Fox Quintana, J. (2006). Anemia y anemia por déficit de hierro en niños menores de cinco años y su relación con el consumo de hierro en la alimentación. *Investigación y Educación en Enfermería*, 24, 16–29.

Alemán, M., Bou, R., Tres, A., Polo, J., Codony, R., y Guardiola, F. (2014). The effect of citric acid and ascorbyl palmitate in palm oil enriched with heme iron: A model for iron fortification in bakery products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(3), 300–310.

Allen, L. (2000). Anemia ad iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1280–1284.

Allen, L. H., y Ahluwalia, N. (1997). *Improving Iron Status Through Diet: The Application of Knowledge Concerning Dietary Iron Bioavailability in Human Populations*. Pensilvania: USAID.

Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Tulipani, S., Casoli, T., Di Stefano, G., González-Paramás, A. M., Santos-Buelga, C., Busco, F., Quiles, J.L., Cordero, M.D., Bompadre, S., Mezzet., y Battino, M. (2014). One-month strawberry-rich anthocyanin

supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(3), 289–94.

Ammerman, C., Baker, D., y Lewis, A. (1995). *Bioavailability of Nutrients for Animals*. Londres: Academic Press Limited.

Arredondo, M., Martínez, R., y Nunez, M. (2006). Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc. *Biological Research*, 39(1), 95–102.

Asamblea Legislativa de la República el Salvador. (1996). Ley de fortificación del azúcar con vitamina A . En Decreto 843. El Salvador.

Ash, D., Tatala, S., Frongillo, E., Ndossi, G., y Latham, M. . (2003). Randomized efficacy of micronutrient-fortified beverage in primary schoolchildren in Tanzania. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(4), 891–898.

Asociación Española de Normalización y Certificación. Productos alimenticios. Determinación de vitamina C mediante HPLC (2003). España.

Ballot, D., MacPhail, A., Bothwell, T., y Mayet, F. (1989). Fortification of curry powder with NaFe(111)EDTA in an iron- deficient population: report of a controlled iron-fortification trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 49(1), 162–169.

Barbosa Cánovas, G., Fernández Molina, J., Alzamora, S., Tapia, M., López Malo, A., y Welti Chanes, J. (2002). *Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas*. Roma. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/005/y4358e/y4358e04.htm#bm04.8.1>

Bashir, K., Nozoye, T., Ishimary, Y., Nakanishi, H., y Naokoko, N. (2013). Exploring new tools for bio-fortification of rice. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1624–1633.

Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia bromatológica: Principios generales de los alimentos*. Madrid: Diaz de Santos S.A.

Beutler, E., Hoffbrand, A., y Cook, J. (2003). Iron deficiency and overload. *Hematology The Education Program of the American Society of Ematology*, 1(40), 40–61.

Binaghi, M., Cagnasso, C., Pellegrino, N., Drago, S., González, R., Royaine, P., y Valencia, M. (2011). Disponibilidad potencial in vitro de hierro y zinc en una dieta infantil con pan fortificado con distintas fuentes de hierro o con agregado de promotores de la absorción. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 51(3).

Boccio, J., y Monteiro, J. B. (2004). Fortificación de alimentos con hierro y zinc : pros y contras desde un punto de vista alimenticio y nutricional Food fortification with iron and zinc : pros and cons. *Revista de Nutrición*, 17(1), 71–78.

Boccio, J., Salgueiro, X., Lysionek, A., Zubillaga, M., Goldman, C., y Weill, R. (2003). Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(2), 1–29.

Boccio, J., Zubillaga, M., Caro, R., Gotelli, C., Gotelli, M., y Weill, R. (1997). New procedure to fortify fluid milk and dairy products with high-bioavailable ferrous sulfate. *Nutrition Reviews*, 55(6), 240–246.

Bovell-Benjamin, A. C., Viteri, F. E., y Allen, L. H. (2000). Iron absorption from ferrous bisglycinate and ferric trisglycinate in whole maize is regulated by iron status. *American Society for Clinical Nutrition*, 71(6), 1563-1569

Burdurlu, H. S., Koca, N., y Karadeniz, F. (2006). Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74(2), 211–216.

Burgi, H., Supersaxo, Z., y Selz, B. (1990). Iodine deficiency diseases in Switzerland one hundred years after Theodor Kocher's survey: a historical review with some new goitre prevalence data. *Acta Endocrinol (Copenhagen)*, 123, 557–590.

Camejo, J., Rodríguez, T., García, Á., Boumba, A. M., Rodríguez, D., García, H., y Fernández, A. (2008). Combinaciones de preservantes para un producto unttable natural. *Ciencia Y Tecnología de Alimentos*, 18(3), 64–68.

Campos Rivera, N. H., y Reyes Lagunes, I. (2014). Preferencias Alimentarias y su Asociación con Alimentos Saludables y No Saludables en Niños Preescolares. *Acta de Investigación Psicológica*, 4(1), 1–5.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, a. M., y Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(4), 420–428.

Carvajal de Pabón, L.M., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L.M., Restrepo, S.L., Álvarez, J.M., Bonilla, K.C., Ochoa, C., y Sánchez, N. (2011). Algunas especies de Passiflora y su capacidad antioxidante Some Passiflora species and their antioxidant capacity. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4), 354–363.

Carvajal Hoyos, E. (2012). *Análisis de alimentos adicionados con micronutrientes en Colombia: contexto de la fortificación voluntaria*. Universidad de La Sabana.

Cobley, J. N., McHardy, H., Morton, J. P., Nikolaidis, M. G., y Close, G. L. (2015). Influence of vitamin C and vitamin E on redox signalling: Implications for exercise adaptations. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 65–76.

Colbert, D. (2001). *La nueva cura bíblica para las enfermedades del corazón*. New York: Casa creación.

Conrad, M. ., y Umbreit, J. (2000). Iron absorption and transport-an update. *American Journal of Hematology*, 64(4), 287–298.

Cook, J. D., Reddy, M. B., y Hurrell, R. F. (1995). The effect of red wine and white wines on nonheme-iron absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61(4), 800–804.

Cvetkovic, B.R., y Jokanovic, M.R. (2009). Effect of preservation method and storage condition on ascorbic acid loss in beverages. *Acta Periodica Technologica*, 40,1-7.

Da Silva, C. B., Wolkmer, P., Paim, F. C., Da Silva, A. S., Siqueira, L. C., de Souza, C. L., Franca, R.T., Dornelles, G.L., Medeiros Frescura Duarte, M.M., Monteiro, S.G., Mazzanti, C.M., y Dos Anjos Lopes, S. T. (2013). Iron metabolism and its relationship to anemia and immune system in Trypanosoma evansi infected rats. *Experimental Parasitology*, 133(3), 357–64.

De Paz, R., y Fernandez Navarro, F. (2005). Manejo, prevención y control del síndrome anémico secundario a deficiencia férrica. *Nutrición Hospitalaria*, 20(5), 264–267.

De Ramírez, B. (1993). *Análisis de Alimentos*. Bogotá: Guadalupe.

De Souza, V. R., Pereira, P. A. P., da Silva, T. L. T., de Oliveira Lima, L. C., Pio, R., y Queiroz, F. (2014). Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*, 156, 362–8.

Del Rea, S. I., Fajardo, Z., Solano, L., Páez, M. C., y Sánchez, A. (2005). Patrón de consumo de alimentos en niños de una comunidad urbana al norte de Valencia, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(3), 279–286.

Denic, S., y Argarwal, M. (2007). Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. *Nutrition*, 237, 603–614.

Dominí, A. K. (2012). Mejora genética de la fresa ( fragaria ananassa duch .), a través de métodos biotecnológicos. *Cultrop*, 33(3), 34–41.

Du, X., Finn, C. E., y Qian, M. C. (2010). Volatile composition and odour-activity value of thornless “Black Diamond” and “Marion” blackberries. *Food Chemistry*, 119(3), 1127–1134.

Du, X., Kurnianta, A., McDaniel, M., Finn, C., y Qian, M. (2010). Flavour profiling of “Marion” and thornless blackberries by instrumental and sensory analysis. *Food Chemistry*, 121(4), 1080–1088.

Duque, A. L., Giraldo, G. A., y Quintero, V. D. (2011). Caracterización de la fruta, pulpa y concentrado de uchuva ( *Physalis peruviana* L. ). *Temas Agrarios*, 1(6), 75–83.

Esch, J. R., Friend, J. R., y Kariuki, J. K. (2010). Determination of the vitamin C content of conventionally and organically grown fruits by cyclic voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science*, 5(10), 1464–1474.

Feigelman, S. (2011). The preschool years. In R. Kliegman, B. Staton, N. Schor, J. St.Geme, y R. Behrman (Eds.), *Nelson Textbook of Pediatrics* (19th ed., p. 2500). Philadelphia: Elsevier Saunders.

Floréz, R., Fisher, G., y Sora, A. (2000). Producción, poscosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana*) (1st ed., p. 165). Bogotá: Universidad Nacional.

Forrellat Barrios, M., Gautier du Défaix Gómez, H., y Fernández Delgado, N. (2000). Metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología Y Hemoterapia*, 16(3), 149–215.

Gaitán, D., Olivares, M., Arredondo, M., y Pizarro, F. (2006, August). Biodisponibilidad De Hierro En Humanos. *Revista Chilena de Nutrición*.

García de Moizat, M. de las R., Bravo de Ruiz, M., Mora, C. J., Bravo Villalobos, A., y García Bravo, A. (2011). Estado nutricional antropométrico, preferencias alimentarias y contenido de macro y kicro nutrientes en “loncheras” de niños prescolares. *MedULA*, 20, 117–123.

Garzón, G. A., Riedl, K. M., y Schwartz, S. (2009). Determination of anthocyanins, total phenolic content and antioxidant activity in andes berry (*Rubus glaucus benth*). *Journal of Food Science*, 74(3), c227–c232.

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., y Battino, M. (2012). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 28(1), 9–19.

Gliguem, H., y Birlouez-Aragon, I. (2005). Effects of sterilization, packaging and storage on vitamin C degradation, protein denaturation and glycation in fortified milks. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 891–899.

Grijalba Rativa, C. M., Pérez Trujillo, M. M., y Calderón Medellín, L. A. (2010). Rendimiento y calidad de la fruta en mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) con y sin espinas, cultivada en campo abierto en Cajicá (Cudinamarca, Colombia). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 6(1), 24–41.

Gupta, C., Chawla, P., Arora, S., Tomar, S. K., y Singh, a. K. (2015). Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using

modified solvent evaporation method – Milk fortification. *Food Hydrocolloids*, 43, 622–628.

Gupte, V. (2010). Expressing colours numerically. In M. L. Gulrajani (Ed.), *Colour Measurement: Principles, Advances and Industrial Applications* (p. 432). Cambridge: Woodhead Publishing.

Gutzeit, D., Baleanu, G., Winterhalter, P., y Jerz, G. (2008). Vitamin C content in sea Buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and related products: a kinetic study on storage stability and the determination of processing effects. *Food Chemistry*, 73(9), C615–C620.

Harris, D. (2003). *Análisis químico cuantitativo* (3ra edición). Barcelona: Reverté S.A.

Hernández Rodríguez, M. (2001). *Alimentación Infantil* (Tercera). Madrid: Diaz de Santos S.A.

Hernández, Y., Lobo, M. G., y González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96(4), 654–664.

Hertrampf, E., y Cortés, F. (2004). Folic acid fortification of wheat flour: Chile. *Nutrition Reviews*, 62(6), S44–S48.

Hurrel, R. (1997). Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutrition Reviews*, 55(6), 210–222.

Hurrel, R., y Egli, I. (2010). Iron bioavailability and dietary reference values. *Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 161–167.

ICONTEC. (1996). Análisis sensorial. Identificación y selección de descriptores para establecer un perfil sensorial por una aproximación multidimensional. In Norma Técnica Colombiana. NTC 3932. Colombia.

ICONTEC. (1997a). Frutas frescas. Fresa variedad Chandler. Especificaciones. In Norma Técnica Colombiana. NTC 4103. Colombia.

ICONTEC. (1997b). Frutas frescas. Mora de Castilla. Especificaciones. In Norma Técnica Colombiana. NTC 4106. Colombia.

ICONTEC. (1997c). Microbiología. Guía general para el recuento de mohos y levaduras. Técnica de recuento de colonias a 25 °C (1997c). In Norma Técnica Colombiana. NTC 4132. Colombia.

ICONTEC. (1999). Uchuva (*Physalis peruviana*), para el consumo fresco o destinado al procesamiento industrial. Colombia. In *Norma Técnica Colombiana*. NTC 4580. Colombia.

ICONTEC. (2007). Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de coliformes o *Escherichia coli* o ambos. Técnica de recuento de colonias utilizando medios fluorogénicos o cromogénicos. In *Norma Técnica Colombiana*. NTC 4458. Colombia.

ICONTEC. (2009). Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30 °C. In *Norma Técnica Colombiana*. NTC 4519. Colombia.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. (2011). *Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia*. Bogotá.

Jiménez, A. M., Sierra, C. A., Rodríguez-Pulido, F. J., González-Miret, M. L., Heredia, F. J., y Osorio, C. (2011). Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, 44(7), 1912–1918.

José, H., y Velásquez, C. (2008). Avance experimental de la ingeniería de postcosecha de frutas colombianas: resistencia mecánica para frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *DYNA*, 75(154), 39–46.

Kalt, W. (2006). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Food Science*, 70(1), R11–R19.

Kilcast, D., y Subramaniam, P. (2011). *Food and beverage stability and shelf life*. Cambridge: Woodhead Publishing.

Kubola, J., Siriamornpun, S., y Meeso, N. (2011). Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits. *Food Chemistry*, 126(3), 972–981.

Kyanko, M. V., Russo, M. L., Fernández, M., y Pose, G. (2010). Efectividad del ácido peracético sobre la reducción de la carga de esporas de mohos causantes de pudrición poscosecha de frutas y hortalizas. *Información Tecnológica*, 21(4), 125–130.

Lajusticia Bergasa, A. M. (2005). *La alimentación equilibrada en la vida moderna*. Madrid: EDAF S.A.

Lan, Y.H., Chang, F.R., Pan, M.J., Wu, C.C., Wu, S.J., Chen, S.L., Wang, S.S., Wu, M.J., y Wu, Y.C. (2009). New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*. *Food Chemistry*, 116(2), 462–469.

Latham, M. (2002). *Nutrición humana en el mundo en desarrollo*. Roma: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s17.htm#bm43x>

Layrisse, M., Chaves, J. ., Mendez-Castellano, H., Boscs, V., Tropper, E., Bastardo, B., y González, E. (1996). Early response to the effect of iron fortification in Venezuelan population. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64(6), 903–907.

Lea, A. G. (1994). Apple juice. In *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages* (2nd ed.). Berlin: Springer.

Lee, S. K., y Kader, A. a. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20(3), 207–220.

Legiscomex. (2013). Exportación de frutas exóticas colombianas. Recuperado de [http://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos PDF/estudio-frutas-exoticas-colombia-completo.pdf](http://www.legiscomex.com/BancoMedios/Documentos%20PDF/estudio-frutas-exoticas-colombia-completo.pdf)

Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinaions of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 3–6.

López Camelo, A. (2003). *Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Lozoff, B. (2007). Iron deficiency and child development. *Food Nutrition Bulletin*, 28(4), 560–571.

Maldonado Lozano, J., Baró, L., Ramírez-Tortosa, M. C., Gil, F., Linde, J., López-Huertas, E., Boza, J.J., y Gil, A. (2007). Ingesta de una fórmula láctea suplementada con hierro como medida preventiva del déficit de hierro en niños de 1 a 3 años de edad. *Anales de Pediatría*, 66(6), 591–596.

Marin Arango, Z. T., Cortes Rodríguez, M., y Montoya Campuzano, O. I. (2010). Frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo “Colombia” mínimamente procesados, adicionados con microorganismos probióticos utilizando la ingeniería de matrices. *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín*, 63(1), 5395–5407.

Marín, Z., Cortés, M., y Montoya, O. (2010). Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente procesada inoculada con la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la. *Revista Chilena de Nutrición*, 37, 461–472.

Marques, L. G., Ferreira, M. C., y Freire, T. (2007). Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra* L.). *Chemical Engineerig and Processing: Process Intensification*, 46, 451–457.

Masuda, H., Ishimaru, Y., Aung, M. ., Kobayashi, T., Kakei, Y., Takahashi, M., Higuchi, K., Nakanishi, H., y Nishizawa, N.K. (2012). Iron biofortification in rice by the introduction of multiple genes involved in iron nutrition. *Scientific Reports*, 2, 1–6.

Mendoza CH, J. ., Rodríguez de S, A., Y Millán C, P. (2012). Caracterización físico química de la Uchuva ( *Physalis peruviana* ) en la región de Silvia Cauca. *Bioteología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 10(2), 188–196.

Millán, L. de J., Y Ciro Velásquez, H. (2012). Caracterización mecánica y físico-química del banano tipo exportación (*Cavendish valery*). Recuperado de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/136/1/10.163-192.pdf>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2015). Uchuva colombiana en fresco ya se puede ingresar a las mesas de EE.UU. Recuperado de <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/Uchuva-colombiana-en-fresco-a-EE-UU.aspx>

Ministerio de la Protección Social. (2011). Resolución 333 de 2011 Por el cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado nutricional Colombia.

Ministerio de Salud. (1996). Decreto 1994 de 1996 Por el cual se reglamenta la fortificación de harina de trigo y se establecen las condiciones de comercialización, rotulado, vigilancia y control. Colombia.

Ministerio de Salud. (1998). Decreto 1324 de 1998 Por el cual se reglamenta la fortificación de azúcar con vitamina A y se establecen las condiciones de comercialización, rotulado, vigilancia y control. Colombia.

Ministerio de Salud y Protección Social. (2013). Resolución 3929 de 2013 Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que deben cumplir las frutas y las bebidas con adición de jugo (zumo) o pulpa de fruta o concentrados de fruta, clarificados o no, o la mezcla de éstos que se procesen, empaquen, transporten, importen y comercialicen en el territorio nacional. Colombia.

Miranda, M., Olivares, M., Brito, A., y Pizarro, F. (2014). Reducing iron deficiency anemia in Bolivian school children: Calcium and iron combined versus iron supplementation alone. *Nutrition*, 30(7-8), 771–775.

Miret, S., Simpson, R. J., y McKie, A. T. (2003). Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annual Review of Nutrition*, 23, 283–301.

Morales González, E., Contreras, I., y Estrada, J. a. (2014). Effect of iron deficiency on the expression of insulin-like growth factor-II and its receptor in neuronal and glial cells. *Neurología (English Edition)*, 29(7), 408–415.

Moreira Araújo, R., Araújo, M., y Areas, J. (2008). Fortified food made by extrusion of a mixture of chickpea, corn and bovine lung controls iron deficiency anaemia in preschool children. *Food Chemistry*, 107(1), 158–164.

Moreira, V., y López San Román, A. (2009). Anemia ferropénica. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 101(1), 70–71.

Mujica-Coopman, M. F., Brito, A., López de Romaña, D., Pizarro, F., y Olivares, M. (2015). Body mass index, iron absorption and iron status in childbearing age women. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 30, 215–9.

Muñoz, M., Leal-Noval, S., García-Erce, J., y Naveira, E. (2007). Prevalencia y tratamiento de la anemia en el paciente crítico. *Medicina Intensiva*, 31(7), 388–398.

Muzzo, B. (2004). Fortificación de harina de trigo en América Latina y Región del Caribe. *Revista Chilena de Nutrición*, 31(3), 336–347.

Nadadur, S. ., Srirama, K., y Mudipalli, A. (2008). Iron transport & homeostasis mechanisms: their role in health & disease. *Indian Journal of Medical Research*, 128, 533–544.

Nogueira de Almeida, C., Crott, G., Rico, R., Del Ciampo, L., Dutra de Oliveira, J., y Cantolini, A. (2003). Control of iron-deficiency anaemia in Brazilian preschool children using iron-fortified orange juice, 23, 27–33.

Nunes Damaceno, M. (2007). Caracterización y procesado de kiwi y fresa cultivados por diferentes sistemas. Universidad de Santiago de Compostela.

Ocampo Pérez, J., Marín, C., Posada Quintero, P., López, N., y Solano, R. (2012). Establecimiento y zonas productoras del cultivo de la Gulupa. In J. Ocampo Pérez & K. Wyckhoys (Eds.), *Tecnología para el cultivo de gulupa en Colombia* (pp. 33–37). Bogotá: CIAT.

O'Connor, T., Yang, S., y Nicklas, T. (2006). Beverage intake among preschool children and its effect on weight status. *Pediatrics*, 118(4), 1010–1018.

Ojasild, E. (2009). Elaboración de néctares de gulupa (*passiflora edulis f. edulis*) y curuba (*Passiflora mollissima*). *Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia*. Recuperado de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2449/1/107416.2009.pdf>

Olivares, M., y Pizarro, F. (2001). Bioavailability of iron bis-glycinate chelate in water. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 1(1), 22-27

Olivares, M., Pizarro, F., Gaitán, D., y Ruz, M. (2007). Acute inhibition of iron absorption by zinc. *Nutrition Research*, 27(5), 279–282.

Ordóñez-Santos, L. E., Portilla, M. A. O., y Rodríguez, D. X. R. (2013). Cinética de degradación térmica de vitamina C en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista Lasallista de Investigación*, 10(2), 44–51.

Orjuela Baquero, N. M., Campos Alba, S., Sánchez Nieves, J., Melgarejo, L. M., y Hernández, M. S. (2011). Manual de manejo poscosecha de la Gulupa (*Passiflora edulis* Sims). In L. M. Melgarejo y M. S. Hernández (Eds.), *Poscosecha de la gulupa (Passiflora edulis Sims)* (pp. 7–22). Universidad Nacional de Colombia.

Osorio, C., Hurtado, N., Dawid, C., Hofmann, T., Heredia-Mira, F. J., y Morales, A. L. (2012). Chemical characterisation of anthocyanins in tamarillo (*Solanum betaceum* Cav.) and Andes berry (*Rubus glaucus* Benth.) fruits. *Food Chemistry*, 132(4), 1915–1921.

Papanikolau, G., y Pantopoulos, K. (2005). Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2012, 199–211.

Patras, A., Brunton, N. P., Da Pieve, S., y Butler, F. (2009). Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry pures. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(3), 308–313.

Pérez Llamas, F., y Zamora Navarro, S. (2002). *Nutrición y Alimentación Humana*. Murcia: Universidad de Murcia.

Pérez-moncada, U. A., Ramírez-gómez, M. M., Núñez-zarante, V. M., Franco-correa, M., y Roveda-hoyos, G. (2012). Evaluacion de un sistema para la micorrizacion in vitro en plantas de mora de castilla ( *Rubus glaucus* , Benth ). *Universitarias Scientiarium*, 17(2), 140–151.

Pinzón, I. M., Fisher, G., y Corredor, G. (2007). Determination of the maturity stages of purple passion fruit. *Agromía Colombiana*, 25(1), 83–95.

Quintero, V., Giraldo, G., Lucas, J., y Vasco, J. (2013). Caracterización fisicoquímica del mango comun (*Mangifera indica* L.) durante su proceso de maduración. *Bioteología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 11(1), 10–18.

Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., y Bahorun, T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*, 44(7), 2088–2099.

Repo de Carrasco, R., y Encina Zelada, C. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Sociedad Químimica Perú*, 74(2).

Resende, J. T. V., Camargo, L. K. P., Argandoña, E. J. S., Marchese, A., y Camargo, C. K. (2008). Sensory analysis and chemical characterization of strawberry fruits. *Horticultura Brasileira*, 26, 371–374.

Restrepo, A. M., Cortés, M., y Rojano, B. (2009). Determinación de la vida útil de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) fortificada con vitamina E. *Dyna*, 159, 163–175.

Restrepo Duque, A. M., & Cortés Rodríguez, M. (2013). *Desarrollo de nuevos productos de uchuva y fresa con valor agregado*. Medellín: Corporación Universitaria Lasallista.

Ribaya Mercado, J., Solomons, N., Medrano, Y., Bulux, J., Dolnikowski, G., Russell, R., y Wallace, C. (2004). Use of the deuterated-retinol-dilution technique to monitor the vitamin A status of Nicaraguan schoolchildren 1 y after initiation of the Nicaraguan national program of sugar fortification with vitamin A. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1291–1298.

Roca, N., Pazos, M. S., y Bech, J. (2007). Disponibilidad de cobre, hierro, manganeso, zinc en suelos del no Argentino. *Ciencia Del Suelo*, 25(1), 31–42.

Rodríguez Piñeiro, M. I. (2007). *Efecto de la diferencia electrolítica de la dieta sobre la homeostasis ácido-base y el metabolismo óseo en perros beagle*. Universidad de Santiago de Compostela.

Rodríguez Rivera, V. M., y Magro, E. S. (2008). *Bases de la alimentación humana*. Madrid: Netbiblo, S.L.

Rojas, M. L., Sánchez, J., Villada, Ó., Montoya, L., Díaz, A., Vargas, C., Chica, J., y Herrera, A. M. (2013). Eficacia del hierro aminoquelado en comparación con el sulfato ferroso como fortificante de un complemento alimentario en preescolares con deficiencia de hierro, Medellín, 2011. *Biomédica*, 33(3), 350-360.

Rojas-Barquera, D., y Narváez-Cuenca, C. E. (2009). Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivadas en Colombia. *Quimica Nova*, 32(9), 2336–2340.

Ruel, G., Shi, Z., Zhen, S., Zuo, H., Kröger, E., Sirois, C., Lévesque, J.F., y Taylor, A. W. (2014). Association between nutrition and the evolution of multimorbidity: The importance of fruits and vegetables and whole grain products. *Clinical Nutrition*, 33(3), 513–520.

Ruiz López, M. D., García-Villanova Ruiz, B., y Abellán Ballesta, P. (2010). Frutas y productos derivados. In *Tratado de nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos* (p. 812). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Sánchez-Chávez, W., Cortez-Arredondo, J., Solano-Cornejo, M., y Vidaurre-Ruiz, J. (2015). Kinetics of thermal degradation of betacyanins, betaxantins and vitamin C in a juice-based drink beet (*Beta vulgaris* L.) and honey. *Scientia Agropecuaria*, 6(2), 111–118.

Sancho Barrantes, E., y Barrona Cockrell, M. (1998). *Manzana, melocotón, fresa y mora. Fruticultura especial*. San José: Editorial Universidad Estatal a Distancia.

Sapei, L., y Hwa, L. (2014). Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, 9, 62–68.

Scrimshaw, N. S. (2005). La fortificación de alimentos: Una estrategia nutricional indispensable. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 18(1), 64–68.

Sichert-Hellert, W., y Kersting, M. (2001). Significance of fortified beverages in the Long-term diet of German children and adolescents: 15-Year Results of the DONALD Study. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 71, 356–363.

Soyano, A., y Gómez, M. (1999). Participación del hierro en la inmunidad y su relación con las infecciones. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49, 40S–46S.

Stešková, A., Morochovičová, M., y Lešková, E. (2006). Vitamin C degradation during storage of fortified foods. *Journal of Food and Nutrition Research*, 45(2), 55–61.

Suárez, H., Ciminio, F., y Bonilla, E. (1985). Hierro en el sistema nervioso central: metabolismo y consideraciones fisiopatológicas. *Investigación Clínica*, 26, 247–322.

Tafur, S. M., y Menjivar, J. C. (2010). Nutrición mineral del arroz. In V. Degiovanni, C. Martínez, y F. Motta (Eds.), *Producción Eco-eficiente del arroz en América Latina* (pp. 3–447). Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.

Thuy, P., Berger, J., Davidsson, L., Khan, N., Lam, N., Cook, J., Hurrell, R.F., y Khoi, H. (2003). Regular consumption of NaFeEDTA- fortified fish sauce improves iron status and reduces the prevalence of anemia in anemic Vietnamese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(2), 284–290.

Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., y Andrade, R. D. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Físicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51–56.

Tosun, I., Ustun, N., y Tekguler, B. (2008). Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. *Scientia Agricola*, (February), 87–90.

Toxqui, L., Piero, A. De, Courtois, V., Bastida, S., y Vaquero, M. P. (2010). Deficiencia y sobrecarga de hierro ; implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 25(3), 350–365.

Trinidad, T.P., Kurilich, A.C., Mallillin, A.C., Walczyk, T., Sagum, R.S., Singh, N.N., Harjani, Y., de Leon, M.O., Capanzana, M.V., y Fletcher, J. (2014). Iron absorption from NaFeEDTA-fortified oat beverages with or without added vitamin C. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 124–8.

United States Environmental Protection Agency. (1986). Method 7380: Iron (atomic absorption, direct aspiration).

United States Environmental Protection Agency. (1996). Method 3050B: acid digestion of sediments, sludges, and oils.

United States Environmental Protection Agency. (2000). Method 6010C: inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry.

United States Environmental Protection Agency. (2007). Method 3051A: microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, and oils.

USDA. (2014). National nutrient database of standard references. Release 27. Recuperado de <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2210?fg=&man=&facet=&format=&count=&max=25&offset=&sort=&qlookup=blackberry+raw>

Wills, R., Lee, T., Graham, D., McGlasson, W., y Hall, E. (1984). *Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas postrecolección*. Zaragoza: Acribia S.A.

World Health Organization. (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. (L. Allen, B. de Benoist, O. Dary, & R. Hurrell, Eds.) *unscn.org*.  
Tailandia: WHO/FAO. Recuperado de [http://www.unscn.org/layout/modules/resources/files/fortification\\_eng.pdf](http://www.unscn.org/layout/modules/resources/files/fortification_eng.pdf)

World Health Organization. (2008). Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO global database of anaemia. Recuperado de [http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf).

World Health Organization. (2015). *Guideline: Sugars intake for adults and children*. Geneva: WHO. Recuperado de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149782/1/9789241549028\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/149782/1/9789241549028_eng.pdf)

Wu, S.J., Ng, L.T., Chen, C.H., Lin, D.L., Wang, S.S., y Lin, C.C. (2004). Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *P. peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Sciences*, 74(16), 2061–2073.

Wu, S.J., Ng, L.T., Huang, Y.M., Lin, D.L., Wang, S.S., Huang, S.N., y Lin, C.C. (2005). Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(6), 963–966.

Zamora Utset, E. (2007). *Evaluación objetiva de la calidad sensorial de alimentos procesados*. Ciudad de la Habana: Editorial Universitaria. Recuperado de [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301118/DISENO\\_AVA/Evaluacion\\_Objativa\\_de\\_la\\_Calidad\\_sensorial\\_de\\_los\\_alimentos.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/301118/DISENO_AVA/Evaluacion_Objativa_de_la_Calidad_sensorial_de_los_alimentos.pdf)

Zampollo, F., Kniffin, K. M., Wansink, B., y Shimizu, M. (2012). Food plating preferences of children: the importance of presentation on desire for diversity. *Acta Paediatrica*, 101(1), 61–66.

## Anexo A. Protocolo de la determinación de pH



	<b>Protocolo para la determinación del pH!</b>	<b>Elaboró:</b> Angélica María Serpa G. Jaime Alejandro Barajas G.  <b>Aprobó:</b> Lina María Veléz Acosta  <b>Revisó:</b> Gustavo Adolfo Hincapié
--	--	---

!

<b>Objetivo!</b>	Estandarizar el proceso de determinación de pH en muestras líquidas.
<b>Alcance!</b>	Inicia con la preparación de la mezcla y culmina con la lectura del pH en el equipo correspondiente.
<b>Método!</b>	AOAC 981.12/05 Adaptado.
<b>Campo de aplicación!!</b>	Esta metodología se puede aplicar a muestras líquidas y semilíquidas, cuyo pH esté en el rango de 3-12.

!

<b>1. Descripción del método!</b>	
El método consiste en realizar un análisis químico potenciométrico para la determinación del pH en muestras líquidas y semi-líquidas.	
<b>2. Materiales y equipos!</b>	
<u>Equipos!</u>	<u>Materiales!</u>
<ul style="list-style-type: none"> <li>· pH- metro digital de mesa, en este caso se empleó un Lab 850 Schott instruments. !</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Tubos falcón de 50 mL.!</li> <li>· Agua destilada.!</li> <li>· Paño suave.!</li> <li>· Frasco lavador.!</li> <li>· Soluciones buffer Schott instruments!</li> </ul>
En la figura 1 se puede observar el pH- metro Lab 850 Schott instruments.	
<b>Figura 1.</b> pH-metro Lab 850 Schott Instruments	

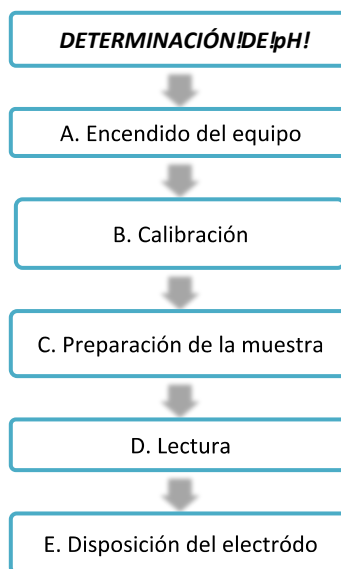
Todas las mediciones de pH se deben realizar por triplicado para cada muestra

### 3. Diagrama de flujo!!

#### Recomendaciones!

- ✎ No tocar con las manos el recubrimiento de vidrio del electrodo, para evitar el deterioro del mismo.!

En la figura 2 se presentan los pasos secuenciales que se deben tener en cuenta para la determinación del pH en las muestras.



**Figura 1.** Diagrama de flujo para la determinación de pH

### 4. Descripción del proceso!

!

#### A. Encendido del equipo:!

- Encender el pH-metro pulsando la tecla "on/off" (1).
- Retirar el protector del electrodo (4) que contiene KCl, sujetándolo de la parte plástica superior.
- Con la ayuda de un frasco lavador, adicionar agua destilada en la parte de vidrio del electrodo (4) para remover los restos de KCl.
- Secar con la ayuda de un paño suave.

Todas las mediciones de pH se deben realizar por triplicado para cada muestra




<p><b>B. Calibración del equipo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Oprimir la tecla “Cal” (3) y esperar hasta que en la pantalla del equipo se pueda leer “Buffer” para oprimir “OK” (2).</li> <li>• Sumergir el electrodo (4), en una de las soluciones buffer del equipo. Es importante tener en cuenta que este modelo de pH-metro detecta automáticamente la solución buffer que se está utilizando, por lo que no es necesario realizar la calibración en un orden específico.</li> <li>• Después de sumergir el electrodo (4) en la primera solución, esperar hasta que el equipo emita un sonido de confirmación y solicite por medio de un mensaje en la pantalla el buffer 2.</li> <li>• Oprimir “Ok” (2), lavar el electrodo (4) con agua destilada, secarlo con un paño suave y sumergirlo en la solución buffer 2 de calibración.</li> <li>• Esperar nuevamente el sonido de confirmación, oprimir “Ok” (2) y repetir los pasos anteriores para sumergir el electrodo en la solución buffer 3. Esperar la confirmación de equipo (sonido) y oprimir nuevamente “Ok” (4) para finalizar la calibración.</li> </ul> <p><b>C. Preparación de la muestra:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mezclar la muestra a leer para garantizar homogeneidad en la lectura.</li> <li>• Adicionar alrededor de 6 ml del jugo o zumo de fruta en el tubo falcón.</li> </ul> <p><b>D. Lectura:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Introducir el electrodo dentro del tubo falcon, teniendo precaución de que la punta del mismo no toque las paredes del recipiente.</li> <li>• Esperar a que el valor de pH se estabilice en la pantalla y registrar el valor.</li> </ul> <p><b>E. Disposición del electrodo:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavar el electrodo con agua destilada, secarlo y sumergirlo nuevamente en la solución de KCl.</li> </ul>
<p><b>Cálculos y resultados</b></p> <p>Realizar el promedio de los tres valores y expresar el resultado con su respectiva desviación estándar.</p>
<p><b>Nombre del referente de búsqueda (referencia)</b></p> <p>ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. Official Methods of Analysis of AOAC. 18. Ed. Washington: AOAC, 2005</p>

Todas las mediciones de pH se deben realizar por triplicado para cada muestra

## Anexo B. Protocolo para la determinación de sólidos solubles



	<b>Protocolo para la determinación de sólidos solubles!</b>	<b>Elaboró:</b> Angélica María Serpa G. Jaime Alejandro Barajas G.  <b>Aprobó:</b> Lina María Vélez Acosta  <b>Revisó:</b> Gustavo Adolfo Hincapié
---	---	---

<b>Objetivo!</b>	Determinar los sólidos solubles o °Brix de frutas y sus derivados.
<b>Alcance!</b>	Empieza con la descripción del equipo, los materiales, procedimientos para realizar las mediciones y finaliza con la limpieza de los prismas.
<b>Método!</b>	Refractómetro portátil: Guía refractómetro ATAGO modelo PAL-1.
<b>Campo de aplicación!!</b>	Frutas y sus derivados: Pulpas de frutas, refrescos, mermeladas, jaleas, entre otros.

<b>1. Descripción del método!</b>				
El método consiste en realizar la determinación de sólidos solubles expresados en °Brix por refractometría.				
<b>2. Materiales y equipos!</b>				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;"><b>Equipos!</b></td> <td style="text-align: center;"><b>Materiales!</b></td> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Se pueden emplear los siguientes equipos:</li> <li>Refractómetro portátil marca ATAGO modelo PAL-1</li> </ul> </td> <td style="vertical-align: top;"> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Agua destilada</li> <li>· Gotero</li> <li>· Frasco lavador</li> <li>· Paño suave</li> </ul> </td> </tr> </table>	<b>Equipos!</b>	<b>Materiales!</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Se pueden emplear los siguientes equipos:</li> <li>Refractómetro portátil marca ATAGO modelo PAL-1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Agua destilada</li> <li>· Gotero</li> <li>· Frasco lavador</li> <li>· Paño suave</li> </ul>
<b>Equipos!</b>	<b>Materiales!</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Se pueden emplear los siguientes equipos:</li> <li>Refractómetro portátil marca ATAGO modelo PAL-1</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Agua destilada</li> <li>· Gotero</li> <li>· Frasco lavador</li> <li>· Paño suave</li> </ul>			
En la figura 1, se presenta el equipo portátil para la determinación de sólidos solubles.				

La determinación de sólidos solubles se debe realizar por triplicado para cada muestra



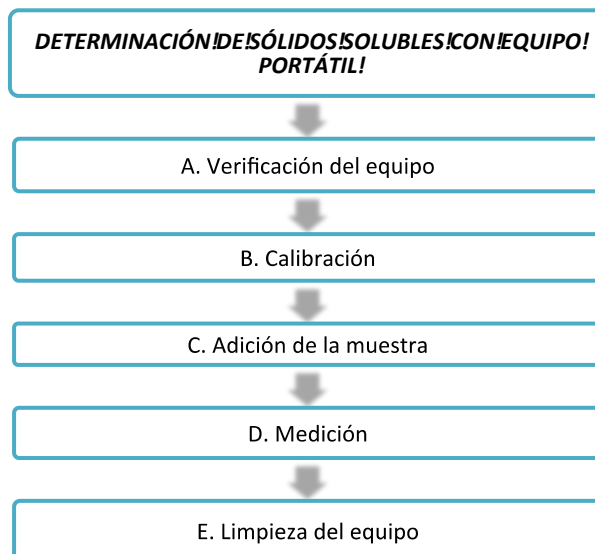
**Figura1.** Equipo portátil para medir sólidos solubles marca ATAGO modelo PAL-1.

### 3. Diagrama de flujo!!

#### Recomendaciones!

- ✎ Tenga la precaución de no rayar o alterar la superficie de los prismas.!
- ✎ Evitar que el agua de lavado tenga contacto con las conexiones eléctricas.!

En la figura 3 se muestra el diagrama de flujo con los pasos secuenciales que se deben tener en cuenta para la determinación de sólidos solubles (°Brix) con el refractómetro portátil. Los números de las partes del equipo son los observados en la figura 1.



**Figura3.** Diagrama de flujo para la determinación de sólidos solubles con el refractómetro portátil marca ATAGO modelo PAL-1.

La determinación de sólidos solubles se debe realizar por triplicado para cada muestra




<p><b>4. Descripción del proceso</b></p> <p>El presente procedimiento se debe realizar por triplicado.</p> <p>Los números que representan las partes del equipo corresponden a la figura 1.</p> <p><b>A. Verificación del equipo:</b> Revisar que el equipo tenga sus baterías cargadas y verificar que el porta-muestra (1) se encuentre limpio y seco.</p> <p><b>B. Calibración:</b> Adicionar con la ayuda del gotero, 3 gotas de agua destilada en el porta-muestra (1). Presionar el botón ZERO (3), e inmediatamente en la pantalla del equipo debe aparecer el valor de "0,0". Eliminar el agua del porta-muestra y secar bien con la ayuda de un paño suave para evitar el deterioro del equipo.</p> <p><b>C. Adición de la muestra:</b> Adicionar en el porta-muestra con la ayuda del gotero 3 gotas de la muestra a analizar. Presionar el botón START (2) y registrar el valor que aparece en la pantalla.</p> <p><b>D. Limpieza del equipo:</b> Lavar el porta-muestra con agua destilada, secar y proceder con las siguientes lecturas.</p>
<p><b>Cálculos y resultados</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Promediar los valores obtenidos.</li> <li>• Reportar el valor, promediado con su respectiva desviación.</li> </ul>
<p><b>Nombre del referente de búsqueda (referencia)</b></p> <p>Atago. (2014). Guía refractómetro ATAGO modelo PAL-1. Retrieved February 05, 2015, from <a href="http://www.atago.net/Spanish/g_pal.html">http://www.atago.net/Spanish/g_pal.html</a>.</p> <p>AOAC. (1997). Solids (soluble) in fruits and fruits products. Refractometer method. In Official Methods of Analysis of AOAC International. (16th ed., p. 1). Washinton D.C.</p>


La determinación de sólidos solubles se debe realizar por triplicado para cada muestra

## Anexo C. Protocolo para la determinación de color



	<p align="center"><b>Protocolo para la determinación de color por coordenadas CIE L*a*b*</b></p>	<p><b>Elaboró:</b> Angélica María Serpa G. Jaime Alejandro Barajas G. <b>Aprobó:</b> Lina María Vélez Acosta <b>Revisó:</b> Gustavo Adolfo Hincapié</p>
---	--	---

<b>Objetivo!</b>	Estandarizar el proceso de determinación de las coordenadas de color CIE L*a*b* en productos sólidos.
<b>Alcance!</b>	Inicia con el encendido del equipo y finaliza con las indicaciones para el reporte de las mediciones.
<b>Método!</b>	Guía Rápida. Espectrofotómetro de esfera marca X3RITE Serie SP60.
<b>Campo de aplicación!!</b>	Frutas enteras o fraccionadas, jugos en polvo, mermeladas, jaleas.

<p align="center"><b>1. Descripción del método!</b></p>				
<p>El método consiste en determinar las coordenadas de color de CIE L*a*b* en productos sólidos, donde L* es un indicador de la luminosidad, a* representa la cromaticidad verde (-) a rojo (+) y b* representa la cromaticidad azul (-) a amarillo (+).</p>				
<p align="center"><b>2. Materiales y equipos!</b></p>				
<table border="0"> <thead> <tr> <th align="center" data-bbox="342 1102 889 1144"><u>Equipos!</u></th> <th align="center" data-bbox="889 1102 1321 1144"><u>Materiales!</u></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="342 1144 889 1228"> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Espectrofotómetro de esfera marca X3RITE modelo SP360</li> <li>· Referencia de blanco y negro</li> </ul> </td> <td data-bbox="889 1144 1321 1228"> <ul style="list-style-type: none"> <li>· Caja de petri</li> <li>· Espátula</li> </ul> </td> </tr> </tbody> </table>	<u>Equipos!</u>	<u>Materiales!</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Espectrofotómetro de esfera marca X3RITE modelo SP360</li> <li>· Referencia de blanco y negro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Caja de petri</li> <li>· Espátula</li> </ul>
<u>Equipos!</u>	<u>Materiales!</u>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>· Espectrofotómetro de esfera marca X3RITE modelo SP360</li> <li>· Referencia de blanco y negro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Caja de petri</li> <li>· Espátula</li> </ul>			
<p>El equipo empleado para la determinación de color por coordenadas CIE L*a*b* en productos sólidos se puede observar en la figura 1.</p>				
				
<p align="center"><b>Figura 1.</b> Espectrofotómetro de esfera marca X3RITE modelo SP360.</p>				
<p align="center"><b>Fuente:</b> Incorporated, X. R. (2007). Guía Rápida. Serie SP60. Espectrofotómetro de esfera. Michigan.</p>				

La determinación de las coordenadas de color CIE L\*a\*b\*, se debe realizar por triplicado para cada muestra!

## SGR Sistema General de Regalías

Regalías para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación

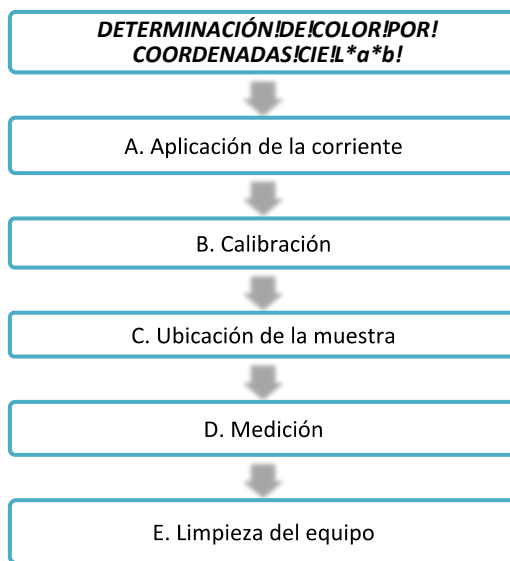
### 3. Diagrama de flujo!

#### Recomendaciones!

- ✎ Tenga la precaución de no dejar caer el equipo.!
- ✎ Revise la carga de batería de equipo antes de iniciar el procedimiento.!
- ✎ La batería debe permanecer en todo momento en el instrumento para que éste funcione.

En la figura 2 se muestra el diagrama de flujo con los pasos a seguir para la determinación de las coordenadas de color CIE  $L^*a^*b^*$  con el refractómetro de esfera marca X-RITE.

!



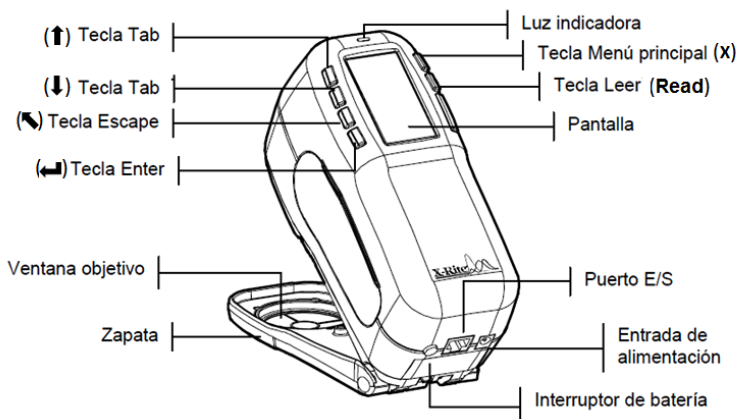
**Figura 2.** Diagrama de flujo para la determinación de las coordenadas de color CIE- $L^*a^*b^*$  con el refractómetro marca X-RITE.

!

### 4. Descripción del proceso!

El presente procedimiento se debe realizar por triplicado. La ubicación de las partes del equipo se puede observar en la figura 3.

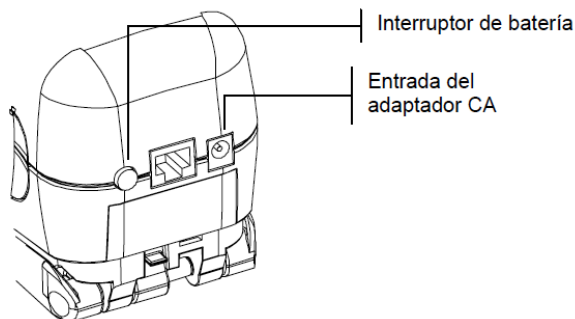
La determinación de las coordenadas de color CIE- $L^*a^*b^*$ , se debe realizar por triplicado para cada muestra



**Figura 3.** Partes del espectrofotómetro marca XRITE.

**Fuente:** Incorporated, X.R. (2007). Guía Rápida. Serie SP60. Espectrofotómetro de esfera. Michigan, Adaptado.

**A. Aplicación de la corriente (encendido):** Verificar que la batería se encuentre en el equipo (parte posterior) y accionar el interruptor de la misma para encender el equipo. El equipo cuenta con un adaptador de CA, que permite recargar la batería. La ubicación de estas partes del equipo se puede observar en la figura 4.



**Figura 4.** Ubicación de las partes del equipo para aplicar la corriente.

**Fuente:** Incorporated, X.R. (2007). Guía Rápida. Serie SP60. Espectrofotómetro de esfera. Michigan.

La determinación de las coordenadas de color CIE  $L^*a^*b^*$ , se debe realizar por triplicado para cada muestra.

Una vez encendido el espectrofotómetro de esfera se debe proceder a la calibración del equipo.

**B. Calibración del espectrofotómetro de esfera:** La calibración se debe realizar al menos una vez en el día (en caso de que se utilice diariamente). El procedimiento consta de una lectura de calibración del blanco y una de negro. Se puede definir la frecuencia de calibración (entre 1 a 24 horas).

Se debe verificar que la referencia de calibración esté limpia antes de usarla. También se debe limpiar cuidadosamente el disco de cerámica con un paño seco y sin pelusas, evitando el uso de solventes y/o limpiadores. La parte negra también se puede limpiar con un paño seco y sin pelusas o con aire comprimido limpio y seco.

- Oprima las teclas Tab para seleccionar la opción "Calibrar" y luego oprima la tecla Enter para acceder al modo de calibración.
- Ubique la ventana objetivo sobre la referencia de blanco.
- Oprima firmemente el instrumento en la zapata y oprima la tecla Read prolongadamente.
- Manténgalo estable hasta que la pantalla indique que la calibración de blanco esté completa. Cuando aparezca <¡Éxito!>, suelte el instrumento.
- Centre la ventana objetivo sobre la parte negra de la referencia.
- Oprima firmemente el instrumento en la zapata y oprima la tecla Read prolongadamente.
- Manténgalo estable hasta que la pantalla indique que la calibración de negro esté completa.
- Guarde la referencia de calibración en un lugar seco y libre de polvo, lejos de exposición directa a la luz.

**C. Ubicación de la muestra:**

- Oprima la tecla Menú principal del equipo.
- Elija la opción la opción "Analizar" si desea guardar los datos en el equipo, de lo contrario seleccione "calidad" para realizar la lectura del color y oprima la tecla Enter.
- La muestra debe quedar centrada con la ventana objetivo. Para el caso de las muestras en polvo se debe colocar una cantidad con la ayuda de una espátula, de tal manera que quede cubierto el fondo de la caja de Petri y se evite dejar espacios en blanco.

**D. Medición:**

- Para tomar la lectura, baje y mantenga abajo el instrumento.
- Oprima firmemente el instrumento en la zapata y oprima la tecla Read hasta oír la señal de que la medida finalizó.

La determinación de las coordenadas de color CIE-L \*a\*b, se debe realizar por triplicado para cada muestra

## SGR Sistema General de Regalías

Regalías para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación

!!

!

- Suelte el instrumento y aparecerán los datos de la medición.
- Tome nota de los valores de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .
- Apague el equipo oprimiendo la tecla del interruptor de la batería.
- Desconecte el equipo dado el caso.

### E. Limpieza del equipo:

- limpiar cuidadosamente la ventana objetivo con un paño seco y sin pelusas.
- Guarde el equipo en el estuche.

### Cálculos y Resultados

Realice el promedio de los tres valores para las coordenadas  $L$ ,  $a$  y  $b$ , con la desviación estándar.

### Nombre del referente de búsqueda (referencia)

Incorporated, I.X. (2007). Guía Rápida. Serie SP60. Espectrofotómetro de esfera. Michigan.

!

!

La determinación de las coordenadas de color  $L^*a^*b^*$ , se debe realizar por triplicado para cada muestra!

## Anexo D. Ensayos preliminares: relación entre % de fruta y azúcar adicionada

### Ensayos preliminares, para determinar la relación entre el contenido de fruta y el azúcar a adicionar en los refrescos

Para la determinación de la relación entre el contenido de fruta y el azúcar a adicionar en las formulaciones, se obtuvieron refrescos evaluando los 3 porcentajes de fruta utilizados en el diseño experimental de la investigación (10, 6,25 y 3,75 %) y 7 porcentajes de azúcar adicionado (2, 3, 4, 5, 6 y 7 %). En la Tabla 1, se presentan los prototipos evaluados:

**Tabla 1.** Prototipo evaluados

Prototipo'	Fresa'(%)'	Mora'(%)'	Gulupa'(%)'	Uchuva'(%)'	Azúcar'(%)'	Agua'(%)'
251\$	10\$	10\$	10\$	10\$	2\$	58\$
751\$	10\$	10\$	10\$	10\$	3\$	57\$
820\$	10\$	10\$	10\$	10\$	4\$	56\$
282\$	10\$	10\$	10\$	10\$	5\$	55\$
853\$	10\$	10\$	10\$	10\$	6\$	54\$
198\$	10\$	10\$	10\$	10\$	7\$	53\$
922\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	2\$	73\$
853\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	3\$	72\$
450\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	4\$	71\$
771\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	5\$	70\$
249\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6\$	69\$
323\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	6,25\$	7\$	68\$
209\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	2\$	83\$
163\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3\$	82\$
854\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	4\$	81\$
546\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	5\$	80\$
905\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	6\$	79\$
946\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	3,75\$	7\$	78\$

Elaborados los prototipos, se realizó el análisis sensorial con 30 consumidores, divididos en 3 grupos (de 10 personas). A cada grupo se le entregaron 6 prototipos correspondientes a los que contenían el mismo porcentaje de fruta para que realizaran el análisis sensorial por medio de una escala hedónica de 9 puntos, utilizando el formato que se presenta en el Figura 1.

**Figura 1.** Formato del análisis sensorial

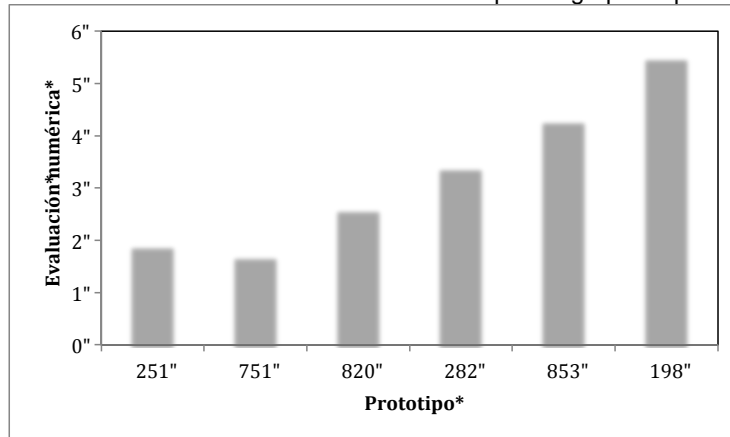
Nombre y apellido: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Por favor, pruebe todas y cada una de las muestras que se le han presentado y señale con una (X) el término que mejor refleja la impresión global que le produce cada una de ellas.

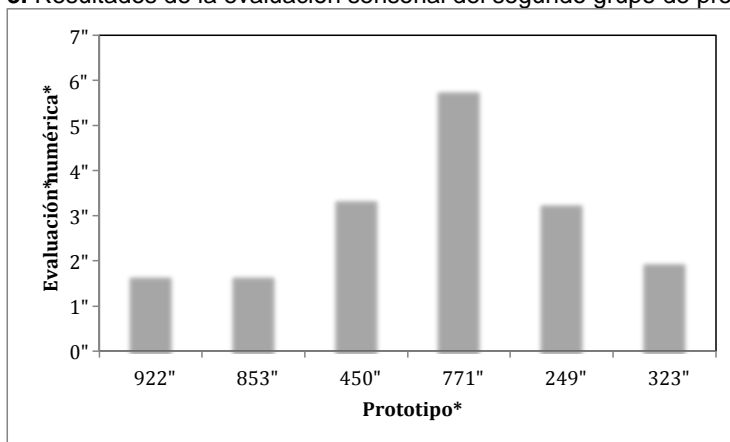
Código del producto									
Altamente agradable									
Muy Agradable									
Moderadamente agradable									
Ligeramente agradable									
Ni agradable ni desagradable									
Ligeramente desagradable									
Moderadamente desagradable									
Muy Desagradable									
Altamente desagradable									

Muchas gracias por su colaboración!!!

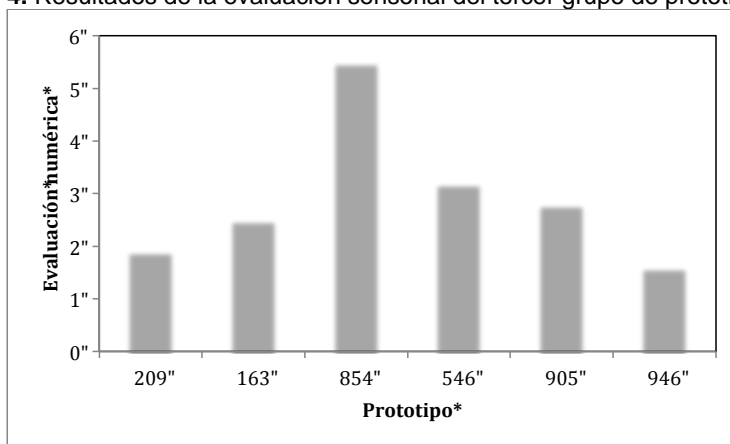
Realizadas las encuestas, se tabularon los resultados, dando valores numéricos del 1 al 9 a las descripciones, siendo 1 el "Altamente desagradable" y 9 el "Altamente agradable". Las gráficas obtenidas, se presentan en las figuras 2, 3 y 4.

**Figura 2.** Resultados de la evaluación sensorial del primer grupo de prototipos

**Figura 3.** Resultados de la evaluación sensorial del segundo grupo de prototipos



**Figura 4.** Resultados de la evaluación sensorial del tercer grupo de prototipos



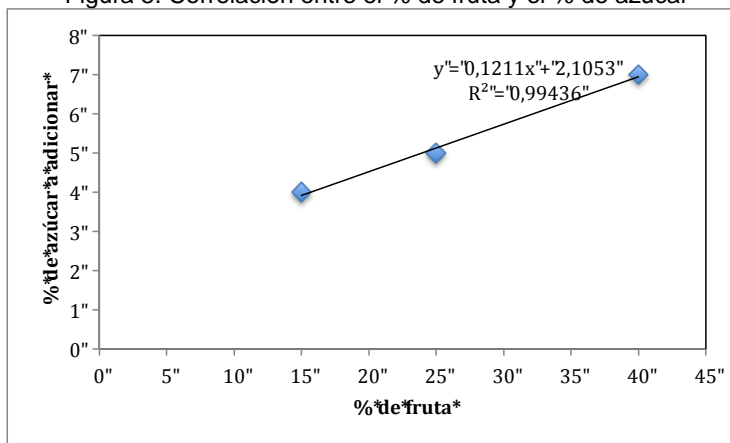
A partir de los gráficos anteriores, se estableció que los refrescos más agradables fueron el 198 para el grupo de prototipos con 40 % de fruta (Figura 2), el 771 para el grupo con 25 % de fruta (Figura 3) y el 854 para el grupo de los prototipos con 15% de fruta (Figura 4). En la Tabla 2, se presenta un resumen de las características de los 3 prototipos mencionados anteriormente.

**Tabla 2.** Características de los prototipos mejor evaluados

Prototipo	%Fruta	%Azúcar
198\$	40\$	7\$
771\$	25\$	5\$
854\$	15\$	4\$

Obtenidos estos datos, se buscó la relación existente entre el contenido de fruta y la cantidad de azúcar adicionada, utilizando el programa Excel. En la figura 5, se presenta la ecuación de la recta y el coeficiente de correlación R obtenido.

Figura 5. Correlación entre el % de fruta y el % de azúcar

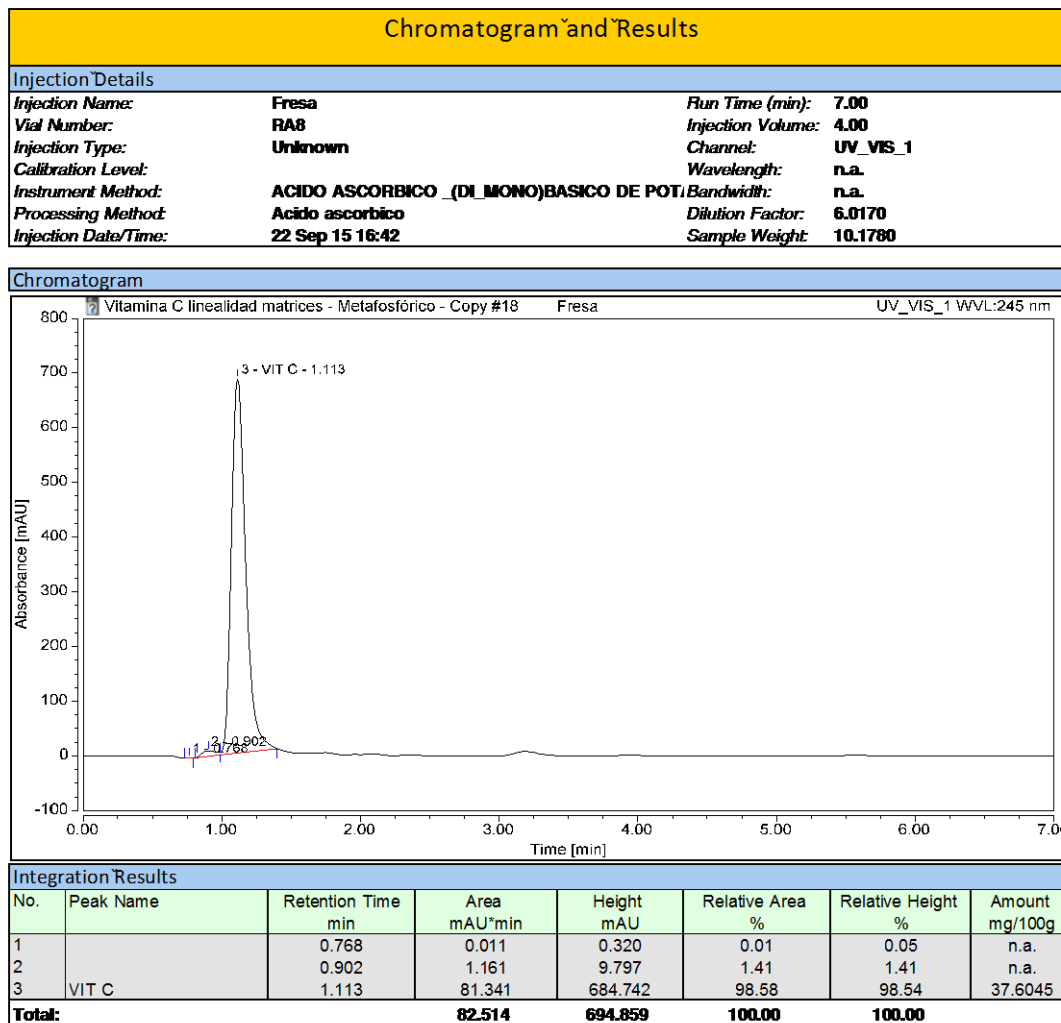


La correlación encontrada, permite establecer que existe una relación lineal entre el contenido de fruta presente en los refrescos y la contenido de azúcar a adicionar en los mismos.

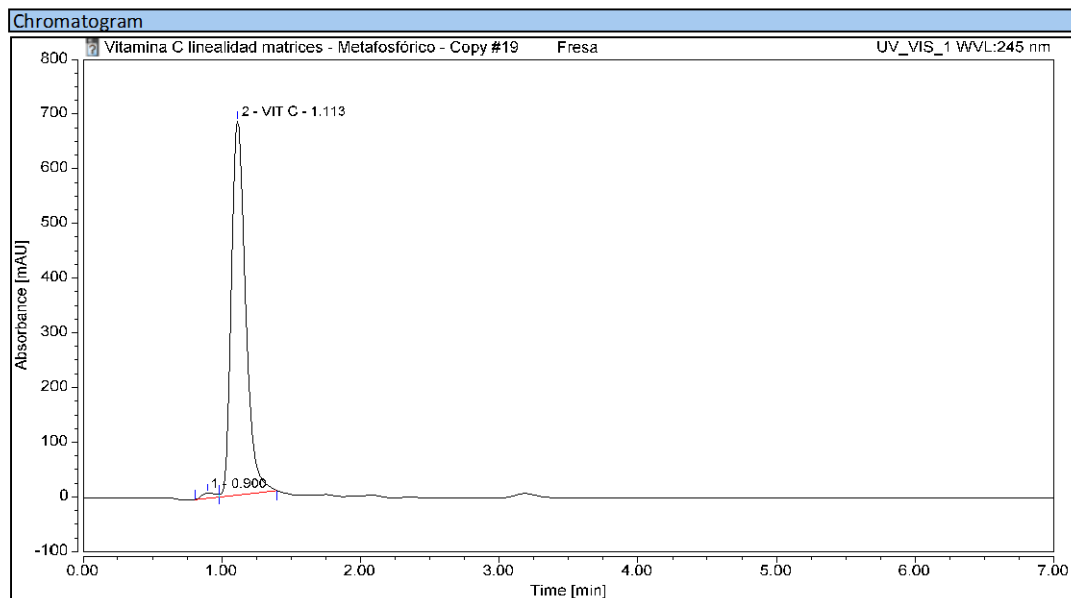
## Anexo E. Cromatogramas de la cuantificación de vitamina C en la cuatro frutas pequeñas y en el refresco desarrollado

Instrument:ULTIMATE3000\_1 Sequence:Vitamina C linealidad matrices - Metafosfórico - Copy

Page 23 of 48

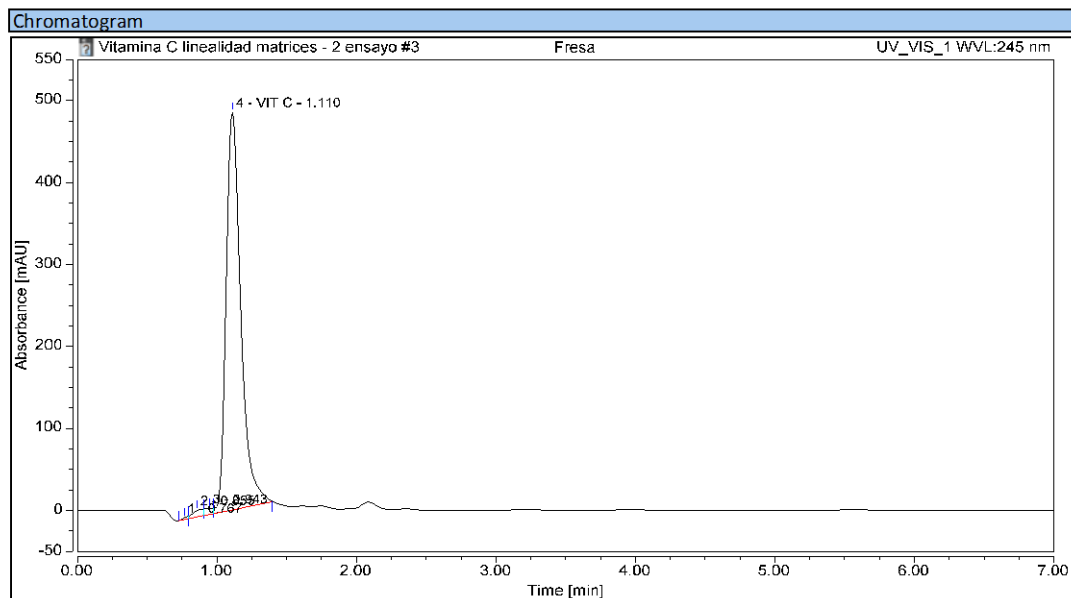


Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Fresa	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RA8	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	6.0170
Injection Date/Time:	22 Sep 15 16:50	Sample Weight:	10.1780



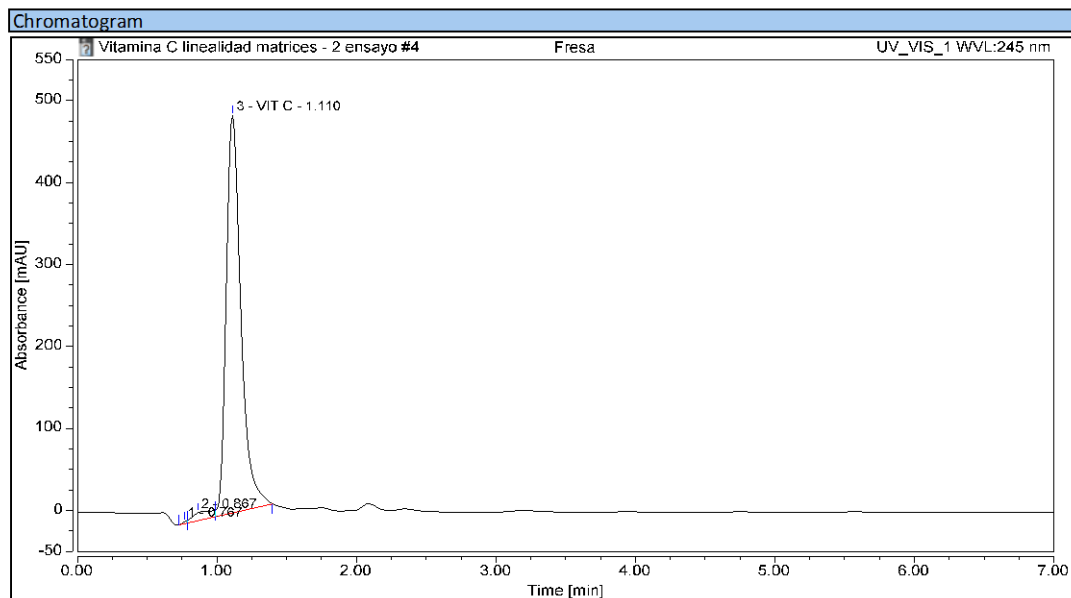
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.900	1.056	9.148	1.28	1.32	n.a.
2	VIT C	1.113	81.213	684.117	98.72	98.68	37.5440
<b>Total:</b>			<b>82.269</b>	<b>693.265</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Fresa	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RC2	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.8821
Injection Date/Time:	23 Sep 15 12:13	Sample Weight:	9.6530

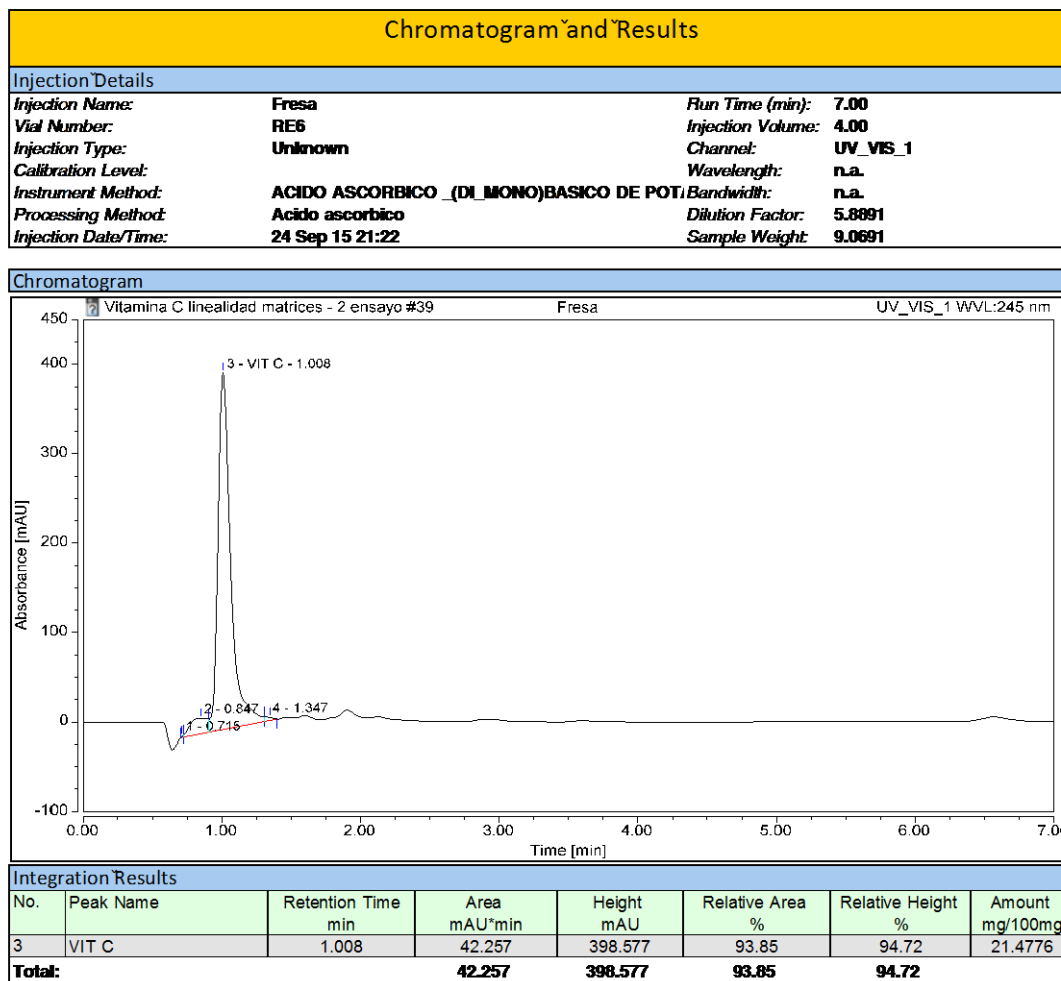


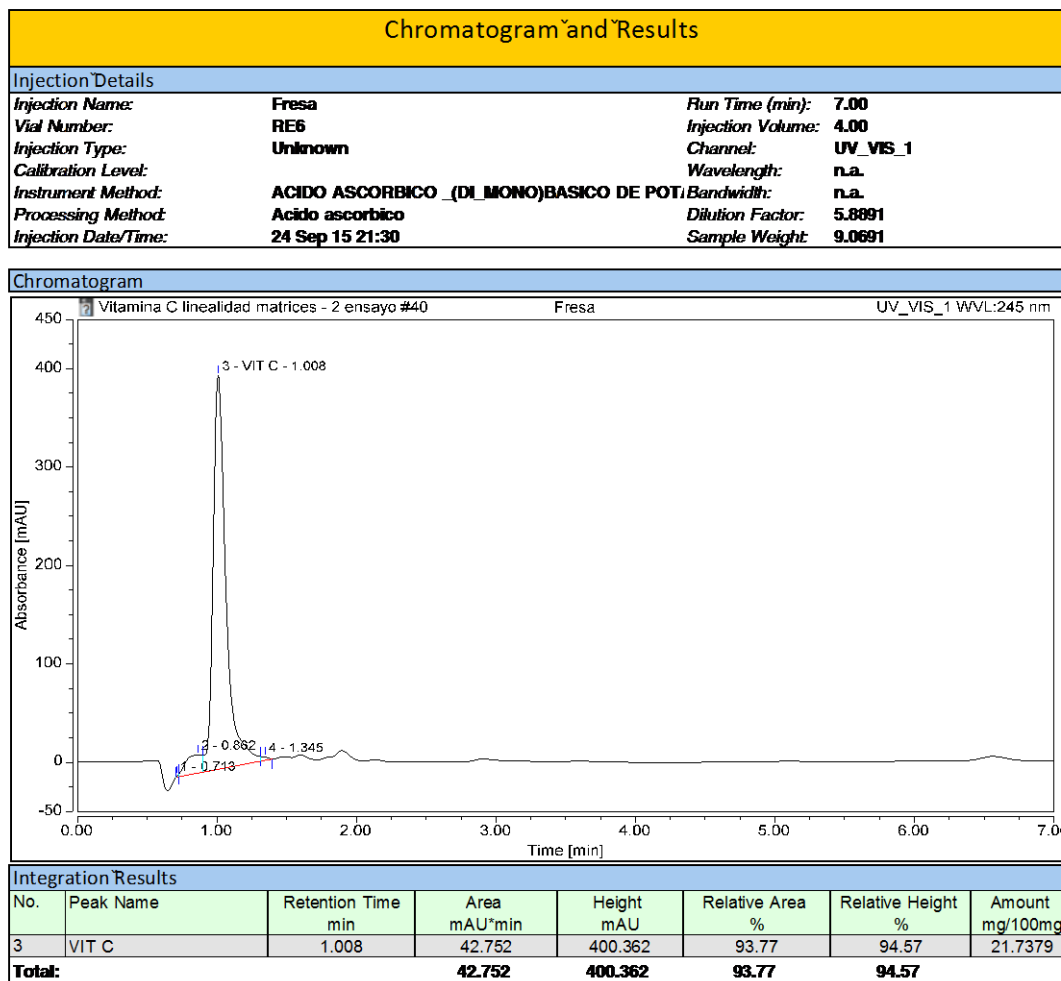
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.767	0.126	2.145	0.21	0.43	n.a.
2		0.855	0.709	7.965	1.17	1.59	n.a.
3		0.943	0.521	7.239	0.86	1.44	n.a.
4	VIT C	1.110	59.032	485.142	97.76	96.55	27.8738
<b>Total:</b>			<b>60.387</b>	<b>502.490</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Fresa	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RC2	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.8821
Injection Date/Time:	23 Sep 15 12:20	Sample Weight:	9.6530

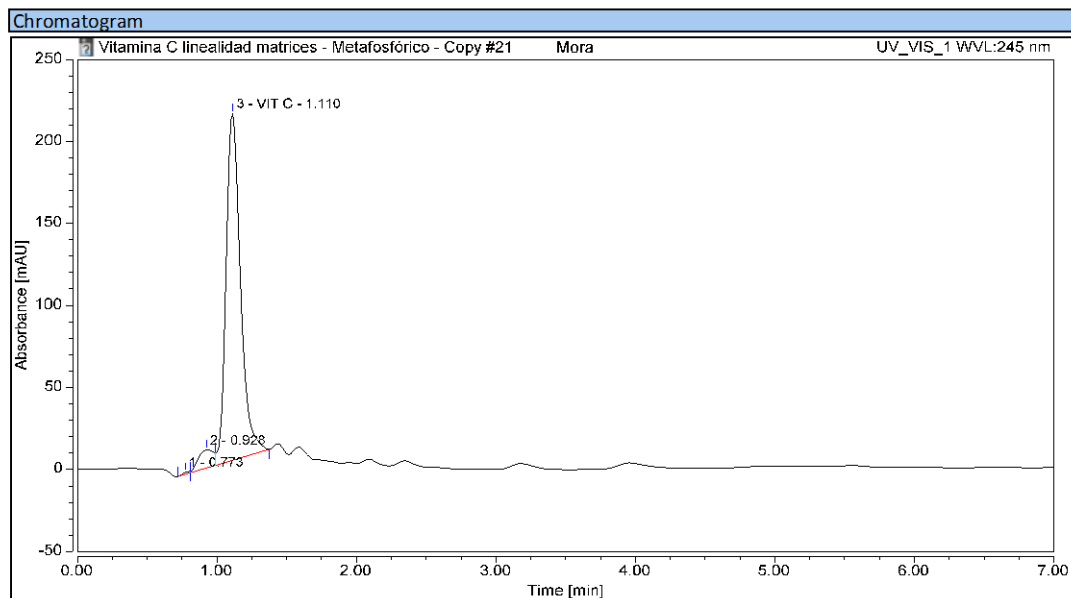


Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.767	0.108	2.314	0.18	0.47	n.a.
2		0.867	1.547	9.657	2.54	1.94	n.a.
3	VIT C	1.110	59.243	484.596	97.28	97.59	27.9768
<b>Total:</b>			<b>60.899</b>	<b>496.568</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	



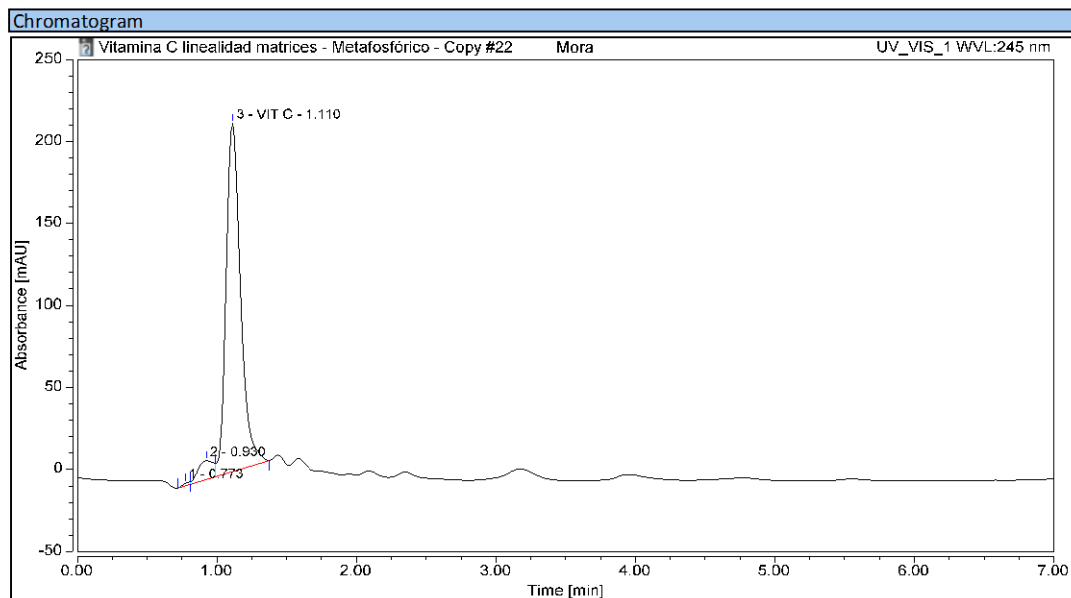


Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Mora	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RB1	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.9110
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:06	Sample Weight:	9.1361



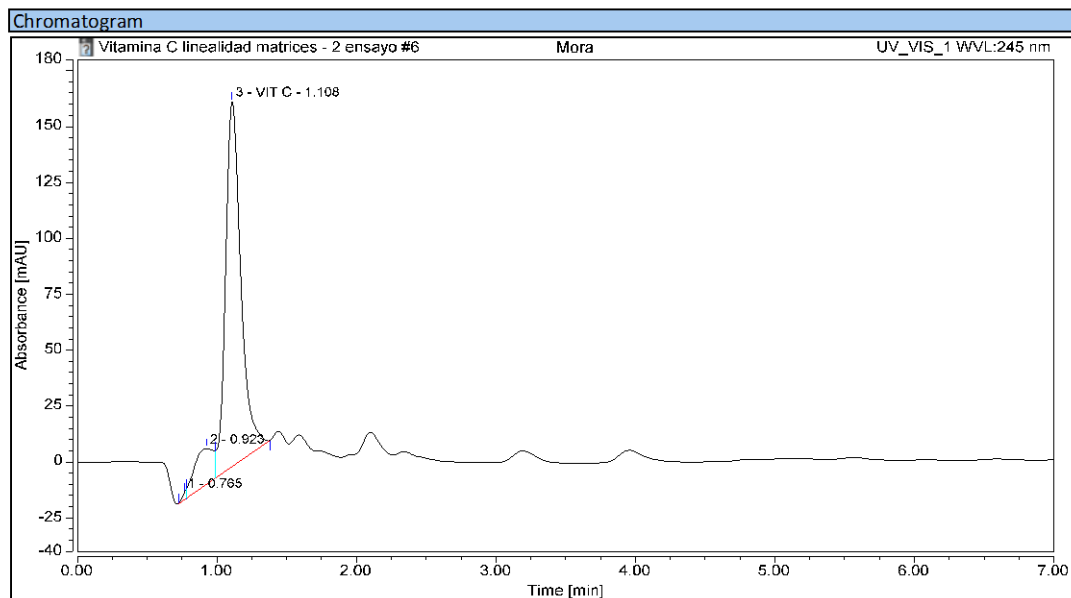
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.773	0.069	1.214	0.26	0.54	n.a.
2		0.928	1.415	10.895	5.28	4.87	n.a.
3	VIT C	1.110	25.322	211.601	94.46	94.59	12.1288
<b>Total:</b>			<b>26.806</b>	<b>223.710</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Mora	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RB1	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.9110
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:13	Sample Weight:	9.1361

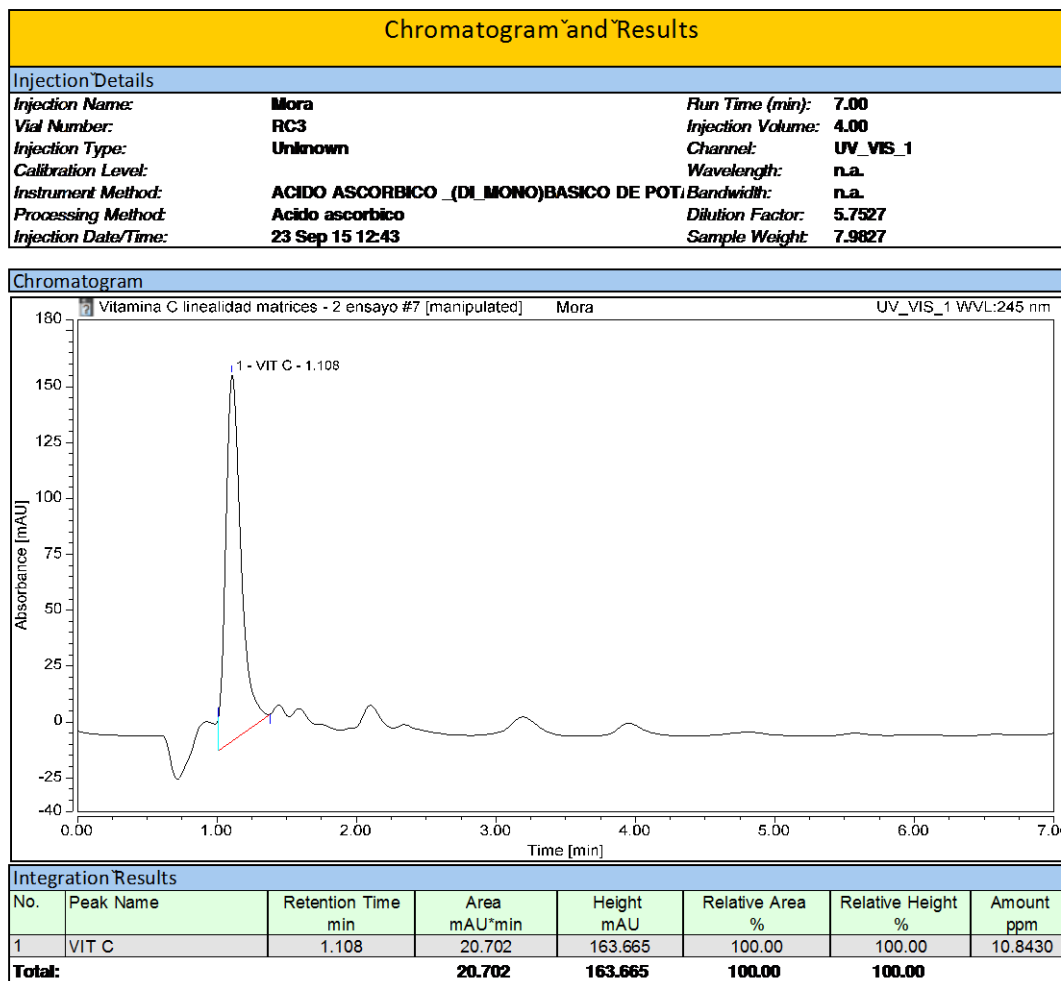


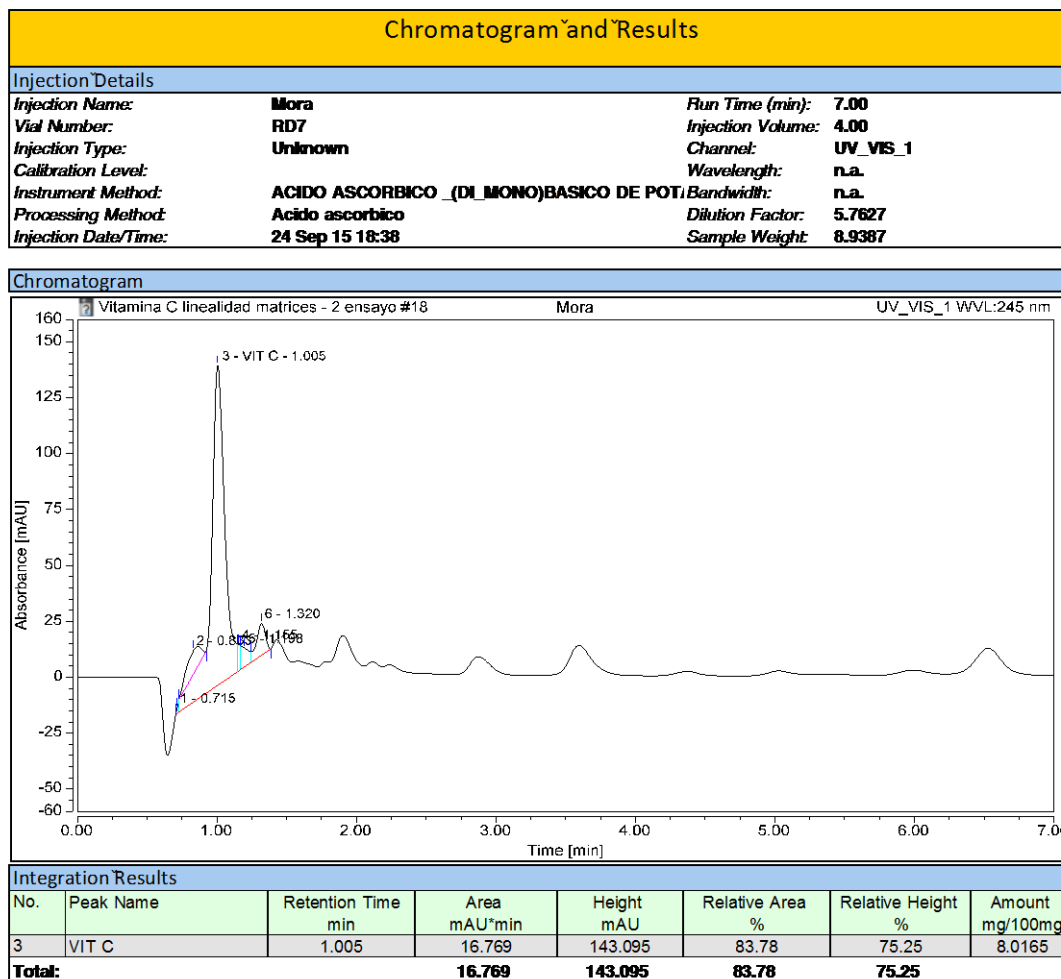
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.773	0.090	1.504	0.33	0.67	n.a.
2		0.930	1.505	11.237	5.54	4.99	n.a.
3	VIT C	1.110	25.547	212.240	94.12	94.34	12.2453
<b>Total:</b>			<b>27.142</b>	<b>224.980</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

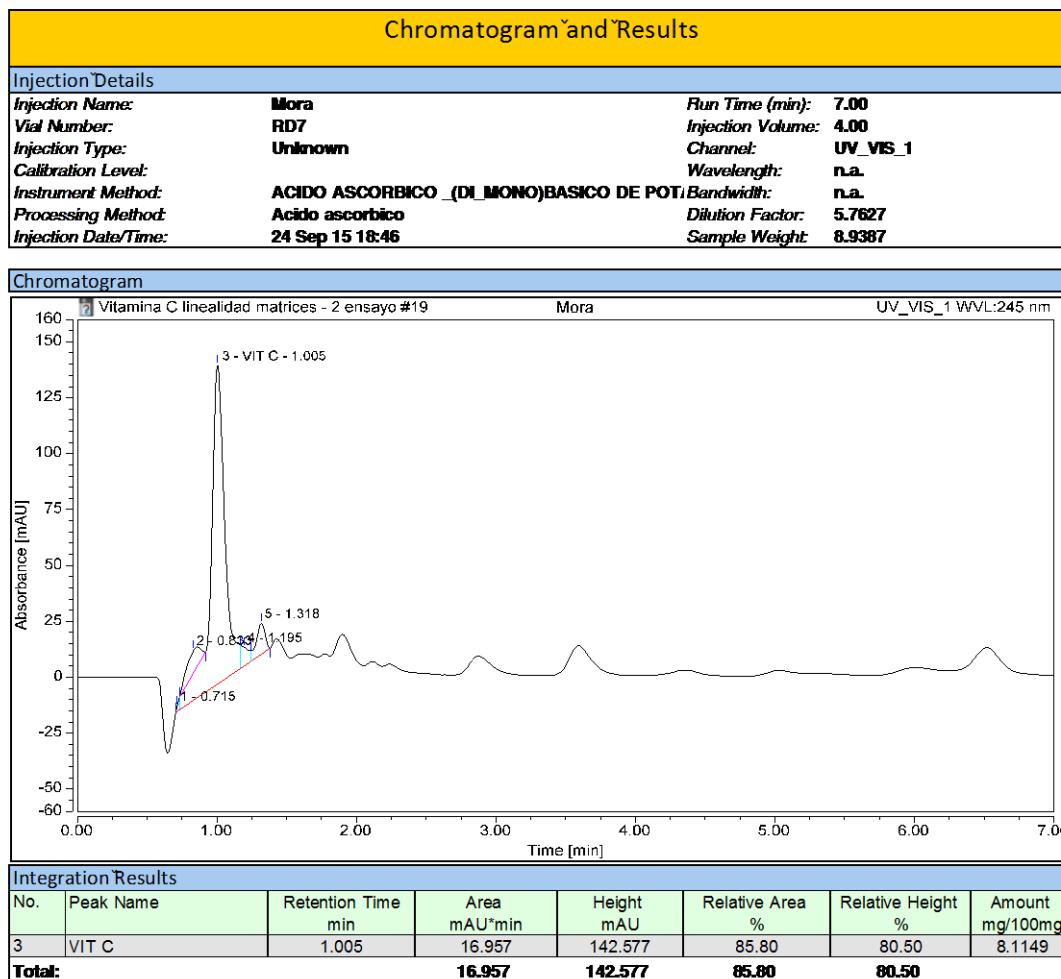
Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Mora	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RCS	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.7527
Injection Date/Time:	23 Sep 15 12:35	Sample Weight:	7.9827



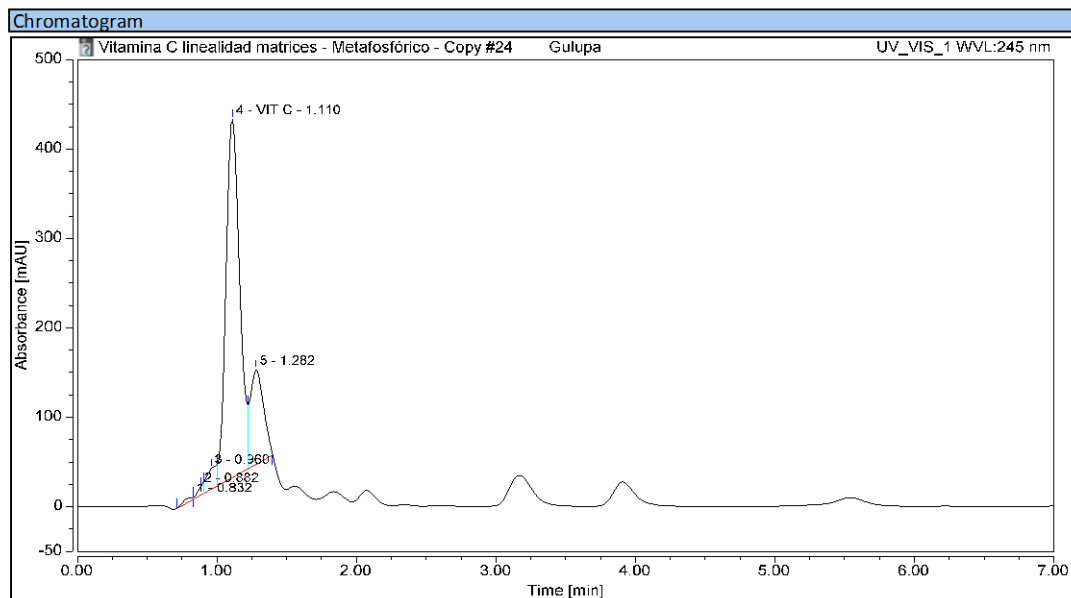
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.765	0.098	2.996	0.42	1.64	n.a.
2		0.923	2.638	16.040	11.19	8.81	n.a.
3	VIT C	1.108	20.835	163.119	88.39	89.55	10.9199
<b>Total:</b>			<b>23.571</b>	<b>182.155</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	





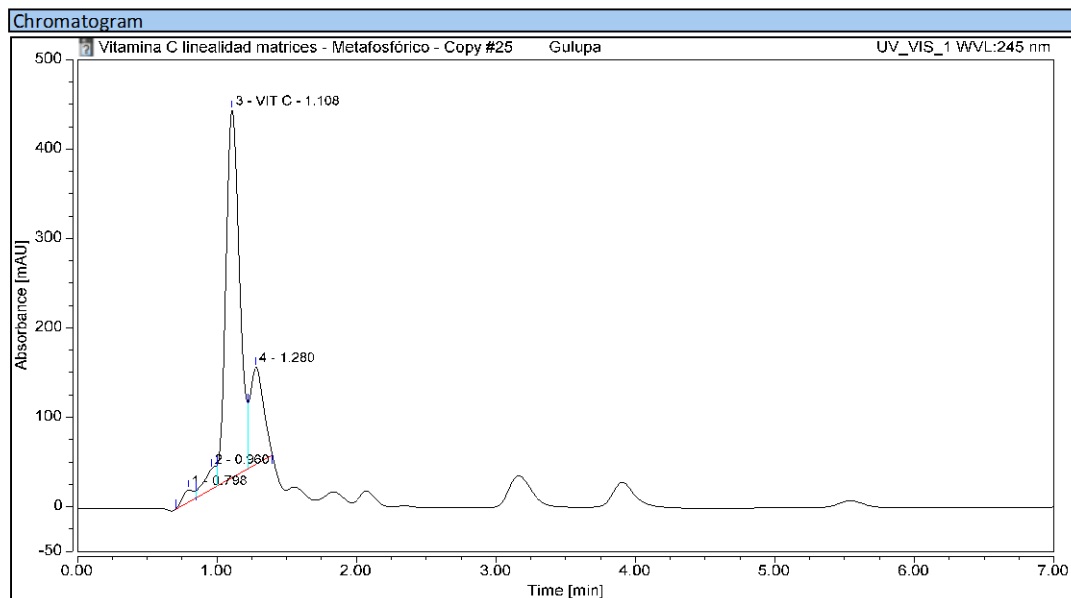


Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	Gulupa	Run Time (min): 7.00
Vial Number:	RB2	Injection Volume: 4.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth: n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor: 6.0420
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:28	Sample Weight: 10.4294



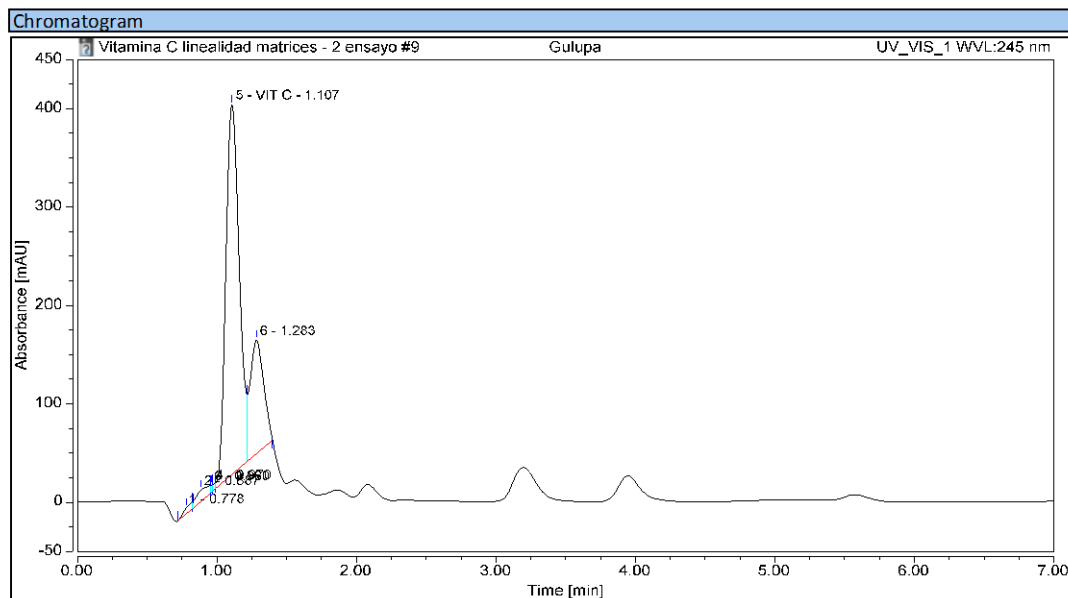
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.832	0.354	2.289	0.59	0.42	n.a.
2		0.882	0.499	9.336	0.83	1.72	n.a.
3		0.960	1.984	23.303	3.31	4.30	n.a.
4	VIT C	1.110	45.356	400.659	75.70	74.01	20.1550
5		1.282	11.722	105.781	19.56	19.54	n.a.
<b>Total:</b>			<b>59.915</b>	<b>541.368</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	Gulupa	Run Time (min): 7.00
Vial Number:	RB2	Injection Volume: 4.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth: n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor: 6.0420
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:35	Sample Weight: 10.4294



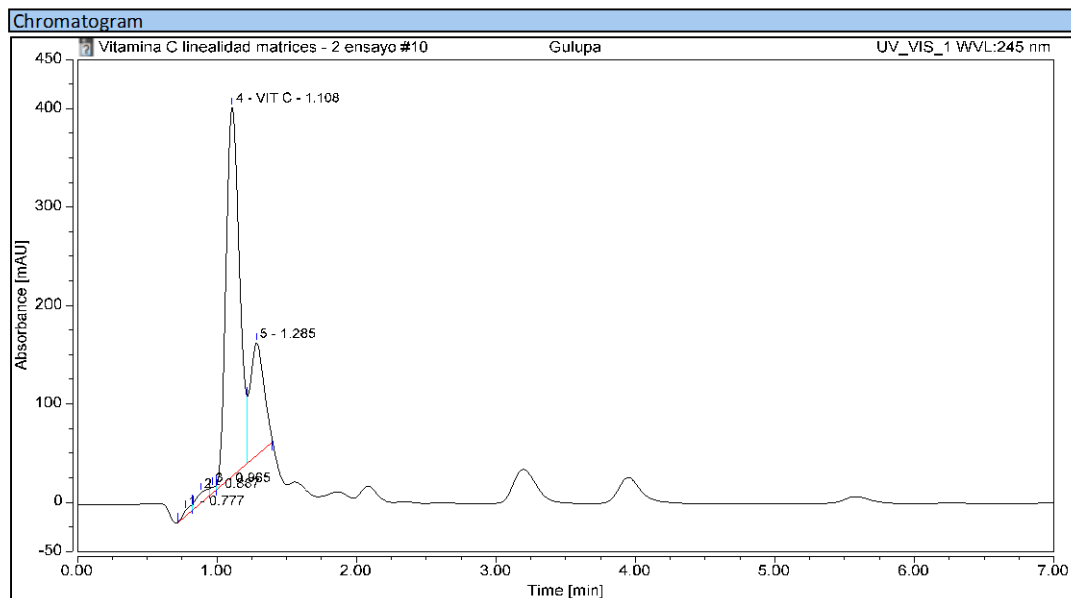
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.798	1.267	13.443	2.04	2.42	n.a.
2		0.960	2.494	22.835	4.02	4.11	n.a.
3	VIT C	1.108	46.299	410.680	74.54	73.94	20.5926
4		1.280	12.051	108.473	19.40	19.53	n.a.
<b>Total:</b>			<b>62.110</b>	<b>555.432</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	Gulupa	Run Time (min): 7.00
Vial Number:	RC4	Injection Volume: 4.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth: n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor: 5.9116
Injection Date/Time:	23 Sep 15 12:58	Sample Weight: 9.7376

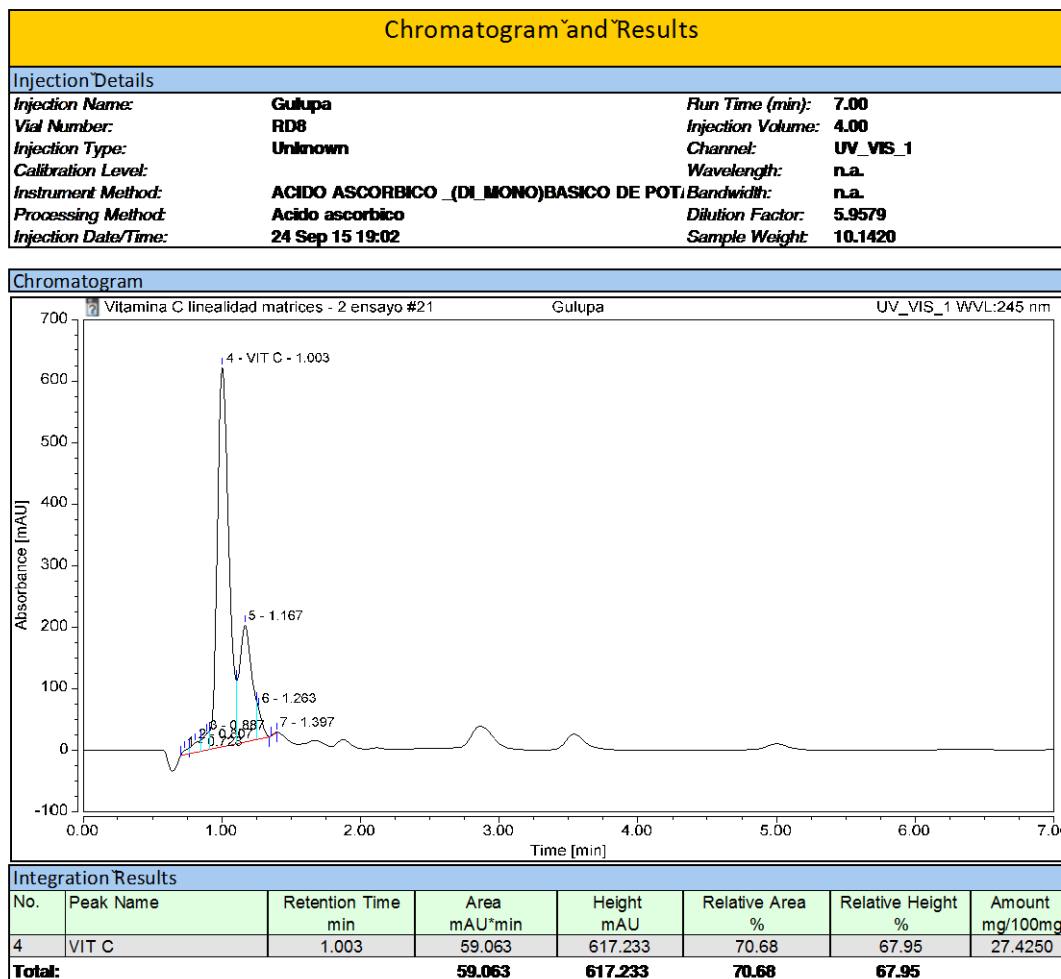


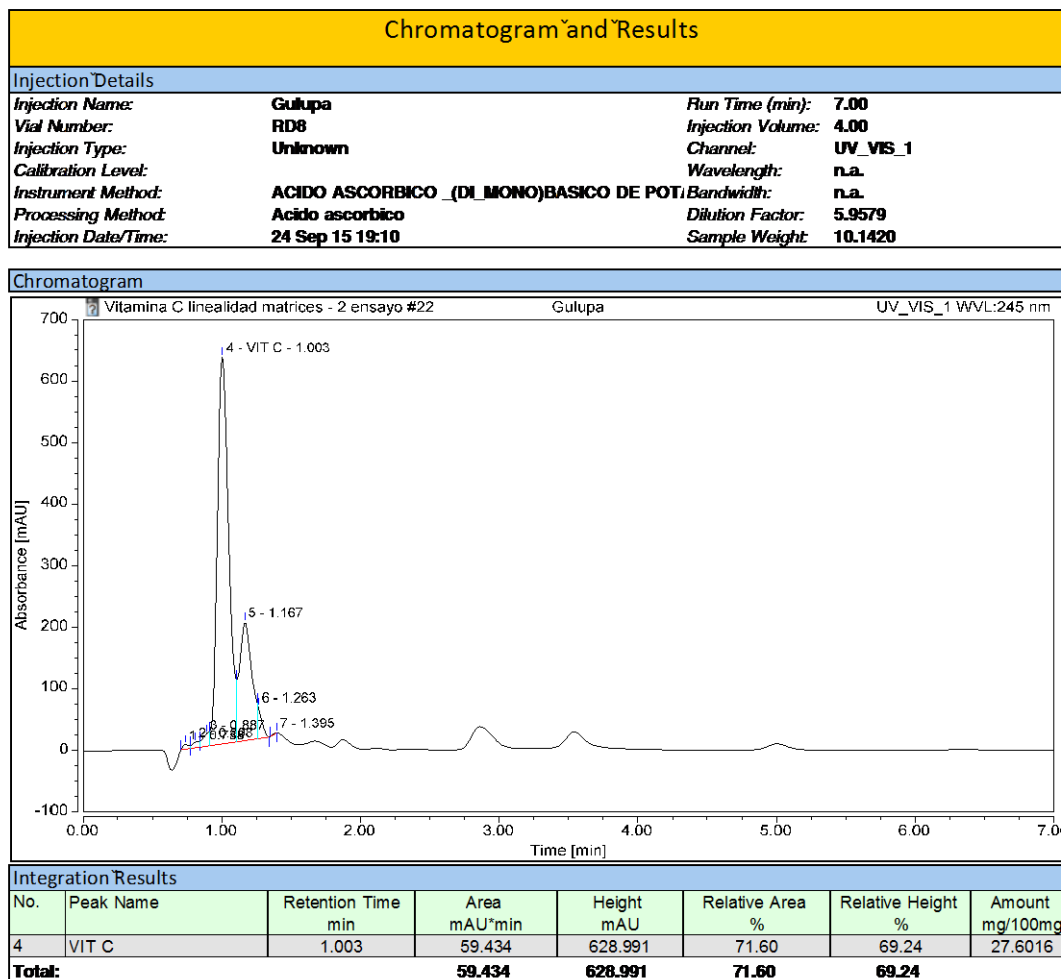
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.778	0.424	5.829	0.75	1.12	n.a.
2		0.887	1.223	11.122	2.16	2.13	n.a.
3		0.960	0.085	7.271	0.15	1.39	n.a.
4		0.970	0.145	6.634	0.26	1.27	n.a.
5	VIT C	1.107	41.826	376.177	73.99	72.00	19.4048
6		1.283	12.828	115.411	22.69	22.09	n.a.
<b>Total:</b>			<b>56.531</b>	<b>522.444</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	Gulupa	Run Time (min): 7.00
Vial Number:	RC4	Injection Volume: 4.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth: n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor: 5.9116
Injection Date/Time:	23 Sep 15 13:05	Sample Weight: 9.7376

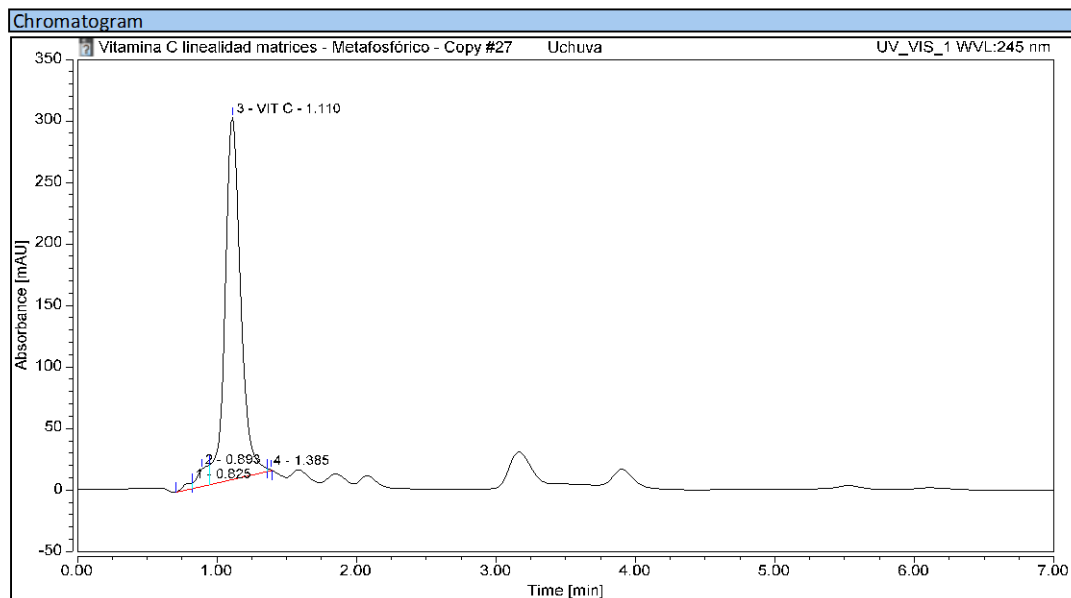


Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.777	0.433	5.682	0.77	1.11	n.a.
2		0.887	1.097	10.431	1.95	2.04	n.a.
3		0.965	0.256	6.077	0.46	1.19	n.a.
4	VIT C	1.108	41.677	375.122	74.01	73.30	19.3321
5		1.285	12.849	114.461	22.82	22.37	n.a.
<b>Total:</b>			<b>56.312</b>	<b>511.773</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	



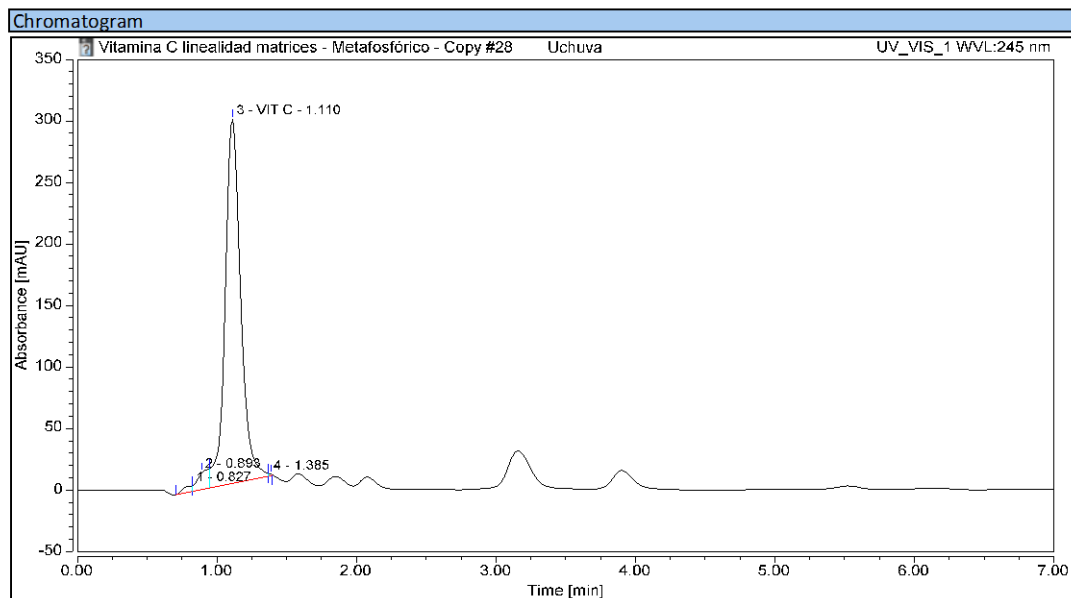


Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Uchuva	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RBS	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	6.0544
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:51	Sample Weight:	10.5573



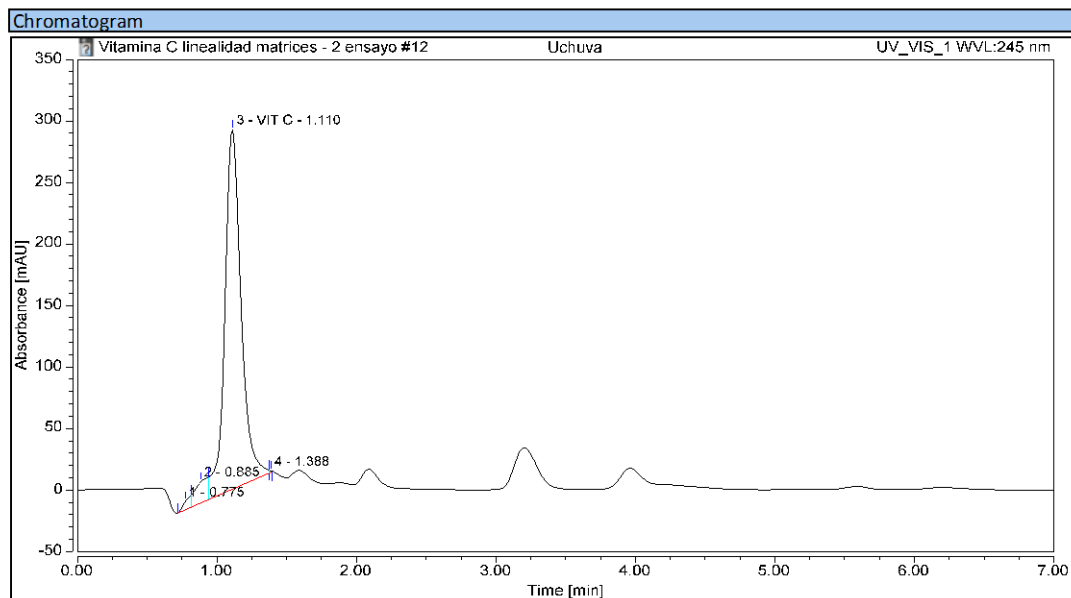
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.825	0.385	4.542	0.97	1.45	n.a.
2		0.893	1.404	14.016	3.52	4.47	n.a.
3	VIT C	1.110	38.036	294.323	95.41	93.78	16.5895
4		1.385	0.043	0.962	0.11	0.31	n.a.
<b>Total:</b>			<b>39.867</b>	<b>313.844</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	Uchuva	Run Time (min): 7.00
Vial Number:	RBS	Injection Volume: 4.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth: n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor: 6.0544
Injection Date/Time:	22 Sep 15 17:58	Sample Weight: 10.5573



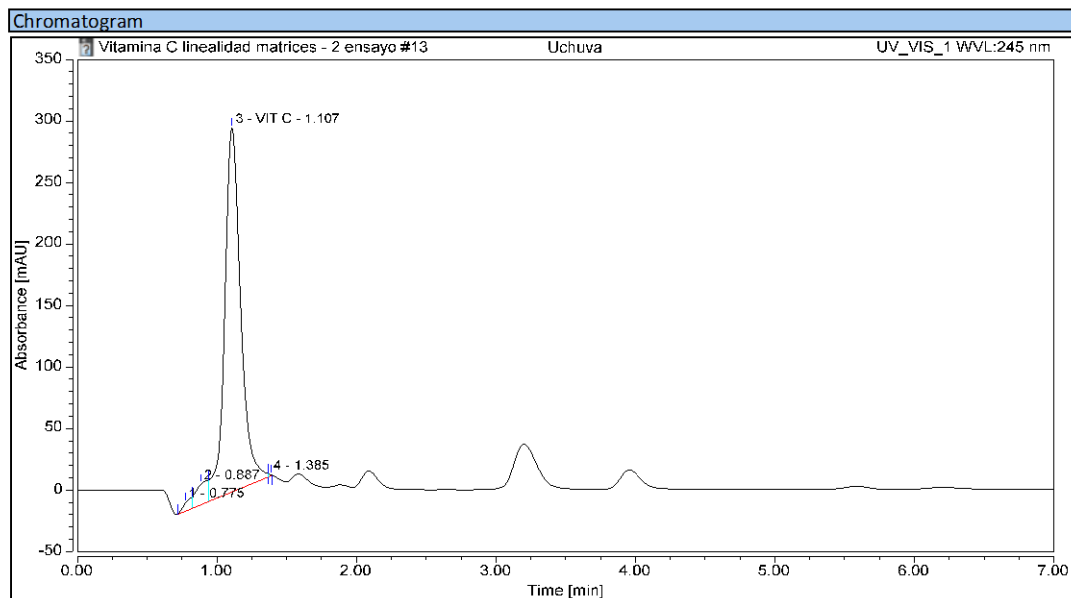
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.827	0.385	4.369	0.96	1.39	n.a.
2		0.893	1.365	13.757	3.41	4.36	n.a.
3	VIT C	1.110	38.229	295.971	95.53	93.89	16.6782
4		1.385	0.040	1.144	0.10	0.36	n.a.
<b>Total:</b>			<b>40.019</b>	<b>315.241</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Uchuva	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RC5	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.9038
Injection Date/Time:	23 Sep 15 13:21	Sample Weight:	10.0142

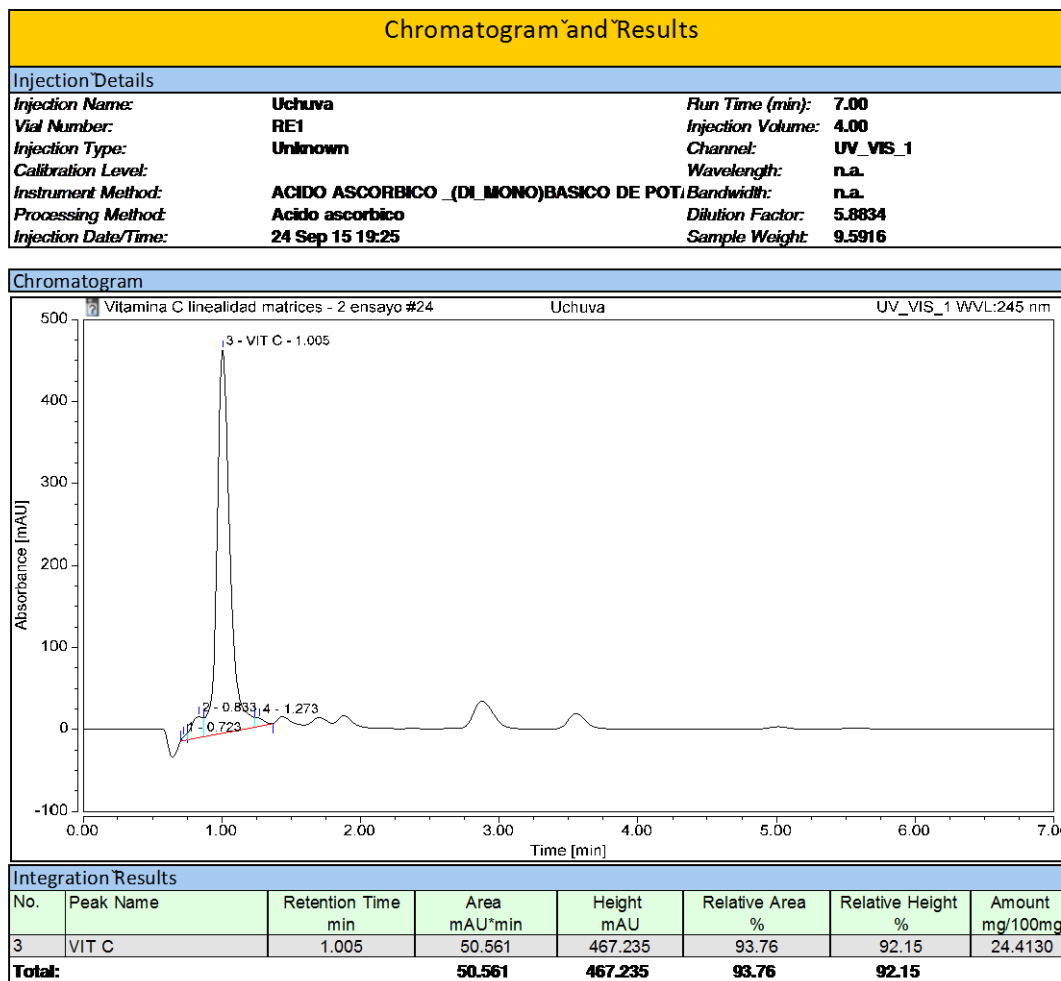


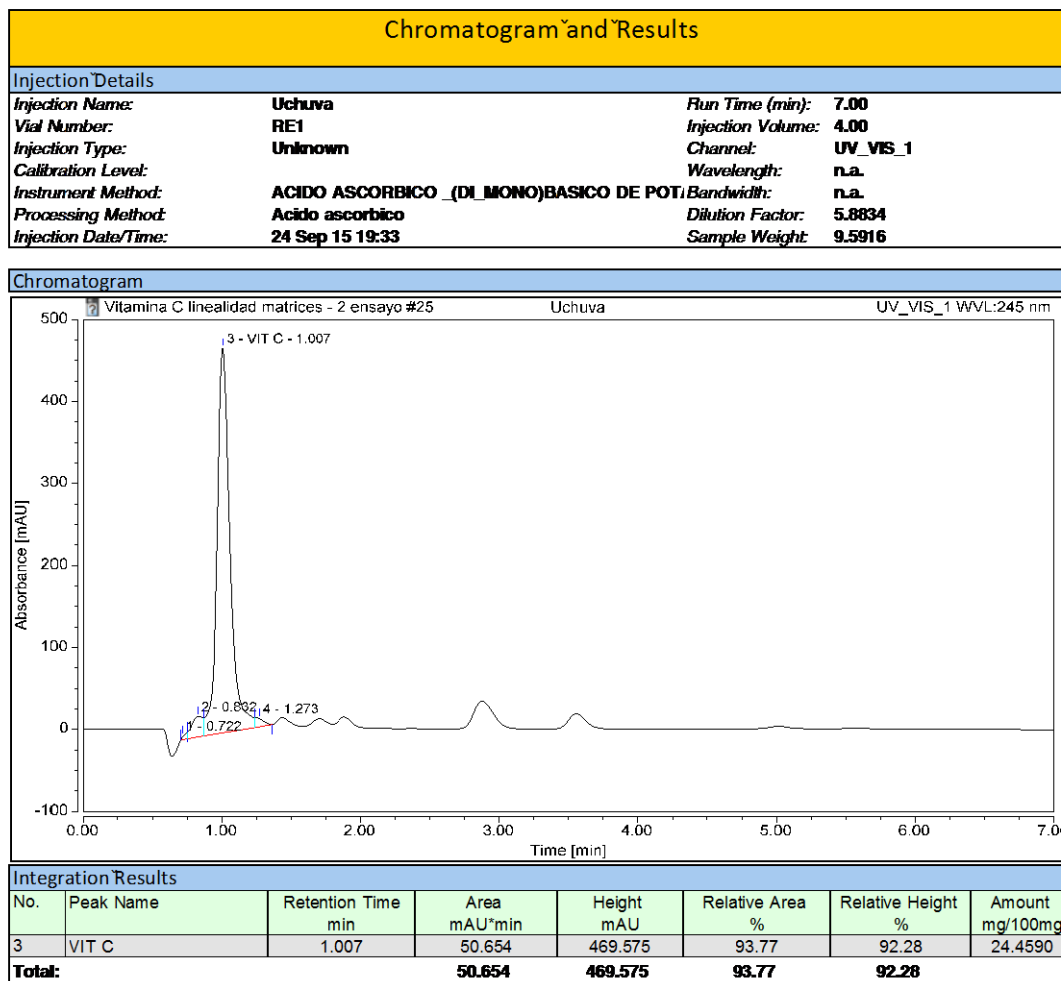
Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.775	0.526	6.869	1.25	2.16	n.a.
2		0.885	1.919	17.144	4.57	5.40	n.a.
3	VIT C	1.110	39.495	292.321	94.10	92.12	17.7432
4		1.388	0.030	0.978	0.07	0.31	n.a.
<b>Total:</b>			<b>41.969</b>	<b>317.313</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Uchuva	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RC5	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	5.9038
Injection Date/Time:	23 Sep 15 13:28	Sample Weight:	10.0142

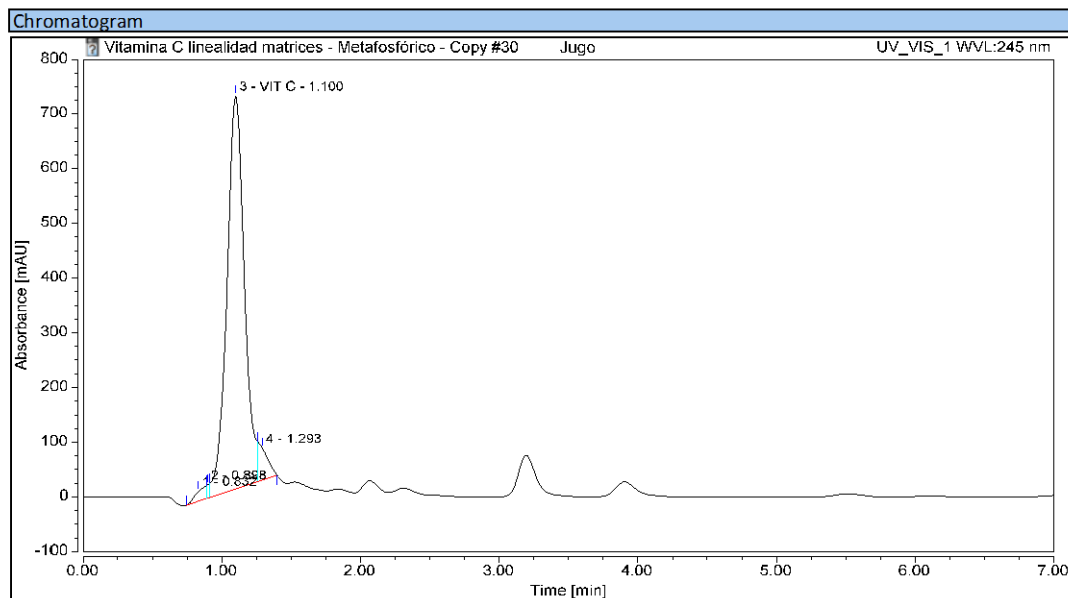


Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount ppm
1		0.775	0.537	6.685	1.29	2.09	n.a.
2		0.887	1.805	16.639	4.32	5.19	n.a.
3	VIT C	1.107	39.355	296.068	94.30	92.37	17.6774
4		1.385	0.038	1.145	0.09	0.36	n.a.
<b>Total:</b>			<b>41.735</b>	<b>320.536</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	



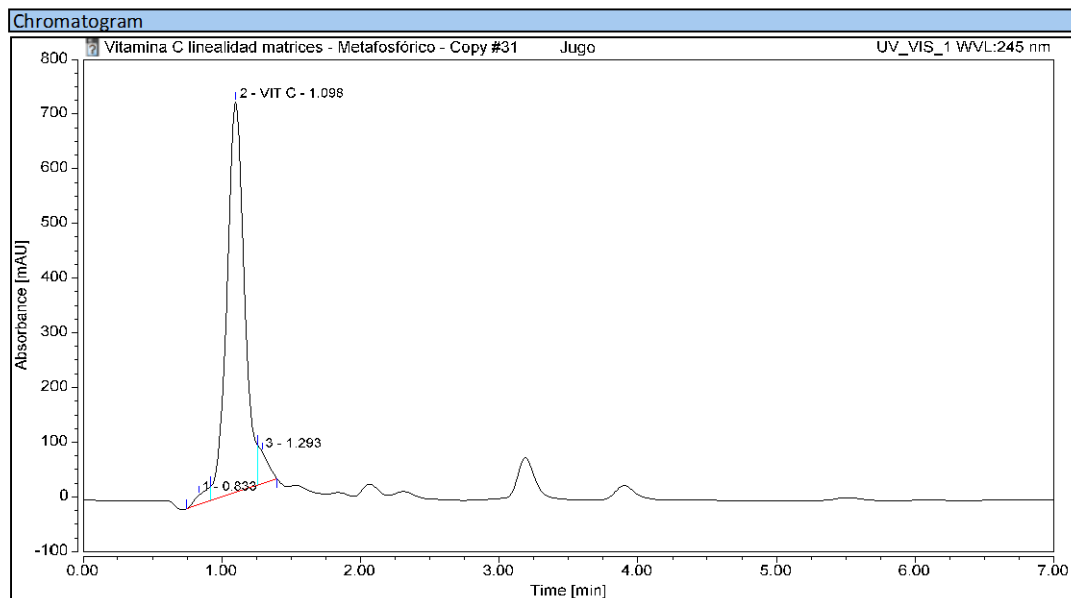


Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Jugo	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RB4	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	0.0000
Injection Date/Time:	22 Sep 15 18:13	Sample Weight:	1.0000



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.832	1.921	17.967	1.71	2.19	n.a.
2		0.898	0.584	24.775	0.52	3.02	n.a.
3	VIT C	1.100	104.360	719.355	93.12	87.71	0.0000
4		1.293	5.200	58.094	4.64	7.08	n.a.
<b>Total:</b>			<b>112.066</b>	<b>820.191</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

Chromatogram and Results			
Injection Details			
Injection Name:	Jugo	Run Time (min):	7.00
Vial Number:	RB4	Injection Volume:	4.00
Injection Type:	Unknown	Channel:	UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength:	n.a.
Instrument Method:	ACIDO ASCORBICO (DI MONO)BASICO DE POT.	Bandwidth:	n.a.
Processing Method:	Acido ascorbico	Dilution Factor:	0.0000
Injection Date/Time:	22 Sep 15 18:21	Sample Weight:	1.0000



Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount mg/100g
1		0.833	2.565	16.760	2.31	2.13	n.a.
2	VIT C	1.098	103.402	713.650	93.18	90.59	0.0000
3		1.293	4.997	57.347	4.50	7.28	n.a.
<b>Total:</b>			<b>110.964</b>	<b>787.757</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	

