

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos para optar por el grado de
Licenciatura en Ingeniería de Alimentos:

**“Desarrollo de una bebida funcional a partir de mora, linaza y soya:
evaluación de su aceptación sensorial y perfil de compuestos bioactivos”**

Elaborada por
Ana Irene Bonilla Soto
Carné: B01038

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
San José, Costa Rica
Noviembre, 2018

TRIBUNAL EXAMINADOR

Proyecto de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Elaborado por:

Ana Irene Bonilla Soto

Aprobado por:

Dra. Carolina Rojas Garbanzo
Presidenta del Tribunal

Dra. Ana Mercedes Pérez Carvajal
Directora del Proyecto

Dra. Jessie Usaga Barrientos
Asesora del Proyecto

Lic. Carolina Cortés Herrera
Asesora del Proyecto

Lic. Pilar Fallas Rodríguez
Profesora Designada

DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

El presente documento posee confidencialidad parcial en cuanto a la formulación de los prototipos de la bebida, debido a la posibilidad de que en un futuro esta sea transferida a alguna empresa interesada en comercializar el producto.

Esto quiere decir que en este trabajo no se incluyen detalles relacionados con el porcentaje de cada uno de los ingredientes de la formulación. Por esta razón, los datos relacionados con las formulaciones se publicarán con variables codificadas.

DEDICATORIA

A mi mamá, gracias por ser, estar, apoyarme y acompañarme en cada etapa de mi vida.

Gracias por hacerme ser quien soy.

“No puedes esperar construir un mundo mejor sin mejorar a las personas. Para eso, cada uno de nosotros debe trabajar en su propia mejora, y al mismo tiempo compartir una responsabilidad general con toda la humanidad, nuestro deber particular es ayudar a aquellos a quienes creemos que puede ser de mayor utilidad.”

Marie Curie

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia por estar siempre ahí conmigo, por creer en mí en todo momento, muchas veces más que yo misma, por apoyarme y acompañarme en este proceso de formación y crecimiento tanto a nivel académico como personal.

A mi mamá por ser el pilar fundamental en mi vida, mi punto de apoyo, mi compañía incondicional en mis largas noches de estudio, de hacer reportes, trabajos, presentaciones, por todas esas noches que no dormía por estar ahí para mí. Gracias por siempre tener un café caliente para mí justo a la hora que más lo necesitaba. Gracias por escucharme siempre, por poner atención a todas mis ocurrencias, a mis explicaciones en términos de TA que, aunque muchas veces no me entendiera del todo siempre quería saber más y aprender de lo que tanto me apasiona. También gracias por acompañarme en todo momento y aguantarme durante todo este proceso, por estar en mis momentos felices, los no tan felices y en los que ni yo misma me aguantaba. Gracias por ser un ejemplo como persona, como mujer, por su fortaleza, por no rendirse ante nada y nunca tener un no como respuesta, por estar siempre dispuesta a dar todo de sí, por preocuparse por mí más que por ella misma.

A mis hermanos, Adrián y Sebas, por ser como son, porque cada uno con su personalidad única, particular y diferente a mí en muchos sentidos, aportan mucho a mi vida, de ustedes he aprendido muchas cosas que me han hecho crecer. Gracias por enseñarme y hacerme ver las cosas desde su perspectiva.

A mi papá gracias por su apoyo en mi formación académica y personal. Por hacerme ver la importancia de seguir formándose a nivel profesional sin importar la edad ni las situaciones adversas.

A tía Angélica, la gemela, gracias por ser ese doble perfecto de mi mamá, por estar ahí para nosotros siempre, mucho de lo que soy también se lo debo a ella. Gracias por ser el apoyo en todos esos momentos difíciles que hemos pasado y en los no tan difíciles, por compartir tantos momentos alegres y otros no tantos. Gracias por transmitirme esa pasión por la cocina y por heredarme una que otra receta que siempre llevaré conmigo.

A tía Ana, gracias también por su apoyo siempre, por ayudarnos en todo momento y aportar a mi formación como persona y ayudarme a ser mejor. Gracias porque junto mami y tía Angélica (las gemelas) son el trío perfecto, las tres han sido un gran ejemplo en mi vida como personas y como mujeres.

A mi prima Monse, gracias por todo, porque a pesar de ser tan diferentes nos entendemos tan bien. Gracias por escucharme siempre y apoyarme. Por ser mi mejor amiga, por todos los momentos que compartimos desde la escuela, el cole y hasta la U. Por compartir conmigo la pasión por TA y por ser un ejemplo para mí.

A mis primos (Andrés, Rubén, Felipe, Esteban, Julián) por estar ahí y hacerme pasar tantos momentos divertidos y felices, cada uno con su locura aporta mucho a mi vida. Gracias por su apoyo siempre.

A tío Javier gracias porque junto con tía Angélica han sido un apoyo fundamental, por tantas clases particulares gratis en todos los cursos de Matemáticas desde el cole hasta la U. Por su ejemplo como profesional y persona.

A mis abuelos, Tata y Nevio, a mis tíos (Karla, Kattia, Dago Jorge) gracias siempre.

A mis amigos, mis BDM (Carlos, Vane, Val, Luci, Johan, Óscar, Sebas), mis Galactomananas (Ana, Vale, Glori, Nati, Mari, Xime, Yock), por ser de las mejores cosas que me dejó la Universidad y la carrera. Gracias por su compañía a lo largo de toda la carrera que hizo más llevadero el proceso, porque juntos compartimos muchos momentos de estrés, de palmadas estudiando y haciendo reportes, pero sobre todo muchos momentos de risas. Gracias por su amistad y porque cada uno ha sido un ejemplo para mí a nivel académico y personal. Estoy orgullosa de poder decir que son mis amigos y colegas.

Quiero hacer una mención especial a mis compañeros y amigos en la competencia DSDC del IFT, Carlos, Vane, Johan, Óscar, Carla gracias por compartir esta experiencia tan increíble conmigo. Carlita gracias por atreverse a compartir esta experiencia con nosotros y llegar a ser un aporte tan valioso en el proyecto y convertirse en una más de nosotros, gracias por brindarme su amistad y por ser la Nutri con espíritu más TA que conozco.

A Carlos por ser la mejor pareja de laboratorio que pude tener, por todas las asistencias que compartimos desde Analítica hasta el final de la carrera, gracias por ayudarme tanto en mi tesis, por las trabajadas en planta y en laboratorio, por ayudarme a encontrar soluciones en los momentos más caóticos y por hacerme reír siempre con sus chistes hasta en los momentos más estresantes.

Quiero agradecer a mi comité asesor, la profe Ana Mercedes, la profe Jessie y la profe Carolina. Gracias por su apoyo durante el desarrollo de todo el proyecto, por su guía y orientación que hicieron esto posible.

Gracias a la profe Ana Mercedes por la confianza depositada en mí desde un inicio como su asistente y con mi TFG, por ser un ejemplo de una profesional dedicada, íntegra y apasionada por su trabajo, por transmitirme un poco de su gran conocimiento y por ser la mejor primera jefa que pude tener. Gracias por ser la guía y orientación necesaria para que este proyecto saliera adelante.

A la profe Jessie por ser un ejemplo como profesional, por la pasión y dedicación con que hace su trabajo. Gracias por impulsarnos a participar en la competencia DSDC del IFT, una de las mejores experiencias en nuestra carrera, gracias por darnos su apoyo y aportarnos su experiencia y conocimiento durante todo el proceso, por creer y hacernos creer en nosotros.

A la profe Carolina gracias por hacer posible el desarrollo del método de polifenoles, por su apoyo durante todo el proceso, por transmitirme parte de su conocimiento en métodos de cromatografía, gracias por la disposición a ayudarme siempre y por hacer más fácil el trabajo en el laboratorio.

A la profe Carmen por su disposición a ayudarme en mi TFG, por el interés mostrado, por aceptar dirigir las sesiones de *focus group*, su aporte en la investigación fue muy valioso para poder aprovechar al máximo la técnica. Gracias por aportar ese conocimiento y experiencia y por tener siempre la mejor disposición.

A los profes de la Escuela de TA por su aporte a mi formación como profesional, al profe Eric por su aporte a nivel estadístico en mi TFG, a la profe Ileana Alfaro por su ayuda

en las etapas iniciales de mi TFG para la aplicación de la técnica QFD. Y a todo el personal de la Escuela, a Giova, a Luis, a Nela, a Tati, gracias.

Quiero agradecer a todo el personal del Laboratorio de Química del CITA por su valiosa ayuda y apoyo durante mi asistencia y en todo lo relacionado con mi TFG. A Graciela por sus aportes invaluable, especialmente para el método de polifenoles. A Eduardo por su disposición de ayudar siempre, por su actitud positiva, por su paciencia, por siempre tener una solución para mis imprevistos en el laboratorio, por contagiarme siempre esa alegría para trabajar y por las múltiples veces que me ayudó con todos los métodos que no conocía y que me enseñó a usar los equipos que no sabía cómo usar. A Randall, a Silvia y a Liz por su ayuda y por hacer tan agradable el trabajo en el laboratorio.

A Camacho por ayudarme siempre en planta, por quedarse acompañándonos y ayudándonos en planta sin importar la hora. Gracias por hacer más llevadero el trabajo en planta y por hacerme reír con sus ocurrencias.

Quiero agradecer de forma especial a Karla Salazar, gracias por todo su apoyo durante mis años de asistencia con la profe Ana Mercedes, por su ayuda en todo el proceso de desarrollo de mi TFG. Gracias por siempre tener la mejor disposición para ayudarme y por resolver muchos de los imprevistos que surgieron en el proceso.

Por último, quiero hacer una mención especial a doña Hannia León, directora ejecutiva de ILSI Mesoamérica, primero por su confianza en mí, por dejarme ser parte de este proyecto tan interesante y que tanto me gusta, por su apoyo financiero, profesional y personal durante todo el proceso, por siempre tener palabras positivas para mí, por hacer posible el desarrollo de mi TFG, por su disposición y apoyo durante todo el proyecto. También agradecer a Vanessa Marín, asistente de dirección ejecutiva de ILSI, por su apoyo y ayuda en el proyecto.

Gracias a todos los que de una u otra forma estuvieron involucrados en mi formación, siempre estaré agradecida por toda la ayuda que me brindaron.

Índice general

TRIBUNAL EXAMINADOR.....	i
DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
Índice de cuadros	xiii
Índice de figuras.....	xvi
Abreviaturas.....	xviii
Resumen.....	xix
1. Justificación.....	1
2. Objetivos.....	5
2.1 Objetivo general.....	5
2.2 Objetivos específicos	5
3. Marco teórico.....	6
3.1 Alimentos funcionales.....	6
3.2 Compuestos bioactivos de interés	9
3.2.1 Elagitaninos.....	10
3.2.1.1 Clasificación y estructura.....	10
3.2.1.2 Fuentes	11
3.2.1.3 Metabolismo en el organismo	15
3.2.1.4 Propiedades asociadas.....	17
3.2.2 Compuestos fitoestrogénicos	20
3.2.2.1 Isoflavonas	20
3.2.2.1.1 Clasificación y estructura.....	20
3.2.2.1.2 Fuentes	21
3.2.2.1.3 Metabolismo en el organismo	23
3.2.2.1.4 Propiedades asociadas.....	26
3.2.2.2 Lignanos.....	28
3.2.2.2.1 Clasificación y estructura.....	28
3.2.2.2.2 Fuentes	28
3.2.2.2.3 Metabolismo en el organismo	30
3.2.2.2.4 Propiedades asociadas.....	32

3.3 “Quality Function Deployment” (QFD).....	34
3.3.1 Implementación de la técnica QFD.....	35
3.3.2 Ventajas del QFD.....	41
3.3.3 Limitaciones del método QFD.....	43
3.4 <i>Focus group</i> o grupos focales como técnica de investigación cualitativa	43
3.4.1 Características de las sesiones de grupo focal y aplicación de la técnica	45
3.4.2 Ventajas de las sesiones de grupo focal	52
3.4.3 Limitaciones de los grupos focales	53
4. Objetivo 1: Determinación de las formulaciones de los prototipos para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.55	
4.1 Localización.....	55
4.2 Materias primas.....	55
4.3 Equipos.....	56
4.4 Metodología	57
4.4.1 Exploración preliminar de mercado y pruebas preliminares de prototipos de la bebida..	57
4.4.2 Determinación del contenido de compuestos cianogénicos en la linaza.....	57
4.4.3 Desarrollo de las formulaciones definitivas de los prototipos	58
4.4.3.1 Uso de la técnica QFD	58
4.4.3.2 Determinación de las formulaciones de los prototipos	59
4.4.5. Descripción de las etapas del flujo de proceso definidas para la de elaboración de los prototipos seleccionados	60
4.4.5.1 Procesamiento de las materias primas utilizadas	60
4.4.5.2 Elaboración de los prototipos seleccionados.....	61
4.5 Resultados y discusión.....	64
4.5.1 Exploración y pruebas preliminares de prototipos de la bebida.....	64
4.5.2 Determinación del contenido de compuestos cianogénicos en la linaza.....	66
4.5.3 Aplicación de la técnica QFD mediante entrevistas a potenciales consumidores	67
4.5.4 Determinación de las formulaciones de los prototipos	72
4.5.5 Formulaciones finales de los prototipos desarrollados.....	76
5. Objetivo 2: Evaluación del efecto de la intensidad del tratamiento térmico (pasteurización vs esterilización comercial) sobre el contenido de compuestos bioactivos de la mora (elagitaninos), soya (isoflavonas) y linaza (lignanos), así como las características fisicoquímicas de los prototipos de la bebida	77
5.1 Localización.....	77

10.1 Guía de preguntas para entrevistas a potenciales consumidores.....	135
10.2 Método de determinación de compuestos bioactivos de interés (elagitaninos, lignanos e isoflavonas) por HPLC-DAD.....	137
10.3 Filtro para selección de participantes de las sesiones de <i>focus group</i>	156
10.4 Guía de sesiones para la aplicación de los <i>focus group</i>	160
10.5 Ficha técnica de la bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya.....	167
10.6 Datos de humedad determinados por termogravimetría (TGA) en los tres prototipos desarrollados	173
10.7 Reporte del análisis proximal realizado al prototipo de mayor agrado emitido por el Laboratorio Químico del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.....	174

Índice de cuadros

Cuadro I. Materias primas utilizadas en la elaboración de los prototipos de la bebida con su respectiva forma de uso y proveedor.	55
Cuadro II. Equipos empleados en la elaboración de los prototipos de la bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.	56
Cuadro III. Contenido de compuestos cianogénicos determinados mediante el método descrito por Bradbury <i>et al.</i> (1994), en la linaza utilizada como materia prima en la elaboración de los prototipos de la bebida.	66
Cuadro IV. Formulaciones preliminares probadas y desarrolladas con el fin de obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.	72
Cuadro V. Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.	73
Cuadro V (continuación). Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.	74
Cuadro V (continuación). Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.	75
Cuadro VI. Formulaciones finales de los prototipos desarrollados para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.	76
Cuadro VII. Valores de pH de los tres prototipos desarrolladas, medidos con el fin de determinar las condiciones del tratamiento térmico de esterilización comercial.	78
Cuadro VIII. Contenido de elagitaninos totales (compuestos bioactivos de interés de la mora, como equivalentes de ácido elálgico) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.	83

Cuadro IX. Contenido de antocianinas (compuestos bioactivos de interés de la mora) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.....	84
Cuadro X. Contenido de isoflavonas (compuestos bioactivos de interés de la soya) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.....	86
Cuadro XI. Contenido de lignanos (compuestos bioactivos de interés de la linaza) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.....	87
Cuadro XII. Contenido de polifenoles totales (expresados como equivalentes de ácido gálico) determinados mediante el método de Folin- Ciocalteu en las formulaciones de los tres prototipos de bebida desarrollados.	88
Cuadro XIII. Características fisicoquímicas (pH, °Brix, turbidez, viscosidad) de los tres prototipos de bebida desarrollados.	90
Cuadro XIV. Valores de parámetros de color (L*, a*, b*, DE*) determinados para los tres prototipos de bebida desarrollados.	92
Cuadro XV. Características físicas, nutricionales y de empaque señaladas por los participantes de las sesiones de <i>focus group</i> como indispensables en una bebida saludable/funcional dirigida a una población de adultos sanos	99
Cuadro XVI. Análisis proximal del prototipo seleccionado como el de mayor agrado por los consumidores en las sesiones de <i>focus group</i> , realizado por el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.....	103
Cuadro XVII. Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la primera sesión de grupo focal. ...	109
Cuadro XVIII. Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la segunda sesión de grupo focal....	110

Cuadro XVIII (continuación). Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la segunda sesión de grupo focal.111

Índice de figuras

Figura 1. Estructuras químicas del ácido elálgico y el ácido hexahidroxiidifénico (Adaptados de Bakkalbaşı <i>et al.</i> 2009; Koponen <i>et al.</i> 2007).....	11
Figura 2. Estructura química del elagitanino sanguini H-6 (Adaptado de Kaume <i>et al.</i> 2012).	13
Figura 3. Estructura química del elagitanino lambertianin C (Adaptado de Kaume <i>et al.</i> 2012).	14
Figura 4. Estructuras químicas de las urolitinas A y B (Adaptados de Kiss y Piwowarski 2016).	16
Figura 5. Esqueleto estructural básico de los flavonoides y las isoflavonas (Adaptados de Shi <i>et al.</i> 2002).	21
Figura 6. Estructura química de las principales isoflavonas presentes en la soya (Adaptados de Messina 2005).	22
Figura 7. Estructura química del equol (Adaptado de Wu <i>et al.</i> 2004).	24
Figura 8. Estructuras químicas de los principales lignanos presentes en la linaza (Adaptados de Wilför <i>et al.</i> 2006).	29
Figura 9. Estructuras químicas de los principales metabolitos de los lignanos (Adaptados de Meagher <i>et al.</i> 1999; Wilför <i>et al.</i> 2006).	31
Figura 10. Fases de implementación de la técnica QFD (Adaptado de Yacuzzi y Martin 2003).	40
Figura 11. Casa de la calidad asociada a la primera fase de implementación de la técnica “Quality Function Deployment” (QFD) (Adaptado de Bhise 2013).	41
Figura 12. Procesamiento de las materias primas para su utilización en la elaboración de los prototipos de la bebida funcional.	61

Figura 13. Flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de la bebida funcional procesada mediante tratamiento térmico de pasteurización.	63
Figura 14. Flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de la bebida funcional procesada mediante tratamiento térmico de esterilización comercial.	64
Figura 15. Casa de la Calidad construida utilizando la información obtenida de las entrevistas realizadas a los potenciales consumidores de la bebida elaborada a partir de mora, linaza y soya.	71
Figura 16. Fotografías de los tres prototipos de la bebida desarrollados (1: prototipo 1, 2: prototipo 2, 3: prototipo 3) y sometidos a los tres tratamientos (SP: sin pasteurizar, P: pasteurizada 71,1 °C por 3 s, EC: esterilizada comercialmente a 87 °C).	94
Figura 17. Resultados obtenidos en la prueba de agrado de tres prototipos de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya realizada en dos sesiones de <i>focus group</i>	101

Abreviaturas

%	Porcentaje	LD	Límite de detección
ADN	Ácido desoxirribonucleico	LDL	Lipoproteínas de baja densidad
ANDEVA	Análisis de varianza	mg	Miligramos
°Brix	Grados Brix	mL	Mililitros
°C	Grados Celsius	NA	No añadido
cP	Centipoise	ND	No disponible
DAD	Detector de arreglo de diodos	NE	No especificado
g	Gramos		
HCl	Ácido clorhídrico	NTU	Unidades nefelométricas de turbidez
HCN	Ácido cianhídrico	PET	Politereftalato de etileno
HDL	Lipoproteínas de alta densidad	pH	Potencial de hidronio
HHDP	Ácido hexahidroxidifénico	QFD	Quality Function Deployment
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución	s	Segundos
HTST	Alta temperatura-tiempo corto	SECO	Secoisolariciresinol
kg	Kilogramos	SDG	Diglicósido de secoisolariciresinol
LC	Límite de cuantificación	UHT	Ultra alta temperatura

Resumen

El objetivo principal del presente trabajo fue desarrollar una bebida funcional a partir de mora, linaza y soya, formulada para una población de consumidores adultos sanos; considerando su contenido de compuestos bioactivos, sus características fisicoquímicas y su aceptación sensorial.

En este estudio se hizo uso de la técnica de investigación cualitativa “Quality Function Deployment” (QFD) para orientar el desarrollo de la bebida. Para su aplicación se entrevistaron 10 consumidores potenciales con edades de 31 a 59 años (50% hombres, 50% mujeres), de clase social media a media-alta, residentes en el Gran Área Metropolitana. Con la información derivada de las entrevistas se lograron detectar y priorizar los requerimientos o necesidades de los consumidores y traducirlos en requisitos técnicos adecuados para satisfacer esas necesidades. El sabor, el contenido de azúcar, el contenido o valor nutricional del producto y la textura destacaron como los aspectos más importantes o de mayor prioridad. Con base en la información derivada de la técnica QFD, una exploración preliminar de los productos disponibles en el mercado y una revisión bibliográfica técnica y científica, se desarrollaron las formulaciones y se definieron las condiciones de procesamiento de tres prototipos, para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.

Se evaluó el efecto de la intensidad del tratamiento térmico (pasteurización a 71,1 °C por 3 s, versus esterilización comercial a 87 °C con llenado en caliente) sobre el contenido de compuestos bioactivos de la mora (elagitaninos y antocianinas), soya (isoflavonas) y linaza (lignanos), y sobre el contenido de polifenoles totales. La intensidad del tratamiento térmico no tuvo un efecto significativo ($P < 0,05$) en la concentración de elagitaninos, isoflavonas, lignanos ni polifenoles totales, pero sí provocó una disminución significativa ($P < 0,05$) en el contenido de antocianinas en los tres prototipos desarrollados y procesados bajo las condiciones de tratamiento térmico de esterilización comercial. Además, se realizó la caracterización fisicoquímica de las bebidas desarrolladas mediante la determinación del pH, los grados Brix, la turbidez, la viscosidad y el color. Estos parámetros presentaron

comportamiento variable en los tres prototipos desarrollados y para los tratamientos térmicos aplicados.

Finalmente, se utilizó la técnica de investigación cualitativa de sesiones de grupo focal o *focus group* con el fin de evaluar los prototipos y el concepto de bebida desarrollado. Se llevaron a cabo dos sesiones con la participación de consumidores potenciales de las bebidas desarrolladas (7 mujeres y 1 hombre en la primera y 5 mujeres y 1 hombre en la segunda), de clase media a media-alta, residentes en el Gran Área Metropolitana, con edades entre los 36 y 64 años y consumidores de bebidas saludables (a base de frutas preferiblemente). Estas sesiones permitieron recopilar información en temas como hábitos de consumo de los participantes, su estilo de vida, las razones que los motivan a consumir alimentos saludables, su percepción acerca de las bebidas funcionales, específicamente las disponibles en el mercado costarricense. Se identificaron los atributos y las características más importantes para los consumidores a la hora de adquirir o consumir este tipo de productos. Los hallazgos en este sentido coinciden con lo encontrado mediante la técnica QFD. Además, a partir de las sesiones se determinó el prototipo de mayor agrado y seleccionado como el más promisorio, al cual posteriormente se le realizó un análisis proximal para tener una caracterización más amplia del mismo.

1. Justificación

En los últimos años se ha observado una tendencia al aumento en la demanda y el consumo de alimentos saludables, los consumidores se preocupan cada vez más por ingerir alimentos que generen bienestar, mejoren la salud e incluso que ayuden a prevenir el riesgo de padecer enfermedades (Corbo *et al.* 2014; Ozen *et al.* 2012). Diversos factores han contribuido a que se dé esta tendencia, entre los cuales destacan el envejecimiento de la población mundial, el deseo de los consumidores de mejorar su estado de salud, el aumento en el costo del cuidado de la salud, el hecho de que la dieta puede alterar la prevalencia o el progreso de una enfermedad, el aumento en la esperanza de vida, el deseo de las personas de mejorar su calidad de vida, entre otros (Agriculture and Agri-Food Canada 2009; Corbo *et al.* 2014).

Los alimentos funcionales desempeñan un papel importante como herramienta para satisfacer esa demanda por alimentos saludables. Esta industria se encuentra en constante crecimiento a nivel mundial y continuamente se están lanzando productos nuevos con el fin de satisfacer las necesidades del consumidor (Agriculture and Agri-Food Canada 2009). En la actualidad, existe una gran variedad de alimentos funcionales entre los cuales se incluyen alimentos para bebés, productos horneados, cereales, productos lácteos, confitería, alimentos listos para el consumo, “snacks”, productos cárnicos y bebidas. En especial estas últimas son por mucho la categoría de alimentos funcionales más activa, debido a diversos factores, entre ellos la facilidad y posibilidad de satisfacer los requerimientos del consumidor en cuanto a contenido del envase, tamaño, forma y apariencia; la facilidad de distribución y almacenamiento de productos refrigerados y estables a temperatura ambiente, además de la oportunidad de incorporar nutrientes y compuestos bioactivos (Corbo *et al.* 2014).

Entre los componentes de los alimentos a los cuales se les han atribuido propiedades funcionales destacan los polifenoles, que han sido de gran interés en los últimos años por sus actividades biológicas y efectos beneficiosos a la salud. A estas sustancias abundantes en los alimentos y en la dieta del ser humano se les han atribuido propiedades antioxidantes, además de su papel en la prevención y reducción del riesgo de contraer enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Manach *et al.* 2004; Scalbert *et al.* 2005). Asimismo, se les ha asociado efectos antiaterogénicos, antitrombóticos, antiulcerosos, antiinflamatorios, antimicrobianos, vasodilatadores y analgésicos (Natale *et al.* 2015).

Entre los diversos grupos de polifenoles existentes destacan los siguientes, los ácidos fenólicos, los estilbenos, los lignanos, y los flavonoides que incluyen las isoflavonas. (Kammerer *et al.* 2012; Manach *et al.* 2004). Estas últimas se acumulan principalmente en plantas de la familia de las leguminosas, siendo la soya y los productos derivados de la misma, las principales fuentes conocidas en la dieta del ser humano (Wu *et al.* 2004). Los lignanos se encuentran en altas concentraciones en la linaza o semilla de lino (Peterson *et al.* 2010), la cual es la fuente más rica de lignanos conocida (Wu *et al.* 2004). Los elagitaninos, derivados complejos del ácido elágico, han sido reportados en altas concentraciones en bayas como la mora, la fresa, la frambuesa y los arándanos (Landete 2011; Larrosa *et al.* 2010).

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal el desarrollo de una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos, como los mencionados anteriormente; para lo cual se utilizaron como materias primas principales la mora como fuente de elagitaninos, la soya como fuente de isoflavonas y la linaza como fuente de lignanos. La bebida fue diseñada para una población meta de consumidores adultos sanos, siguiendo la metodología “Quality Function Deployment (QFD)”.

La selección de las materias primas para elaborar la bebida se realizó con base en el objetivo principal del proyecto de investigación que cubre este trabajo, es decir, el desarrollo de una bebida funcional modelo que pueda ser utilizada en estudios posteriores para la evaluación del efecto de la microbiota colónica sobre el metabolismo de los compuestos bioactivos de interés. En primera instancia, estos estudios se aplicarían en Costa Rica, pero existe la posibilidad de que se apliquen en otras regiones a nivel mundial, por lo que en la formulación se incluyen materias primas de las cuales se tiene evidencia científica sobre la relación de su contenido de compuestos bioactivos y efectos específicos en la salud.

Según datos del Consejo Nacional de Producción (CNP), en Costa Rica se cultivan principalmente tres variedades de mora: la “vino”, la “negrita” y la “castilla” (CNP 2013b). La producción de esta fruta ha venido en crecimiento en los últimos años, tanto a nivel nacional como mundial. De acuerdo con Strik *et al.* (2007), a nivel mundial se dio un incremento en la producción de mora de aproximadamente 44% en el período de 1995 a 2005, donde Costa Rica se ubicó como uno de los países en los que principalmente se dio este aumento. Además, según reportes del CNP ha habido un aumento importante en la producción de mora en el país para el período comprendido entre los años 2009 y 2014 (CNP 2013b; CNP 2015).

En el caso de la soya, según reportes del CNP en Costa Rica para el período comprendido entre los años 2002 a 2012, las importaciones de frijol de soya alcanzaron las 200 mil toneladas por año sin incluir producto con algún grado de procesamiento (CNP 2013a). Mientras que en el período de 2013 a 2014 se reporta un promedio de importaciones de 21000 toneladas métricas por mes, es decir aproximadamente 252 mil toneladas al año, lo que indica un aumento con respecto al período anterior (CNP 2014). El origen del grano que

se importa en Costa Rica es principalmente de Estados Unidos y en menor proporción de Argentina y Paraguay (CNP 2013a; CNP 2014).

Una vez desarrollados los prototipos de la bebida, se procedió a evaluar el efecto de la pasteurización sobre el contenido de los compuestos bioactivos de interés y las características fisicoquímicas de la misma, como el color, la viscosidad, la turbidez, los grados Brix o sólidos solubles y el contenido de polifenoles totales.

Asimismo, se hizo uso de una técnica cualitativa, las sesiones de grupo o *focus group*, con el fin de evaluar los prototipos de bebida desarrollados por parte de consumidores potenciales en cuanto a su agrado y el concepto de producto. Esta información servirá como punto de partida para posteriores estudios en los que se utilicen los prototipos para medir el efecto de la microbiota colónica en el metabolismo de los compuestos bioactivos ya mencionados de la mora, linaza y soya.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Desarrollar una bebida funcional a partir de mora, linaza y soya, para una población de consumidores adultos sanos, considerando su contenido de compuestos bioactivos, sus características fisicoquímicas y su aceptación sensorial.

2.2 Objetivos específicos

1. Definir las formulaciones de 3 prototipos para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya mediante la técnica de “Quality Function Deployment” (QFD).
2. Determinar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico (pasteurización *versus* esterilización comercial) sobre el contenido de compuestos bioactivos de la mora (elagitaninos), soya (isoflavonas) y linaza (lignanós), así como las características fisicoquímicas de los prototipos de la bebida.
3. Evaluar los prototipos por parte de los consumidores mediante la técnica de análisis sensorial cualitativo: sesiones de grupos focales o *focus group*.

3. Marco teórico

3.1 Alimentos funcionales

El concepto de alimentos funcionales fue introducido por primera vez en Japón a mediados de la década de 1980, cuando el ministro de Salud y Bienestar de ese país incentivó la creación de un sistema regulatorio para los alimentos que tenían efectos beneficiosos para la salud. Desde ese entonces varios países y organizaciones han adoptado diferentes ideas de este grupo de alimentos en términos de su definición, campo de aplicación y regulación. Es decir, han sido definidos de diversas formas y no existe un consenso en cuanto a su concepto, siendo así que muchas veces son vistos más como un concepto que como un grupo definido de productos alimenticios (Kaur y Singh 2017; Ozen *et al.* 2012).

Entre las definiciones que destacan se encuentra la del Instituto de Tecnólogos de Alimentos de los Estados Unidos (IFT por sus siglas en inglés), que los define como alimentos o componentes de los mismos que proporcionan un beneficio a la salud que va más allá de la nutrición básica, para la población a la que se encuentra dirigido. Dentro de estos se pueden incluir alimentos convencionales, fortificados, enriquecidos, mejorados y los suplementos de la dieta. Los alimentos funcionales proporcionan nutrientes esenciales más allá de lo requerido para el funcionamiento, crecimiento y desarrollo normal del organismo, y aportan otros componentes biológicos activos que imparten beneficios o efectos fisiológicos deseables (IFT 2005).

Por otro lado, la Comisión sobre la Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE por sus siglas en inglés), coordinada por el Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (ILSI, por sus siglas en inglés) de Europa, establece que un alimento puede ser

considerado como funcional si se ha demostrado satisfactoriamente que tiene un efecto beneficioso en una o más funciones específicas del organismo, en una forma relevante para mejorar el estado de salud y el bienestar o reducir el riesgo de enfermedad. Los alimentos funcionales deben permanecer en forma de alimentos, es decir no son pastillas o cápsulas, además deben tener efecto en las cantidades en las que normalmente se espera que sean consumidos (Ozen *et al.* 2012; Vicentini *et al.* 2016).

Otras definiciones que destacan son las de la Academia de Nutrición y Dietética y la del Departamento de Salud del Gobierno de Canadá. La primera define los alimentos funcionales como alimentos íntegros, fortificados, enriquecidos o mejorados que tienen un potencial efecto beneficioso en la salud, cuando se consumen como parte de una dieta variada en forma regular en niveles eficaces. Mientras que el segundo establece que un alimento funcional es un alimento convencional o con apariencia similar que es consumido como parte usual de la dieta y que posee beneficios fisiológicos demostrados y/o reduce el riesgo de contraer una enfermedad crónica, además de las funciones nutricionales básicas (Crowe & Francis 2013).

En resumen, los alimentos funcionales poseen propiedades que afectan positivamente una o más funciones fisiológicas, estos efectos beneficiosos en el organismo se atribuyen a moléculas funcionales o compuestos bioactivos, ya sea que estos estén naturalmente presentes en el alimento o hayan sido agregados por medio de procesamiento industrial a la matriz alimentaria (Vicentini *et al.* 2016).

Según lo observado y estimado por los expertos, el mercado de los alimentos funcionales ha ido en crecimiento a través de los años. Esto se puede evidenciar en el hecho de que las tasas de crecimiento anual de ese mercado se mantuvieron en valores del 5,7% al 7,2% a nivel mundial entre los años 2009 y 2013. Esas tasas varían dependiendo de la región

o sector; en el caso de América Latina, para el mismo período, estas se mantuvieron en valores del 12,8% al 13,1%, siendo así el sector que presentó los mayores valores de tasa de crecimiento anual en esos años. En el caso de Asia Pacífico los valores estuvieron entre 8,9% y 11,2%, en el caso de Norteamérica entre 1,4% y 5,5%, mientras que en Europa la tendencia varió dependiendo de la región, en el caso de Europa Occidental los valores estuvieron entre 1,5% y 2,8%, mientras que en Europa Oriental entre 7,7% y 11% (Vicentini *et al.* 2016).

Las cuatro regiones mencionadas anteriormente son las que lideran el mercado global de alimentos funcionales, Asia Pacífico ocupa el primer lugar ya que representa el 34% de los ingresos totales generados a nivel mundial; lo cual no es sorprendente ya que Japón en sí mismo es uno de los principales mercados para este grupo de alimentos. En segundo lugar, se encuentra Norteamérica con un 25% del total de ingresos mundiales, en tercer lugar Europa con un 19% y en cuarto lugar Latinoamérica con un 17% de esos ingresos. En el caso de Latinoamérica los alimentos funcionales son relativamente nuevos pero prometedores como lo demuestran las cifras de ingresos generados y de tasa de crecimiento anual del sector, lo cual la convierte en una región donde la inversión en este grupo de alimentos debe continuar (Vicentini *et al.* 2016).

En los próximos años se estima que el mercado de alimentos funcionales continúe creciendo, ya que según se reporta para el año 2017 este mercado generó ingresos por ventas de aproximadamente 300000 millones de dólares a nivel mundial y se proyecta que para el año 2022 esos ingresos alcancen los 440000 millones de dólares (Statista 2018).

Entre las categorías de alimentos funcionales las bebidas destacan como la más activa y la de interés en la presente investigación. Esta actividad se ve reflejada en las cifras asociadas al mercado de estos productos, ya que según diferentes reportes para el año 2005 este mercado estaba valorado en 25000 millones de dólares y en el año 2015 alcanzó los

92000 millones de dólares, con un 4,9% de crecimiento anual entre los años 2010 y 2015. Se estima que el mercado de bebidas funcionales alcance un valor de aproximadamente 94000 millones de dólares para el año 2019 (Arthur 2016; Corbo *et al.* 2014; Grand View Research 2018).

Además, en Estados Unidos en el período comprendido entre los años 2002 a 2007 este mercado destacó como el segmento con mayor crecimiento dentro de la categoría de alimentos funcionales con un 14%, y se calcula que en este país las ventas de bebidas funcionales representan el 59% del total de ventas del mercado de alimentos funcionales (Corbo *et al.* 2014).

3.2 Compuestos bioactivos de interés

Los polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas que poseen generalmente funciones de defensa contra la radiación ultravioleta o el ataque de patógenos en las mismas (Manach *et al.* 2004). Son sustancias orgánicas que contienen uno o más grupos hidroxilo en uno o más anillos aromáticos (Ballesteros 2015). Estos compuestos se encuentran comúnmente glicosilados con uno o más azúcares unidos a los grupos hidroxilo o, de forma menos frecuente, directamente a un átomo de carbono aromático (Kammerer *et al.* 2012).

Los polifenoles están presentes en forma natural en frutas y vegetales, así como en productos fermentados como las aceitunas y los vinos. Estos compuestos contribuyen en gran forma al sabor, el aroma y el color en muchos alimentos, además de que presentan actividad antioxidante debido a su capacidad de atrapar radicales libres (Ballesteros 2015). La cantidad y distribución de estos componentes en las frutas difiere dependiendo de la variedad, el estado de madurez de la fruta, y las condiciones de cosecha y poscosecha a las que se vea expuesta la misma (Andrade y Fasolo 2014).

Este grupo de compuestos se caracteriza por presentar gran diversidad estructural, que va desde simples compuestos fenólicos hasta estructuras altamente polimerizadas como los taninos (Andrade y Fasolo 2014; Kammerer *et al.* 2012). Debido a esto se subdividen en muchas clases, entre las cuales destacan los fenoles simples, los ácidos fenólicos, los ácidos hidroxicinámicos, las xantonas, los estilbenos y antraquinonas, los flavonoides, los lignanos, los taninos, entre otros (Ballesteros 2015; Manach *et al.* 2004).

Dentro de las clases de polifenoles existentes resultan de especial interés para la presente investigación los elagitaninos (parte del grupo de los taninos hidrolizables), las isoflavonas (pertenecientes al grupo de los flavonoides) y los lignanos. Por esta razón, a continuación, se profundizará un poco más para estos tres grupos de polifenoles, en cuanto a su estructura, sus propiedades, los beneficios a la salud que se les han asociado, los alimentos que son fuente de los mismos, entre otros aspectos que se consideren de importancia.

3.2.1 Elagitaninos

3.2.1.1 Clasificación y estructura

Los elagitaninos pertenecen al grupo de taninos hidrolizables, cuyo nombre se debe a que son fácilmente hidrolizables por ácidos, bases o ciertas enzimas como la tanasa (Bakkalbaşı *et al.* 2009). Son derivados complejos del ácido elágico (Figura 1a) y constituyen el mayor grupo de taninos conocidos, se caracterizan por contener una o más unidades de ácido hexahidroxidifénico (HHDP) (ver Figura 1b) esterificadas a un poliol, el cual usualmente es glucosa. Cuando los elagitaninos son hidrolizados las unidades de HHDP son liberadas y rápidamente transformadas en ácido elágico (Azofeifa 2013; Bakkalbaşı *et al.* 2009; Koponen *et al.* 2007).

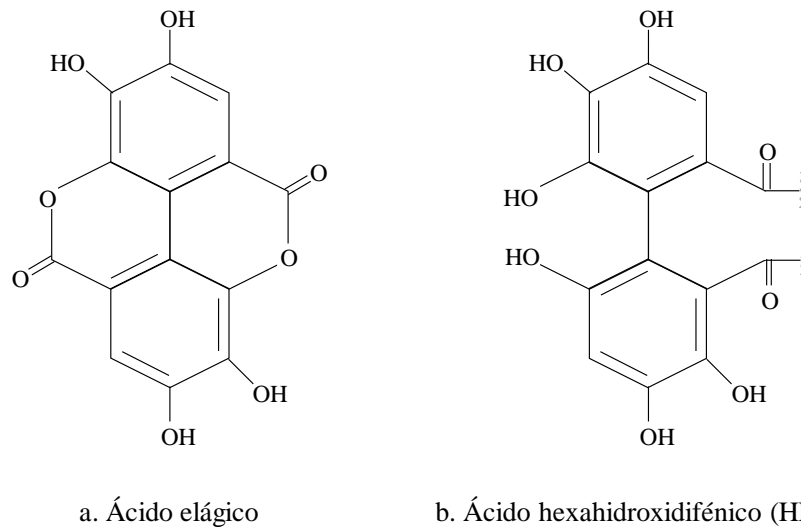


Figura 1. Estructuras químicas del ácido elágico y el ácido hexahidroxi-difénico (Adaptados de Bakkalbaşı *et al.* 2009; Koponen *et al.* 2007).

La estructura de los elagitaninos tiene una gran variabilidad debido a la gran posibilidad de conformaciones y enlaces entre los residuos del ácido hexahidroxi-difénico y las unidades de glucosa, además de la tendencia marcada a formar dímeros u oligómeros que aumenta esa variabilidad (Azofeifa 2013).

3.2.1.2 Fuentes

Los elagitaninos han sido detectados en cantidades significativas en diversas bayas como las fresas, las frambuesas y las moras, así como en nueces como los pistachos, las castañas, las pecanas, entre otras (Azofeifa 2013; Koponen *et al.* 2007; Larrosa *et al.* 2010). También son abundantes en la granada e importantes constituyentes de la madera, especialmente de la madera de roble. Debido a esto último, estos componentes pueden incorporarse a productos como el vino y el whisky, mediante la migración de la madera a la

matriz alimentaria durante la etapa de añejamiento característica del proceso de producción de estas bebidas (Larrosa *et al.* 2010).

En el caso de las bayas, los elagitaninos sólo han sido detectados en especies de la familia *Rosaceae*, específicamente se concentran en las especies del género *Rubus* sp. El elagitanino más representativo en las bayas es el sanguin H-6 que se muestra en la Figura 2. Otros elagitaninos que también son comunes son el lambertianin C, el sanguin H-10, el lambertianin A y el lambertianin D (Azofeifa 2013).

En las bayas se ha reportado que la concentración de elagitaninos se encuentra en valores que van de 20 a 550 mg/100 g de fruta fresca y la concentración de ácido elágico libre desde 0,7 a 4,3 mg/100 g de fruta fresca. En las frambuesas, las moras y las fresas, los elagitaninos representan entre el 51% y el 88% del contenido de total de compuestos polifenólicos en la fruta. Asimismo, se considera que estas bayas contienen hasta tres veces más ácido elágico que las pecanas y las nueces de nogal (Azofeifa 2013).

Diversos estudios han evidenciado que el contenido de elagitaninos, y el de los polifenoles en general, se ve afectado en forma significativa por la variedad de la fruta, factores genéticos, el estado de madurez, la parte de la fruta, el origen geográfico, el clima y otros factores ambientales como la estación climática (relacionado con los cambios de temperatura y duración del día), las prácticas de cultivo, la composición de los suelos, entre otros (Azofeifa 2013; Bakkalbaşı *et al.* 2009).

En el caso de la mora se han reportado diversos contenidos de elagitaninos, los cuales normalmente se expresan en términos de equivalentes de ácido elágico; debido a que el proceso de determinación de los mismos involucra una etapa de hidrólisis que genera que los elagitaninos se descompongan en unidades de ácido elágico, esto aunado a la diversidad

estructural de los elagitaninos y la falta de estándares específicos de estos compuestos. Asimismo, los contenidos reportados se expresan normalmente en diferentes términos, corresponden a diferentes variedades de la fruta y se determinan mediante diversos métodos, por lo que su comparación se hace difícil (Kaume *et al.* 2012).

Los principales elagitaninos reportados en las frutas del género *Rubus* sp., entre ellas la mora, son el sanguin H-6 (cuya estructura se muestra en la Figura 2) y el lambertianin C (ver estructura en la Figura 3 que se muestra a continuación). En la mora estos elagitaninos representan aproximadamente el 67% del contenido total de elagitaninos (Kaume *et al.* 2012; Kiss y Piwowarski 2016). Los elagitaninos y derivados del ácido elágico en la mora se encuentran en su mayor parte en las semillas (aproximadamente el 88% del total) y el restante se encuentra en la pulpa (Kaume *et al.* 2012).

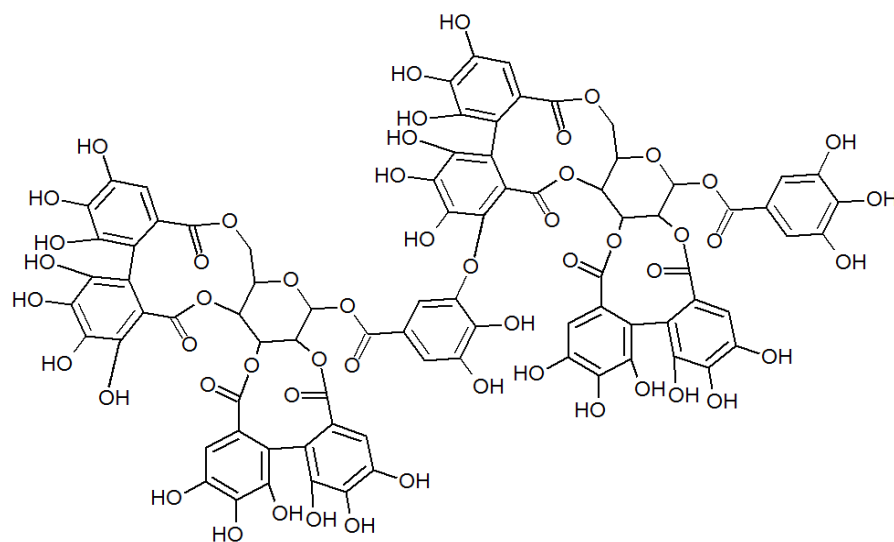


Figura 2. Estructura química del elagitanino sanguin H-6 (Adaptado de Kaume *et al.* 2012).

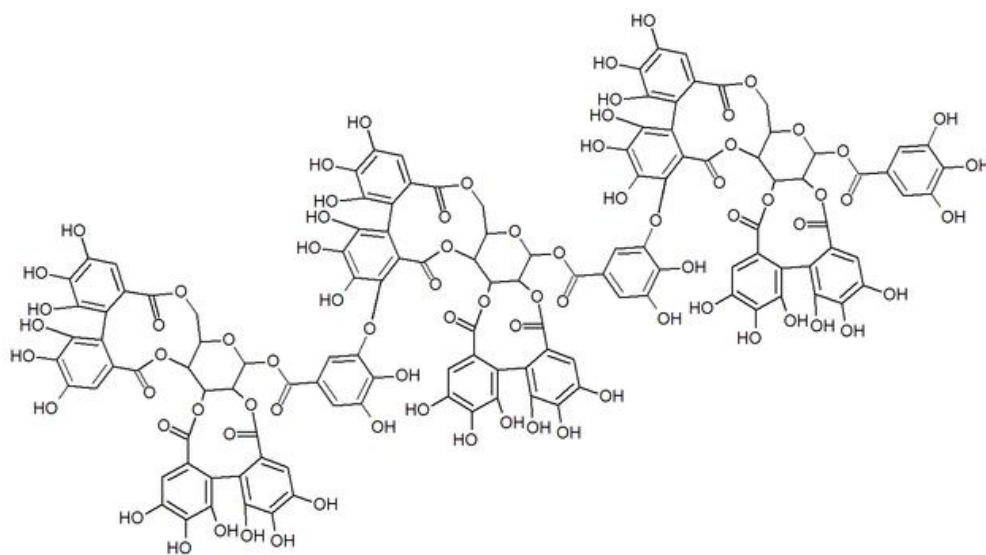


Figura 3. Estructura química del elagitanino lambertianin C (Adaptado de Kaume *et al.* 2012).

Entre los valores reportados de contenido de elagitaninos en la mora se encuentran: 1,5-2,0 mg/g de fruta en masa seca (Larrosa *et al.* 2010), 150 mg de equivalentes de ácido elágico/100 g de fruta fresca (Landete 2011), 1090 mg de equivalentes de ácido elágico/100 g de fruta en masa seca (Bakkalbaşı *et al.* 2009), mientras que en un estudio donde se analizaron seis diferentes cultivares se encontraron valores que van desde 84,7 a 130,4 mg/100 g de fruta fresca (Kaume *et al.* 2012).

La mora, de la especie *Rubus adenotrichos*, constituye un ejemplo claro de como el contenido de elagitaninos es afectado por el estado de madurez de la fruta. Esto se evidencia en el hecho de que el mayor contenido de elagitaninos en esta especie de la fruta se reporta cuando esta tiene una coloración rojo claro (380 mg de equivalentes de ácido elágico/100 g de fruta fresca); mientras que cuando la fruta pasa de esa coloración púrpura azulada oscura

(conforme madura la fruta), los dos principales elagitaninos (sanguin H6 y lambertianin C) disminuyen en un 33% (Kaume *et al.* 2012). Esto coincide con lo reportado en la literatura que indica que el contenido de elagitaninos disminuye durante la maduración, mientras que el de otros polifenoles, como las antocianinas, aumenta (Azofeifa 2013).

3.2.1.3 Metabolismo en el organismo

Estudios *in vitro* de simulación de digestión han demostrado que normalmente los elagitaninos son bastante estables bajo las condiciones fisiológicas del estómago. Las condiciones de pH ácido (HCl, pH de 1,8 a 2,0) y las enzimas presentes en el estómago no hidrolizan los elagitaninos y no se ha observado degradación de los mismos en este sitio. El estómago parece ser el primer sitio importante para la absorción de ácido elágico libre, pero los elagitaninos no son absorbidos. Mientras que bajo las condiciones fisiológicas del intestino delgado hay una liberación de ácido elágico proveniente de los elagitaninos. Esta hidrólisis parece deberse a las condiciones de pH (pH neutral a medianamente alcalino de 7,0 a 7,3) en vez de al efecto de las enzimas pancreáticas y sales biliares (Larrosa *et al.* 2010).

De esta forma, los elagitaninos son hidrolizados a ácido elágico debido a las condiciones de pH y/o acción de la microbiota intestinal. Este proceso inicia en el intestino delgado y continua a través del tracto gastrointestinal mediante la transformación del ácido elágico en una serie de derivados de las urolitinas y finaliza con la producción, por acción de la microbiota colónica a través de reacciones de descarboxilación y deshidroxilación, de las urolitinas A y B (ver estructuras en Figura 4); principales metabolitos detectados en plasma y orina (Kaume *et al.* 2012; Koponen *et al.* 2007; Larrosa *et al.* 2010).

Se ha sugerido que existen diferencias en el metabolismo de los elagitaninos y el ácido elágico de acuerdo con la fuente o alimento de donde se obtengan y la composición de la microbiota colónica de quien ingiere el alimento. Esto resulta en una variación en la distribución, cantidad y tipos de urolitinas absorbidas y excretadas en la orina (Kaume *et al.* 2012). A la vez, estas diferencias en la producción de los metabolitos según el individuo sugieren que estos pueden ser producidos por la actividad de microorganismos específicos presentes en el tracto gastrointestinal (Larrosa *et al.* 2010).

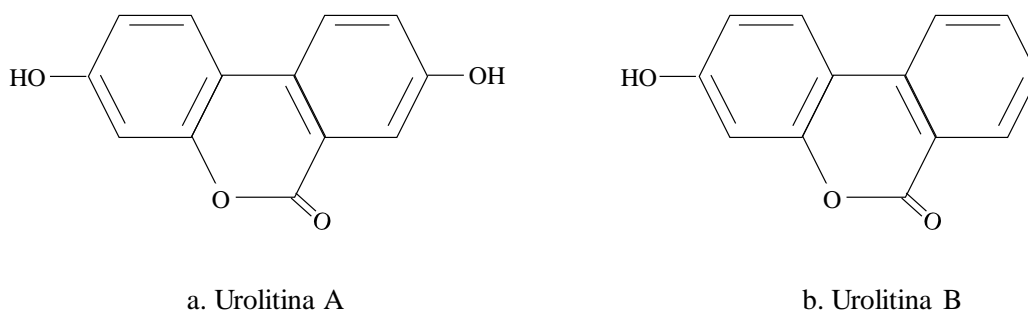


Figura 4. Estructuras químicas de las urolitinas A y B (Adaptados de Kiss y Piwowarski 2016).

Hasta donde se ha logrado investigar estos metabolitos no se acumulan en los tejidos de los órganos, con excepción de la vejiga urinaria y la vesícula biliar donde se acumulan con los fluidos de excreción (Larrosa *et al.* 2010). Sin embargo, se ha encontrado que luego del consumo de productos ricos en contenido de elagitaninos, las concentraciones de urolitinas alcanzan valores altos en el plasma sanguíneo (Kiss y Piwowarski 2016).

De esta forma, diversos estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que en general los elagitaninos no son absorbidos como tales. Estos liberan ácido elágico en el tracto gastrointestinal que es pobremente absorbido en el estómago y el intestino delgado, mientras

que en el intestino grueso es metabolizado en gran parte por la microbiota colónica para producir urolitinas (Koponen et al. 2007; Larrosa et al. 2010).

3.2.1.4 Propiedades asociadas

Los elagitaninos han sido asociados con diversas propiedades biológicas importantes a nivel nutricional entre las cuales destacan las siguientes: antioxidantes, antimutagénicas, anticancerígenas, antiarterioescleróticas, antiinflamatorias, antihepáticas, antimicrobianas, prevención en enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, entre otras (Azofeifa *et al.* 2016; Koponen *et al.* 2007; Landete 2011).

La actividad antioxidante de los elagitaninos es atribuida a sus estructuras de alto peso molecular, caracterizadas por la presencia de varios grupos hidroxilo en posiciones orto, que poseen una mayor habilidad de donar átomos hidrógeno y captar electrones desapareados, en comparación con estructuras de bajo peso molecular (Bakkalbaşı *et al.* 2009; Landete 2011). Además, la eficiencia antioxidante está directamente relacionada con el grado de hidroxilación y decrece con la presencia de unidades de azúcares (Landete 2011).

De esta forma, los compuestos polifenólicos son potentes antioxidantes debido a su capacidad de atrapar radicales libres y evitar el daño oxidativo producido por especies reactivas de oxígeno como los radicales libres. Estas especies, cuando son sobreproducidas en el organismo, provocan daño celular debido al estrés oxidativo que desencadena enfermedades degenerativas como inflamación, enfermedades cardiovasculares, cáncer y envejecimiento (Azofeifa 2013; Kaume *et al.* 2012).

También se ha reportado que las urolitinas, generadas por el metabolismo de los elagitaninos, exhiben una importante capacidad antioxidante. Mientras que, estudios *in vivo*

muestran que la capacidad antioxidante en el plasma sanguíneo incrementa de 5 a 30% producto del consumo de bayas (Azofeifa 2013).

En relación con las propiedades ante enfermedades cardiovasculares, existe evidencia de que la inclusión de bayas en la dieta puede tener efectos positivos en los factores de riesgo asociados a las enfermedades de este tipo y al síndrome metabólico. En estudios de intervención en humanos, se ha reportado que el consumo de bayas puede inhibir la inflamación, mejorar la función endotelial, inhibir la agregación plaquetaria, mejorar el perfil lipídico del plasma sanguíneo y las concentraciones de glucosa en sangre, así como incrementar la resistencia de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) a la oxidación (niveles elevados de LDL en el plasma son considerados un factor de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares) (Azofeifa 2013; Kaume *et al.* 2012).

El potencial papel de los compuestos polifenólicos en las bayas, entre ellos los elagitaninos, de reducir el riesgo de padecer cáncer ha sido demostrado en estudios *in vitro*, en modelos con animales y en estudios clínicos. Estos compuestos pueden modular la iniciación, propagación y progresión de esta enfermedad mediante diferentes mecanismos posibles entre los que destacan, la actividad antioxidante explicada anteriormente, la desintoxicación, la inducción de la apoptosis (destrucción o muerte celular), la actividad antiproliferativa y antiangiogénica y la supresión de la mutagénesis (Kaume *et al.* 2012).

Otros mecanismos sugeridos como parte de la actividad anticancerígena incluyen la disminución del daño en el ADN, la estimulación de enzimas antioxidantes, la inhibición de formación de aductos de ADN inducidos por carcinogénicos, la mejora de la reparación del ADN, la modificación de las vías de señalización asociadas a la proliferación celular, entre otros (Azofeifa 2013).

En estudios *in vitro* se ha reportado que extractos de bayas como moras, fresas frambuesas rojas y negras, arándanos azules y rojos, inhiben el crecimiento de células de cáncer oral, de mama, de colon y de próstata en humanos, en función de la dosis. Además, en estudios animales preclínicos se observó que el consumo de un extracto de granada inhibió el crecimiento de tumores en pulmones, piel, colon y próstata (Azofeifa 2013; Landete 2011).

Por otro lado, en un estudio *in vitro* se demostró que el ácido elágico extraído de frambuesas posee una potencial acción atiproliferativa contra células de carcinoma de colon humano. Mientras que otro estudio mostró que los elagitaninos y las urolitinas liberados en el colon, producto del consumo de jugo de granada en cantidades considerables, puede disminuir el riesgo de desarrollar cáncer de colon mediante la inhibición de la proliferación celular y la inducción de apoptosis. Específicamente en el caso de las urolitinas, se ha descrito que estas además de inhibir la proliferación de células cancerígenas del colon, inhiben el crecimiento de células cancerígenas de la próstata (Landete 2011).

En relación con las propiedades antidiabéticas de los elagitaninos, un estudio demostró los efectos positivos del consumo de una bebida de mora en las condiciones asociadas a esta enfermedad. En este estudio se evaluó el efecto del consumo de dos bebidas de mora de la especie *Rubus adenotrichos*, al 25% y al 12,5%, suministradas oralmente a ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina. La dosis más alta de mora (25%) disminuyó en forma significativa la glucosa (-48.6%), los triglicéridos (-43.5%) y el colesterol (-28.6%), además de que mejoró la capacidad antioxidante del plasma sanguíneo, redujo los niveles de oxidación lipídica en el plasma sanguíneo (-19%) y en riñones (-23%) (Azofeifa *et al.* 2016).

Este estudio demostró que la apropiada dosis de mora *Rubus adenotrichos* promueve la reducción del estrés oxidativo y la peroxidación lipídica asociada con una mejora de la homeostasis de la glucosa y los lípidos en condiciones severas de diabetes. Estas propiedades

observadas sugieren el potencial de esta especie de mora como coadyuvante en la dieta para combatir la diabetes (Azofeifa *et al.* 2016).

3.2.2 Compuestos fitoestrogénicos

Las isoflavonas y los lignanos se encuentran entre los principales grupos de polifenoles con actividad fitoestrogénica, llamados también compuestos fitoestrogénicos o simplemente fitoestrógenos. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas, con propiedades similares a los estrógenos y a los cuales se les ha asociado con una menor incidencia de ciertos tipos de cáncer dependientes de hormonas, como lo son el de mama, el de próstata y el de colon (Wu *et al.* 2004).

3.2.2.1 Isoflavonas

3.2.2.1.1 Clasificación y estructura

Las isoflavonas pertenecen al grupo de los flavonoides, cuya estructura básica consiste en dos anillos de benceno unidos por un puente de tres carbonos que puede estar o no cerrado en forma de anillo de pirano (ver estructura en Figura 5a). Los flavonoides incluyen la más grande y diversa gama de compuestos fenólicos vegetales, entre los que se encuentran, además de las isoflavonas, las antocianinas, las flavonas, los flavonoles, los flavonoides, las chalconas y las auronas (Liu 2004b).

Las isoflavonas se diferencian estructuralmente de los flavonoides en la posición en la que se une el anillo B, como se observa en la Figura 5b. Estos compuestos pueden ser descritos como incoloros, cetonas fenólicas cristalinas y con estructuras similares a los estrógenos, por lo cual poseen una actividad estrogénica leve. Las variaciones estructurales de las isoflavonas son numerosas, dependiendo de los sustituyentes, los niveles de oxidación

y los anillos heterocíclicos extra que pueden unirse al esqueleto básico estructural (Liu 2004b; Shi *et al.* 2002).

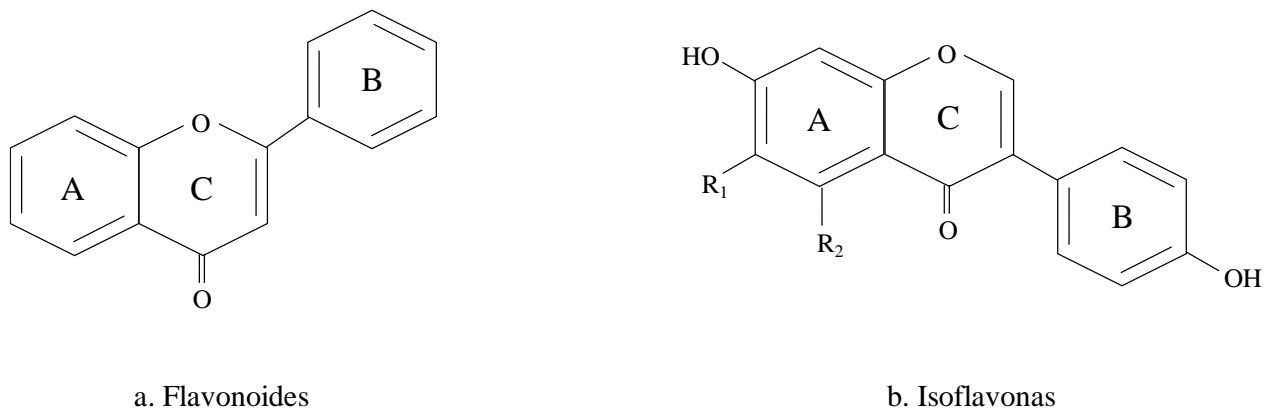


Figura 5. Esqueleto estructural básico de los flavonoides y las isoflavonas (Adaptados de Shi *et al.* 2002).

3.2.2.1.2 Fuentes

A pesar de que los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en los tejidos de diversas familias de plantas, las isoflavonas están presentes en algunas pocas familias botánicas, siendo la familia de las leguminosas, particularmente las Papilionóideas, donde se acumulan principalmente (Kuhnle 2012; Liu 2004a; Liu 2004b, Shi *et al.* 2002).

La soya y los productos derivados de la misma son las principales fuentes de isoflavonas conocidas en la dieta del ser humano. Las tres principales isoflavonas presentes en la soya son la daidzeína, la genisteína (los conjugados glicosilados de las mismas) y la gliciteína. Las dos primeras son las que se encuentran en mayor proporción y normalmente el contenido de genisteína (ver Figura 6a) es mayor que el de daidzeína (ver Figura 6b);

mientras que la gliciteína constituye menos del 10% del contenido total de isoflavonas en la soya (Liu 2004a; Messina 2005).

Cada una de las tres isoflavonas mencionadas, conocidas como agliconas o formas libres, pueden también existir en una forma de glucósido o de dos conjugados glicosilados, acetilglucósido y malonilglucósido. De esta forma hay doce posibles isómeros de isoflavonas presentes en la soya y la distribución de estos en la misma y los productos derivados se ve afectada por diversos factores como el cultivo, la cosecha, la estación climática, las condiciones de procesamiento, el tiempo de almacenamiento, entre otros (Liu 2004b; Morales-de la Peña *et al.* 2010).

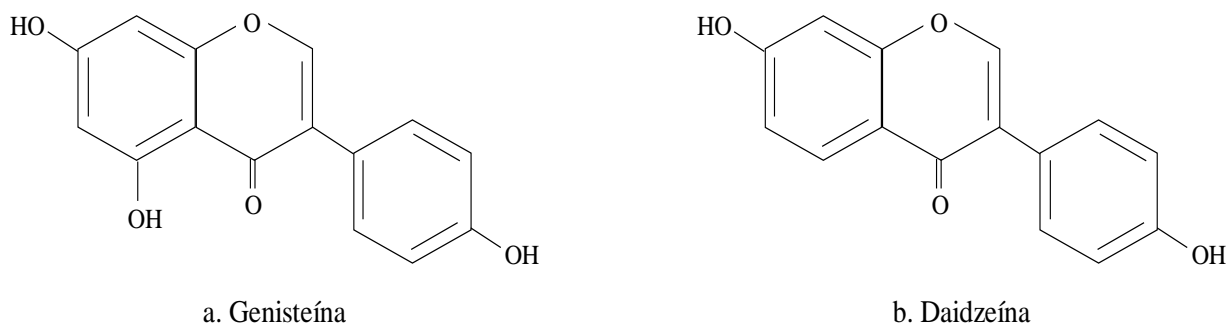


Figura 6. Estructura química de las principales isoflavonas presentes en la soya (Adaptados de Messina 2005).

El contenido de isoflavonas en la soya también se ve influenciada por factores como la variedad, el sitio geográfico donde se cultiva, el año de plantación, la época del año y la cosecha, entre otros factores ambientales. Inclusive diversos estudios han encontrado diferencias o variaciones importantes en los contenidos de isoflavonas en una misma variedad de soya dependiendo del sitio o el año en que fueron cultivadas. Asimismo, la

concentración y composición de las isoflavonas varía dependiendo de la parte estructural de la semilla que se analice (Liu 2004b).

Debido a los aspectos mencionados anteriormente, en la literatura se reportan diversos valores de contenido de isoflavonas en la soya, dependiendo de la parte de la semilla que se analice, de si se trata de algún producto derivado, aunado a los factores ya discutidos. Entre los contenidos reportados se encuentran: de 1 a 4 mg isoflavonas/g de masa seca de semilla o frijol de soya (Liu 2004b), de 1,2 a 3,3 mg isoflavonas/g de masa seca de semilla o frijol de soya (Messina 2005), de 0,2 a 3,0 mg isoflavonas/g de semilla o frijol de soya entero (Riaz 2005), 54,7 mg isoflavonas/100 g de frijol de soya cocinado, de 1,3 a 21,1 mg en bebida de soya (Messina 2005), de 85,68 a 159,98 mg isoflavonas/100 g semilla o frijol de soya (valores reportados para semillas maduras crudas analizadas de diferentes sitios geográficos) (USDA 2015).

3.2.2.1.3 Metabolismo en el organismo

Las isoflavonas se encuentran en los alimentos normalmente en su forma glicosilada, estos glucósidos no son absorbidos en forma intacta en el organismo humano, sin embargo producto de la hidrólisis (por el pH ácido del estómago, enzimas endógenas y microbiota intestinal), una vez que llegan al intestino son metabolizadas por las bacterias del intestino y convertidas en sus correspondientes agliconas, lo que permite que sean absorbidas y convertidas en otros metabolitos de interés como el equol (ver estructura en Figura 7), que posee actividad estrogénica y beneficios importantes para la salud (Messina 2005; Wu *et al.* 2004).

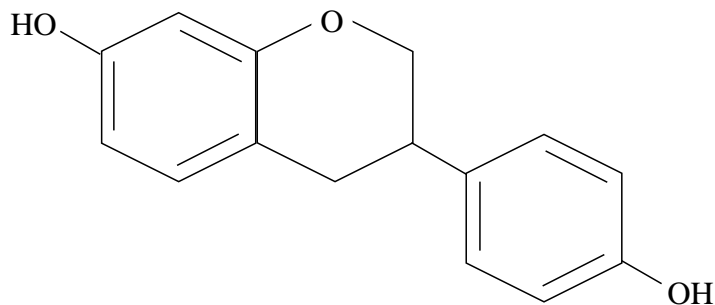


Figura 7. Estructura química del equol (Adaptado de Wu *et al.* 2004).

Diversas investigaciones sugieren que aproximadamente 1 o 2 horas luego de la ingestión de productos a base de soya se da un pequeño pico en la concentración de estos en sangre; sin embargo, el pico máximo de concentración ocurre entre las 4 y 6 horas luego de la ingestión. La mayoría de las investigaciones realizadas sugieren que la vida media de las isoflavonas es de entre 4 y 8 horas, y se estima que 24 horas luego del consumo de alimentos a base de soya casi el total de las isoflavonas se ha excretado (Messina 2005; Oregon State University 2017).

El pico inicial refleja la absorción de las isoflavonas después de la hidrólisis de los glucósidos a agliconas por parte de las β -glucosidasas en el intestino delgado, mientras que el segundo pico corresponde a la absorción de las agliconas luego de la hidrólisis de los glicósidos por las β -glucosidasas bacterianas en el colon (Oregon State University 2017).

Existen grandes variaciones en el metabolismo de las isoflavonas entre individuos, las cuales provocan diferencias en las concentraciones en sangre de estas y sus metabolitos en respuesta al consumo de productos con contenido de isoflavonas. A la vez, esta variación puede contribuir a la inconsistencia observada en la literatura en relación con los efectos beneficiosos asociados al consumo de isoflavonas (Messina 2005).

Estas variaciones pueden deberse a la composición de la microbiota del colon, en efecto se cree que el alcance de al menos algunos de los posibles beneficios para la salud, derivados de la ingesta de soya, depende de la capacidad del organismo para transformar las isoflavonas en metabolitos claves, como el equol, durante la digestión (Oregon State University 2017).

El equol es un estrógeno no esteroideo y es un metabolito clave que es originado exclusivamente como producto del metabolismo bacteriano intestinal, específicamente en el colon; es decir, no es de origen vegetal. Este metabolito es producido en forma del isómero S-equol y además de tener propiedades estrogénicas es un potente antagonista de la dihidrotestosterona, propiedad que sugiere un papel importante del equol en la prevención de patologías mediadas por andrógenos como el cáncer de próstata y condiciones de la piel. El equol es superior a todas las isoflavonas en su capacidad antioxidante (Setchell *et al.* 2002; Setchell *et al.* 2005; Setchell y Cole 2006).

A diferencia de otras especies de animales, no todos los seres humanos son capaces de producir equol a partir de las isoflavonas, luego del consumo de alimentos a base de soya. Diversos estudios indican que sólo del 20 al 35% de la población adulta occidental es capaz de producir equol, como resultado del consumo de alimentos a base de soya o suplementos con contenido de isoflavonas. Mientras que en la población de adultos que viven en Asia, este porcentaje asciende al 50-60%; países donde la soya es consumida con regularidad. Los individuos que poseen las bacterias productoras de equol son llamados “productores de equol” en oposición a los “no productores de equol” que no las poseen (Messina 2005; Oregon State University 2017; Setchell *et al.* 2005; Setchell y Cole 2006).

3.2.2.1.4 Propiedades asociadas

El consumo de isoflavonas ha sido relacionado con diversos beneficios potenciales que incluyen la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, enfermedades coronarias, prevención del cáncer (particularmente de mama, próstata y colon), el aumento de la densidad de masa ósea (relacionado con la prevención de la osteoporosis) y la reducción de los síndromes pre- y postmenopáusicos en las mujeres (Liu 2004a, Morales-de la Peña *et al.* 2010; Shi *et al.* 2002).

Un estudio demostró que el consumo de proteína de soya reduce los niveles de colesterol total en un 9,3%, de triglicéridos en un 10,5% y de LDL en un 12% en sangre, cuando se ingiere en promedio 47 g de proteína de soya diarios. Esto resulta importante ya que niveles elevados en sangre de estos componentes son considerados factores de riesgo de padecer enfermedades coronarias. Asimismo, investigaciones realizadas en animales y seres humanos indican que las isoflavonas mejoran la función endotelial, la relajación y distensibilidad arterial, además de que el consumo de soya reduce la cantidad de LDL que se oxidan (Liu 2004b; Messina 2005; Vanegas *et al.* 2009).

La evidencia epidemiológica existente indica que el aumento en el consumo de soya se relaciona con una disminución del riesgo y la reaparición o mortalidad por el cáncer de mama, especialmente en mujeres de China que tienen un alto consumo de estos productos en sus dietas. Mientras que mujeres japonesas que han consumido dietas ricas en isoflavonas (productos de soya), parecen tener una incidencia muy baja de cáncer de mama (He y Chen 2013; Liu 2004b).

Es importante mencionar que diversos estudios realizados indican que es difícil concluir que el consumo de soya en adultos reduce la incidencia de cáncer de mama, mientras

que los datos sugieren que, si el consumo de soya se da desde etapas tempranas de la vida, esto se traduce en una menor incidencia de este tipo de cáncer en etapas posteriores. Esto es respaldado por un amplio estudio de casos control llevado a cabo en China (1459 casos y 1556 controles), donde se encontró que el consumo de proteína de soya durante la adolescencia reduce el riesgo de padecer cáncer de mama en la etapa adulta en aproximadamente 50%, mientras que el consumo de proteína de soya solo en la etapa adulta no tiene un impacto en este tipo de cáncer. Asimismo, en un estudio realizado en Estados Unidos (501 casos y 594 controles) que incluía personas asiáticas y americanas, se encontró que un elevado consumo de soya a lo largo de las diferentes etapas de la vida se asocia con una reducción de un tercio del riesgo de padecer cáncer de mama, mientras que el consumo de soya solo durante la etapa adulta no tuvo efecto protector ante este cáncer (Messina 2005).

En el caso de los hombres que viven en Asia se ha observado que históricamente presentan una menor incidencia de cáncer de próstata. Además, se ha reportado que las isoflavonas juegan un papel importante en la prevención de que el cáncer de próstata latente progrese hacia etapas más avanzadas de esta enfermedad. Mientras que la genisteína mostró, a nivel *in vitro*, inhibir el crecimiento de células prostáticas cancerígenas hormono dependientes e independientes. Tanto la genisteína como los glucósidos de isoflavonas mostraron una inhibición en el crecimiento de tumores prostáticos inducidos químicamente y en roedores implantados con células prostáticas cancerígenas (Liu 2004b).

Diferentes investigaciones sugieren que las isoflavonas juegan un rol importante en la prevención de pérdida de masa ósea y en el incremento de la densidad ósea. Estas afirmaciones son respaldadas por un estudio reciente que encontró que la genisteína es tan efectiva como la terapia de reemplazo hormonal convencional para prevenir la pérdida de

masa ósea en la columna vertebral y la cadera en mujeres postmenopáusicas (Liu 2004b; Messina 2005).

3.2.2.2 Lignanos

3.2.2.2.1 Clasificación y estructura

Los lignanos constituyen un grupo de polifenoles importante que se caracteriza estructuralmente por el acoplamiento de dos unidades de fenilpropanoide por un enlace entre las posiciones β en las cadenas laterales de propano (ver Figura 8) (Smeds *et al.* 2012; Wilför *et al.* 2006; Wu *et al.* 2004).

3.2.2.2.2 Fuentes

Los lignanos son compuestos bioactivos que se encuentran en altas concentraciones en linaza o semilla de lino y semillas de sésamo, y en menores proporciones en granos, otras semillas, frutas y vegetales. La linaza (*Linum usitatissimum*) constituye la fuente más rica de lignanos conocida, siendo así que los contenidos de estos componentes en la linaza son de decenas a cientos de veces mayores que en otras plantas comestibles; sin embargo, esta es relativamente poco consumida como parte de la dieta del ser humano (Herchi *et al.* 2012; Meagher *et al.* 1999; Peterson *et al.* 2010; Wu *et al.* 2004).

Los principales lignanos presentes en la linaza son el secoisolariciresinol (SECO) y el matairesinol (ver estructuras en Figura 8), donde el primero es el que se encuentra en una mayor proporción (370 mg/100 g) en comparación con el segundo (1 mg/100 g) (Aehle *et al.* 2011; Manach *et al.* 2004; Meagher *et al.* 1999; Sicilia *et al.* 2003; Wilför *et al.* 2006). El SECO está presente en la linaza como un diglucósido (SDG: diglucósido de secoisolariciresinol), el cual está unido con el ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico (HMGA),

ácido que puede acoplarse con varias unidades de lignanos a la vez, dando paso a la formación de oligómeros (Eliasson *et al.* 2003; Popova *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2007).

El contenido de lignanos en la linaza varía según diversos factores, desde la variedad, la zona geográfica de donde procede, las condiciones de cultivo, el clima, las condiciones ambientales, la parte de la semilla que se analiza, entre otros aspectos (Touré y Xueming 2010). De esta forma, en diversos estudios se han reportado variados contenidos de lignanos en linaza, entre los cuales destacan los siguientes: 379 mg secoisolariciresinol/100 g (Edel *et al.* 2015), 335 mg lignanos totales/100 g, 323 mg secoisolariciresinol//100 g (Peterson *et al.* 2010), 294-700 mg diglucósido de secoisolariciresinol//100 g, 11,7-24,1 mg/g de harina de linaza desgrasada, 6,1-13,3 mg/g de linaza entera (Goyal *et al.* 2014).

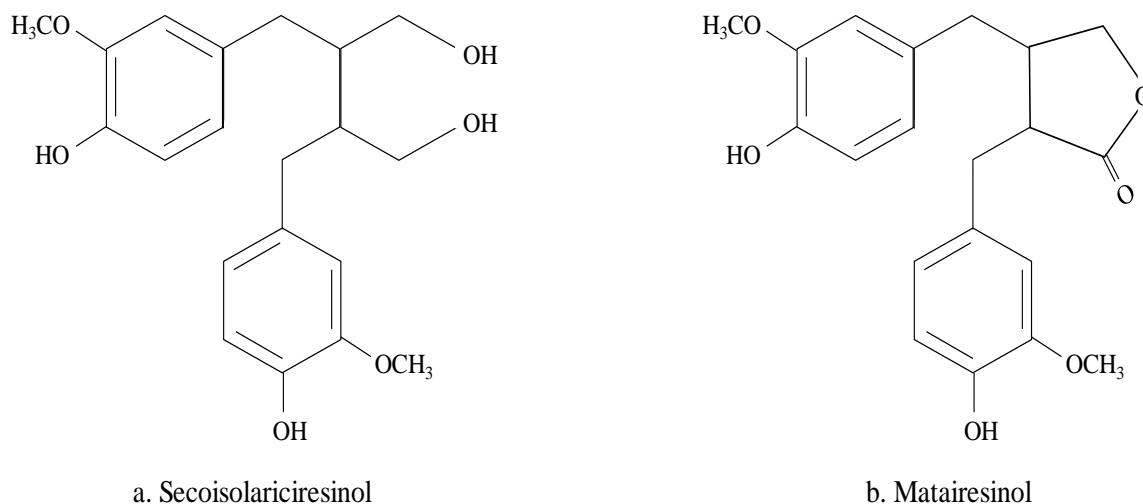


Figura 8. Estructuras químicas de los principales lignanos presentes en la linaza (Adaptados de Wilföer *et al.* 2006).

3.2.2.2.3 Metabolismo en el organismo

Como se mencionó anteriormente, los lignanos se encuentran en una proporción en su forma de glucósidos en la linaza. Al ser ingeridos por humanos y animales estos son primero hidrolizados, por la β -glucosidasa que se encuentra ampliamente distribuida en las bacterias del intestino, a sus correspondientes agliconas SECO y matairesinol (estructuras mostradas en Figura 8). Estas agliconas son consideradas como precursores primarios de los lignanos en mamíferos (Peterson *et al.* 2010; Wu *et al.* 2004).

Posteriormente, el matairesinol y el SECO (tanto las provenientes de la hidrólisis como los que ya se encontraban en forma libre) son metabolizados por la microbiota intestinal (específicamente la presente en el colon), a través de reacciones de desmetilación y deshidroxilación, y son convertidos en enterolactona y enterodiol respectivamente (ver estructuras en Figura 9), sucesivamente el enterodiol puede ser convertido en enterolactona mediante reacciones de deshidrogenación. Estos metabolitos son conocidos como enterolignanos, se les han atribuido diversas propiedades beneficiosas para la salud, entre ellas la actividad estrogénica (Aehle *et al.* 2011; Edel *et al.* 2015; Manach *et al.* 2004; Sicilia *et al.* 2003; Peterson *et al.* 2010; Wu *et al.* 2004).

El enterodiol y la enterolactona son los dos lignanos más comunes en los mamíferos, son considerados las dos principales formas bioactivas del SDG y han sido descritos como los que se encuentran presentes en mayor proporción en suero, orina, bilis y líquido seminal de humanos y animales (Peterson *et al.* 2010; Wu *et al.* 2004).

Una vez que los enterolignanos son formados, estos atraviesan la mucosa intestinal y son nuevamente empacados en forma de conjugados de sulfato o glucurónido en el hígado. Luego de esta conjugación, entran en la circulación enterohepática y pueden ser eliminados

a través de la orina o la bilis, o pueden circular sistemáticamente, y/o ser almacenados en los tejidos. Una porción puede ser también desconjugada en el intestino grueso y eliminada por medio de las heces. Usualmente los enterolignanos pueden ser detectados en sangre entre 8 y 10 horas luego del consumo de lignanos (Edel *et al.* 2015; Peterson *et al.* 2010).

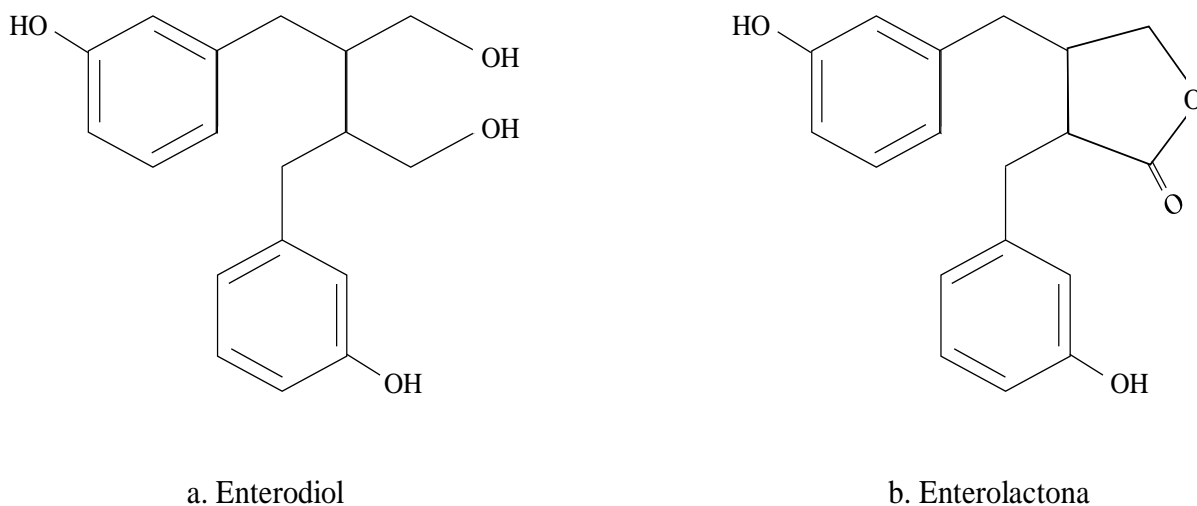


Figura 9. Estructuras químicas de los principales metabolitos de los lignanos (Adaptados de Meagher *et al.* 1999; Wilför *et al.* 2006).

Entre los factores que pueden influenciar la formación de enterolignanos se encuentran el pH y gradientes de oxígeno a nivel intestinal, los ácidos biliares, el tiempo de tránsito intestinal, la dieta, el cultivar de la linaza, la forma en que se encuentra la linaza, el tipo de lignanos presentes en la dieta, el uso de antibióticos, la conversión de algunos lignanos en otros compuestos, entre otros (Edel *et al.* 2015; Peterson *et al.* 2010).

Asimismo, puede haber variaciones entre individuos en la biodisponibilidad de enterolignanos en muestras de plasma sanguíneo de humanos. La edad del individuo juega

un papel importante en el metabolismo de los lignanos y la absorción de los enterolignanos, ya que se encuentra establecido que la composición de la microbiota intestinal sufre cambios a lo largo del ciclo de vida de una persona. Generalmente se observa un decrecimiento en la variedad de microorganismos en poblaciones de edades avanzadas, con aumentos en el contenido de enterobacterias, disminución de bacteroides y reportes de reducción o estabilidad en la concentración de bifidobacterias y lactobacilos. El sexo también puede jugar un rol importante en la composición de la microbiota, ya que se ha observado que en mujeres los organismos productos de enterolignanos están presentes en significativamente mayores proporciones que en los hombres (Edel *et al.* 2015).

3.2.2.2.4 Propiedades asociadas

Los lignanos poseen diversos efectos beneficiosos para la salud, entre los cuales destacan las actividades antioxidantes, antivirales, antiinflamatorias, antitumorales, antidiabéticas y antiobesidad; además de que pueden tener un efecto protector contra las enfermedades cardiovasculares, así como en la prevención de la progresión de cáncer de mama y de próstata (Hu *et al.* 2007; Meagher *et al.* 1999; Popova *et al.* 2009; Slanina y Glatz 2004; Smeds *et al.* 2012).

Muchos de los beneficios y propiedades biológicas asociados al consumo de linaza se deben a la presencia del lignano secoisolariciresinol, tanto en su forma de aglicona (SECO) como en su forma de diglucósido (SDG). Las investigaciones indican que el SDG tiene un papel importante en la prevención de cáncer de mama, colon y próstata, tiene efectos beneficiosos en tumores y arterioesclerosis; asimismo se han obtenido resultados positivos en enfermedades como lupus, hipertensión y diabetes luego del consumo de SDG. Además, tanto el SECO como el SDG han mostrado reducir el nivel de colesterol en sangre y retrasar en el inicio de diabetes tipo II, propiedades que junto con la prevención de distintos tipos de

cáncer se pueden atribuir en parte a sus propiedades antioxidantes (Eliasson *et al.* 2003; Li *et al.* 2008; Waszkowiak *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2007).

El SDG ha demostrado ser efectivo en la reducción de la arterioesclerosis por hipercolesterolemia mediante la reducción del estrés oxidativo, la reducción de los niveles de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL) en sangre, y el incremento de los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Eliasson *et al.* 2003).

En un estudio animal con ratas, se investigó si el SDG podía usarse como una alternativa en el tratamiento de la hipertensión y se encontró que, al alimentar a las ratas con dosis específicas de linaza, el SDG presente en esta disminuyó la presión arterial sistólica, diastólica y la promedio (Bernacchia *et al.* 2014).

Los lignanos y sus metabolitos derivados se han asociado con la inhibición del crecimiento de células prostáticas cancerígenas. En este sentido, se ha reportado que niveles elevados de enterolactona en los fluidos prostáticos se asocian con un menor riesgo de padecer cáncer de próstata. Asimismo, en un estudio clínico pequeño, se observó una disminución en la proliferación de células prostáticas cancerígenas y un aumento de la apoptosis en hombres a los cuales se les administró una dosis diaria de 30 g de linaza (Landete 2012; Touré y Xueming 2010).

En el caso de los efectos de los lignanos sobre el cáncer de mama, un estudio en mujeres francesas mostró que una mayor ingesta dietética de lignanos se relaciona con una reducción en el riesgo de contraer cáncer de mama en la postmenopausia (Landete 2012). Estudios *in vitro*, en modelos con animales, estudios observacionales y clínicos evidenciaron que el consumo de linaza reduce el crecimiento de tumores en pacientes con cáncer de mama. Los mecanismos asociados a estos efectos incluyen la disminución de la proliferación celular

y la angiogénesis, así como el aumento en la apoptosis a través de la modulación del metabolismo de los estrógenos (Bernacchia *et al.* 2014).

El uso de la linaza para el control de la glicemia (diabetes) puede estar asociado al efecto que esta posee de disminución en el riesgo de obesidad y dislipidemia, ya que ambos se consideran factores de riesgo en el desarrollo de la diabetes y la resistencia a la insulina. En un estudio donde se evaluó el potencial terapéutico de la linaza en la dislipidemia se demostró que la suplementación con este alimento en un grupo experimental resultó en una mejora en las medidas antropométricas, la presión sanguínea y el perfil lipídico. El peso corporal, el índice de masa corporal (IMC), la presión sistólica y diastólica fueron reducidas significativamente. Al mismo tiempo, se observó una reducción significativa del colesterol total, los triglicéridos y las lipoproteínas de baja densidad (Bernacchia *et al.* 2014).

Estudios recientes indican que una concentración elevada de enterolactonas en sangre se asocia con una reducción en la mortalidad relacionada con enfermedades cardiovasculares y coronarias (Slanina y Glatz 2004).

3.3 “Quality Function Deployment” (QFD)

La técnica QFD surgió en Japón a finales de la década de 1960 y fue introducida en Europa y Estados Unidos a inicios de la década de 1980. Es definida como un método para el planeamiento y desarrollo estructurado de un producto, el cual permite al equipo encargado del desarrollo conocer en forma específica las necesidades y deseos de los consumidores, y de esta forma evaluar cada producto sistemáticamente en función del impacto en la satisfacción de esas necesidades (Jaiswal 2012).

Esta herramienta parte de la voz del consumidor y su principal función es la traducción de los requerimientos y necesidades del mismo en especificaciones técnicas; en

otras palabras, permite trasladar esa voz en nuevos productos que verdaderamente satisfagan esas necesidades (Bouchereau y Rowlands 2000; Okamoto 2011). Esto se logra gracias a que la técnica QFD provee un marco estructurado que asegura que esa voz sea incorporada en todas las fases de desarrollo del producto (Jaiswal 2012). El diagrama característico de la herramienta relaciona el qué (qué necesita el cliente) con el cómo (cómo debe ser el diseño del ingeniero para satisfacer esas necesidades del cliente) y el cuánto (magnitud de las variables de diseño, es decir los valores objetivo), además de que provee información de *benchmarking* de productos de la competencia (Bhise 2013).

La técnica QFD enlaza la calidad demandada por el mercado o los clientes con el diseño, el desarrollo, la ingeniería, la producción y las funciones de servicio, alineando así todos los departamentos de la empresa para el cumplimiento de los requisitos y deseos del cliente o consumidor final. De esta forma, permite establecer una relación entre consumidores o clientes, equipo de desarrollo, competidores y producción (Jaiswal 2012; Cristiano *et al.* 2001; Okamoto 2011).

3.3.1 Implementación de la técnica QFD

El proceso de implementación de la técnica comprende la construcción de una o más matrices conocidas como tablas de calidad (ver Figura 10), las cuales permiten representar las variables que contribuyen a definir un determinado proyecto o producto. Estas matrices muestran las relaciones existentes entre las variables, brindando información útil acerca de los niveles a los cuales interactúan y la forma en que lo hacen (Fransceschini 2001; Jaiswal 2012).

Normalmente el proceso consiste en cuatro fases, donde las mencionadas matrices o tablas de calidad permiten guiar las actividades del equipo encargado mediante la

documentación estandarizada durante el desarrollo del producto y el proceso. Además de que permiten enfocar el desarrollo en los aspectos más importantes y las interacciones de las diferentes funciones o variables involucradas (Fransceschini 2001; Jaiswal 2012). Cada fase tiene asociada una matriz, la cual consiste básicamente de una columna en la cual se expresan los “Qué” o requerimientos y una fila donde se colocan los “Cómo” o formas de cumplir con esos requerimientos. Los “Cómo” de cada una de las fases son utilizados en la siguiente fase como los “Qué”, como se muestra en la Figura 10 (Jaiswal 2012).

- Fase 1: Planeamiento del producto

Esta etapa también es conocida como la “Casa de la calidad”, en ella se comparan los requerimientos del consumidor y las características del producto o atributos, estos últimos son los requerimientos técnicos establecidos por el equipo involucrado en el desarrollo del producto y necesarios para establecer las especificaciones del producto de forma que sean acordes a las expectativas del consumidor. La matriz que se obtiene define las relaciones entre los dos elementos mencionados y las prioridades según corresponda. Además, permite realizar comparaciones entre las características del producto y sus principales competidores en el mercado (*benchmarking*) (Fransceschini 2001; Jaiswal 2012). En la Figura 11 se pueden observar las distintas partes que comúnmente componen la Casa de la Calidad. A continuación, se explican detalles importantes en relación con cada una de las partes.

Los requerimientos del consumidor son descritos utilizando las palabras del mismo y pueden ser clasificados, si así se desea y según lo expresado por el consumidor, en necesidades primarias, secundarias y terciarias (Bhise 2013). Estas necesidades o requerimientos pueden ser recolectados, interpretados y organizados a través de diversos métodos como las sesiones de grupo o “focus group”, lluvia de ideas, entrevistas, visitas al

consumidor, entre otras técnicas cualitativas estructuradas y técnicas de análisis de productos (Okamoto 2011).

La priorización de los requerimientos se realiza también de acuerdo con lo expresado por los consumidores, normalmente esta se expresa basándose en una escala del 1 al 10, donde 10 es extremadamente importante y 1 para nada importante (Bhise 2013; Bouchereau y Rowlands 2000).

Como se mencionó anteriormente, los requerimientos o especificaciones técnicas son establecidos por el equipo de trabajo y deben ser acordes con las necesidades del consumidor, es decir se debe buscar cómo satisfacer esas necesidades. Estos deben ser descritos en términos técnicos asociados con características del producto que se está desarrollando y las variables a considerar durante el proceso (Bhise 2013, Fransceschini 2001).

La matriz de relación expresa la intensidad de la interacción entre los requerimientos del consumidor y las especificaciones técnicas establecidas. Normalmente se expresa esa intensidad con los números 9, 3 y 1, de fuerte a débil (Bhise 2013; Yacuzzi y Martin 2003).

La dirección deseada de las especificaciones técnicas indica si para cada una de las especificaciones se desea un valor alto (expresado como una flecha apuntado hacia arriba), bajo (expresado como una flecha apuntado hacia abajo) o si la especificación no depende del aumento o descenso en su valor (expresado como un 0) (Bhise 2013).

La matriz de correlación está conformada por las relaciones o interacciones entre las diferentes especificaciones técnicas. En estas celdas se indican la dirección y la intensidad de esa relación, utilizando números positivos o negativos según las variables se vean afectadas o interaccionen entre ellas (Bhise 2013; Jaiswal 2012; Yacuzzi y Martin 2003).

Las prioridades técnicas se obtienen al analizar las importancias relativas y absolutas de las especificaciones técnicas y su relación con las necesidades del consumidor establecida en la matriz de relación (Bhise 2013; Yacuzzi y Martin 2003).

La referencia de los competidores se determina mediante la relación de los productos de la competencia con las necesidades de los consumidores. Estos últimos son los que establecen las calificaciones de los productos de acuerdo con su percepción del nivel en que estos logran satisfacer sus necesidades (Bhise 2013; Fransceschini 2001).

Las metas de las especificaciones técnicas son determinadas por el equipo de trabajo mediante el análisis de todos los factores incluidos en la Casa de Calidad. De esta forma se establecen los valores de las variables o características del producto que deben ser alcanzados con el fin de que el producto cumpla con lo requerido por los consumidores (Bhise 2013; Yacuzzi y Martin 2003).

El desarrollo adecuado de esta fase y la obtención de datos del consumidor en la misma es crucial para el éxito de la totalidad del proceso de aplicación de la herramienta. Es importante mencionar que muchas organizaciones que aplican la técnica de QFD sólo llegan a desarrollar esta fase del proceso (Jaiswal 2012). Asimismo, dependiendo de la naturaleza del proyecto o del producto no todas las partes de la “Casa de Calidad”, que se muestran en la Figura 10, son utilizadas (ReVelle y Margetts 2009).

- Fase 2: Diseño del producto

El diseño del producto requiere ideas creativas e innovadoras. En esta etapa se crean los conceptos del producto, esto se realiza tomando las características del producto (requerimientos técnicos) obtenidas y establecidas en la matriz anterior como los “Cómo” y analizándolas en términos de los procesos que intervienen para satisfacerlas. Es decir, se

relacionan los requerimientos técnicos con los procesos productivos que garantizarán su cumplimiento (Jaiswal 2012; Yacuzzi y Martín 2003).

- Fase 3: Planeamiento del proceso

En esta etapa los procesos de manufactura se establecen mediante diagramas de flujo y los parámetros del proceso (o valores objetivo) se documentan (Jaiswal 2012). Aquí se establecen las relaciones entre los procesos (el “qué” procesos se consideran) con los subprocesos que los integran y el “cómo” asegurar operativamente que los procesos responden a las exigencias o requerimientos técnicos del producto (Yacuzzi y Martín 2003).

- Fase 4: Control del proceso y la calidad

En esta etapa se definen los parámetros de inspección y control de calidad, establecidos como indicadores que permiten monitorear el proceso, y se establecen los métodos que se usarán en cada una de las etapas del procesamiento. Esto se realiza al determinar los pasos críticos, es decir esas etapas del proceso que representan un mayor riesgo para el mismo. Para cada uno de estos pasos se establecen los parámetros de control, puntos de control, métodos de control, frecuencia de mediciones, métodos de revisión, entre otros factores que permitan mantener bajo control el proceso (Franseschini 2001; Jaiswal 2012).

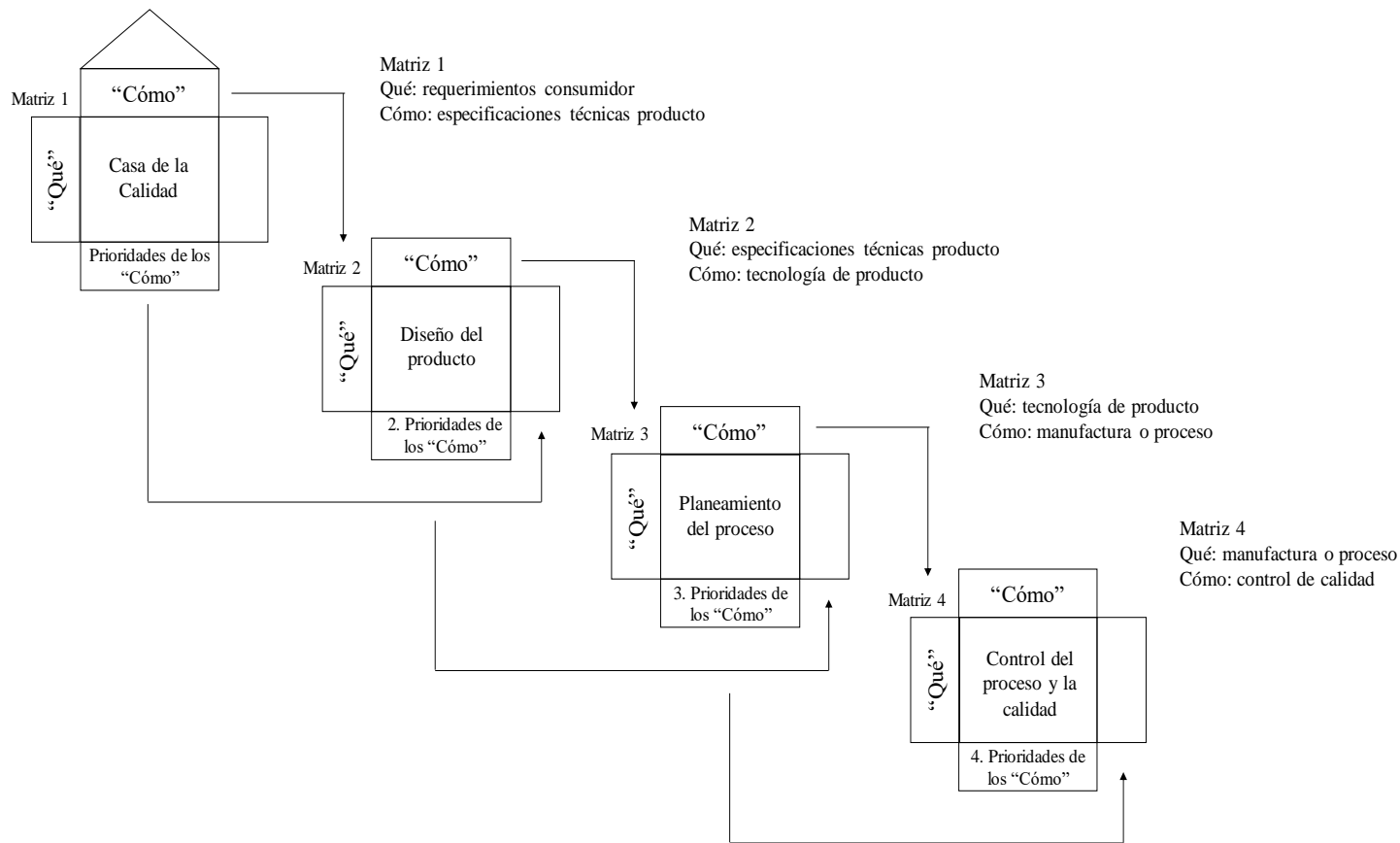


Figura 10. Fases de implementación de la técnica QFD (Adaptado de Yacuzzi y Martin 2003).

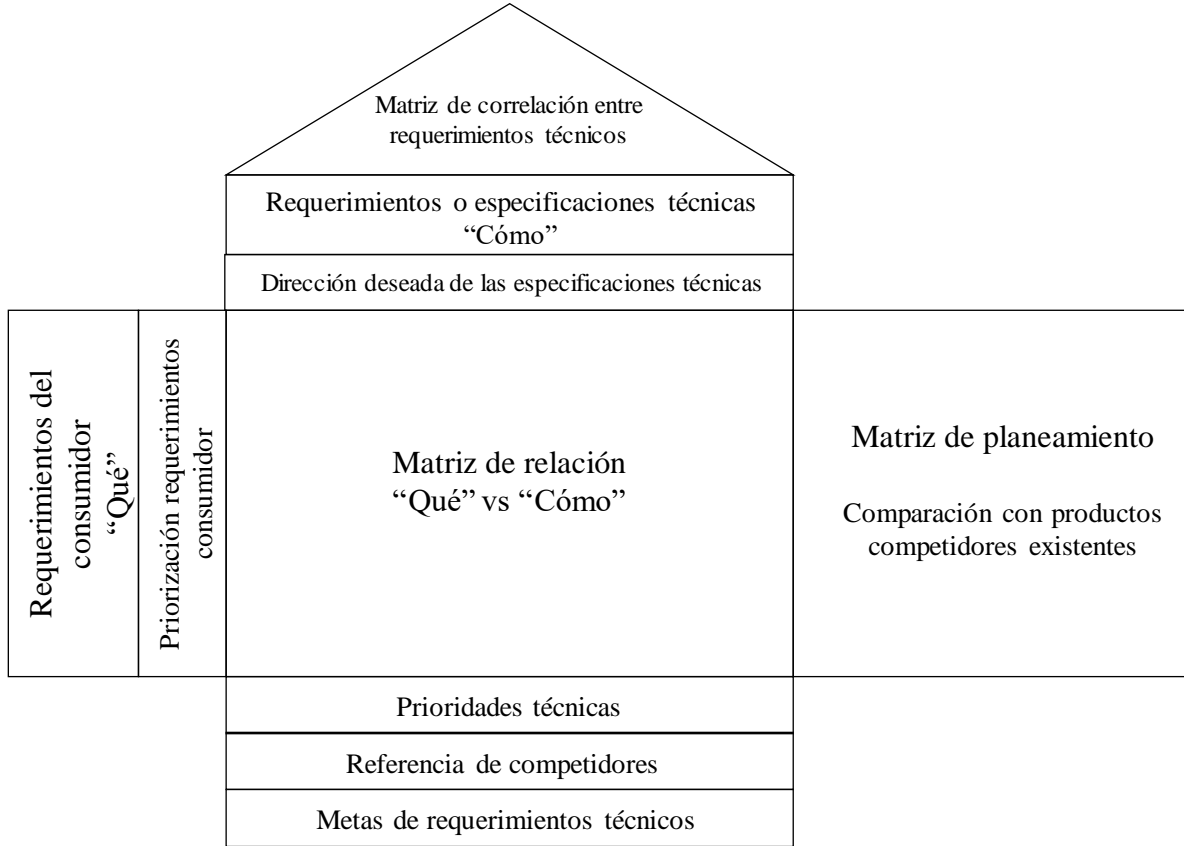


Figura 11. Casa de la calidad asociada a la primera fase de implementación de la técnica "Quality Function Deployment" (QFD) (Adaptado de Bhise 2013).

3.3.2 Ventajas del QFD

La herramienta "Quality Function Deployment" (QFD) es sistemática y estructurada, permite reunir mucha información útil para el proceso de desarrollo de un producto o proceso, documentarla y organizarla en una forma lógica. Esta información documentada es

fácilmente adaptable a los cambios que surjan en la compañía o en los requerimientos del consumidor en relación con el producto (Bouchereau y Rowlands 2000; ReVelle y Margetts 2009).

Debido a que es por naturaleza orientada a la voz del consumidor, permite asegurar que las características del producto sean acordes a los requerimientos del mismo. De esta forma se pueden establecer prioridades en cuanto a las características y requisitos técnicos tanto del producto como del proceso, permite identificar características importantes que deben ser controladas durante el proceso de desarrollo y de producción para asegurar que el producto cumpla con los requerimientos establecidos de acuerdo con el consumidor (Bouchereau y Rowlands 2000; ReVelle y Margetts 2009).

La implementación de la herramienta resulta en diversas mejoras en el diseño del producto y el desarrollo del proceso, entre los cuales destacan la reducción del ciclo de desarrollo, la reducción de la posibilidad de que surjan de problemas y de tener que realizar rediseños en la puesta en marcha de la producción, lo que puede significar una reducción de costos asociados al proceso. Asimismo, permite mejorar la calidad del producto y aumentar la satisfacción de los consumidores. De esta forma se incrementa la competitividad, ya que permite que la compañía ofrezca productos orientados a los consumidores y de gran calidad de una forma más rápida (Bouchereau y Rowlands 2000; Cristiano *et al.* 2001).

Otra de las ventajas asociadas al QFD es que expone al equipo de diseño del producto a todos los aspectos del desarrollo del proceso y las decisiones que se deben tomar a lo largo del mismo. El proceso de implementación de la herramienta educa al equipo de trabajo ya que sus miembros están al tanto de toda la información, previamente se han discutido muchos de los asuntos y se conocen los deseos y requerimientos de los consumidores en relación con el producto. De esta manera las decisiones a tomar en el proceso pueden tomar menos tiempo

y las oportunidades de que el producto final sea el correcto y esté acorde con lo requerido por el consumidor son mayores (Bhise 2013).

3.3.3 Limitaciones del método QFD

El uso de la técnica QFD puede ser un proceso muy largo, que requiere muchas horas de trabajo en equipo entre reuniones, discusiones, visitas a los consumidores, análisis de mercado de los productos competidores, desarrollo de objetivos, entre muchos otros aspectos que involucra el aplicar la técnica para el desarrollo de un producto o proceso (Bhise 2013).

El desarrollo de las diferentes matrices puede implicar procesar grandes cantidades de información y normalmente conlleva mucho tiempo, lo cual puede convertir el proceso en algo tedioso y complicado (Jaiswal, 2012).

El QFD es un método cualitativo, debido a la ambigüedad en la voz del consumidor muchas de las respuestas de los mismos pueden resultar difíciles de clasificar como demandas. Además de que muchas veces puede resultar difícil determinar la relación entre las demandas del consumidor y las propiedades técnicas asociadas al proceso de producción, por lo cual normalmente muchas organizaciones no extienden el uso de la técnica más allá de la primera fase o Casa de la Calidad (Jaiswal, 2012).

3.4 Focus group o grupos focales como técnica de investigación cualitativa

Un grupo focal, *focus group* o sesión de grupo focal es una discusión o entrevista grupal semiestructurada, informal y natural entre un grupo pequeño de personas, conducida por un moderador entrenado. Esta herramienta es una técnica de investigación cualitativa en la cual el moderador lidera, guía y desarrolla la discusión con el principal objetivo de que los participantes den sus opiniones en relación con un tema de investigación, un producto, un concepto, una problemática o algún tema de interés o relevancia tanto para el grupo como

para el o los investigadores involucrados (Fisk *et al.* 2009; Juan y Roussos 2010; Ramírez-Navas 2012).

Los grupos focales permiten conocer las percepciones, sentimientos, actitudes, creencias, experiencias, y reacciones en los participantes en torno al tema de investigación; lo cual no es fácil de lograr con otras técnicas o métodos. Esto se debe a que esta técnica se centra en la interacción dentro del grupo (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Lane 2016). Esta interacción permite que se dé una sinergia entre los participantes, lo cual hace que se revelen o surjan nuevas cuestiones menos tangibles. A la vez esto permite incrementar el entendimiento, la conciencia y empatía con el grupo y sus percepciones en torno al tema de interés (McDonagh-Philp y Bruseberg 2000; Rabiee 2004).

Esta técnica puede ser utilizada con diferentes propósitos y en distintos campos de aplicación, los cuales van desde la psicología, la sociología y otras disciplinas científicas hasta ámbitos no científicos como las estrategias de mercadotecnia. En relación con estas últimas destaca el uso como parte de la investigación de mercado, particularmente en la evaluación de productos nuevos y en estudios de publicidad (Juan y Roussos 2010).

Las sesiones de grupo focal resultan útiles para generar ideas para una estrategia de publicidad, posicionamiento e implementación de un producto. Inclusive si el prototipo de un producto requiere ser probado en condiciones que asemejen a las reales, pueden ayudar a determinar aspectos como el nombre del producto, cómo posicionarlo, cómo hacerle publicidad o cómo distribuirlo, entre otros. Asimismo, permite descubrir la percepción y reacción de las personas o potenciales consumidores respecto a ese nuevo producto (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

En el caso del desarrollo de productos, las sesiones de *focus group* pueden ser utilizadas en las distintas etapas del proceso. Son útiles en la determinación inicial de los objetivos ya que permiten conocer las necesidades del consumidor. Pueden ser usadas en una etapa posterior para generar ideas para el diseño del producto, originadas desde el punto de vista de los potenciales consumidores. De la misma forma, pueden utilizarse en etapas donde se requiera la evaluación de prototipos (McDonagh-Philp y Bruseberg 2000).

3.4.1 Características de las sesiones de grupo focal y aplicación de la técnica

- Definición de los objetivos

Antes de aplicar la técnica como parte de un proceso de investigación es importante definir de forma clara el propósito de las sesiones que se van a llevar a cabo, su papel dentro de la investigación y su relación con los objetivos de la misma. Esto con el fin de aprovechar al máximo las sesiones y obtener de las mismas la mayor cantidad de información provechosa y acorde con los objetivos propuestos (Charness *et al.* 2011). Además, se debe definir qué tipo de información se requiere obtener de las sesiones y en particular de los participantes de estas, es decir esa información necesaria para satisfacer los objetivos de la investigación. Esta etapa es crucial ya que guiará la investigación y por ende la logística de las sesiones (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

- Reclutamiento de los participantes

Una vez definidos estos aspectos se procede al reclutamiento de los participantes de la o las sesiones que se llevarán a cabo. Para esto es necesario tener en cuenta aspectos como el número de participantes, las características de los participantes y la forma en que se van a reclutar.

Con respecto al tamaño de los grupos diferentes autores proponen diversos rangos de participantes que van desde los 3 a los 12. Sin embargo, la mayoría de los autores recomienda que el tamaño del grupo no debe ser muy pequeño, menor a 6 participantes, ya que puede limitar la conversación y la diversidad dentro del grupo, además de que puede que la sinergia que se mencionó anteriormente no se dé y la información recolectada no sea lo suficientemente provechosa y adecuada, ya que una o dos personas pueden tender a controlar la conversación. Por otro lado, tampoco debe ser muy grande, mayor a 10-12 participantes, ya que el grupo se puede volver inmanejable por el moderador, se pueden crear pequeños grupos y se dificulta el que todos los participantes tengan una adecuada participación en la discusión. El tamaño del grupo focal va a depender del nivel de profundidad que se le va a dar a la entrevista por parte del investigador y de los objetivos mismos de la investigación (Charness *et al.* 2011; Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Rabiee 2004).

En el caso de las características de los participantes es importante que estas vayan acordes con los objetivos de la investigación y de la información que se quiera obtener de la sesión. Entre las características que se deben considerar se encuentran la edad, el sexo, la etnicidad, las condiciones socioeconómicas, el estatus social, el estado civil, el nivel de educación, el lugar de residencia, la ocupación, entre otras. Para esto es importante crear un perfil de los participantes con el fin de generar criterios de inclusión y exclusión de los mismos para asegurar que el o los grupos no sean demasiado homogéneos o heterogéneos, y evitar que no permitan la obtención de datos confiables y el establecer tendencias y reacciones a partir de estos (Fisk *et al.* 2009; Juan y Roussos 2010).

Con respecto a la homogeneidad o heterogeneidad del grupo también se encuentran diferentes opiniones entre los autores, pero en general esto va a depender del estudio en cuestión. Cuando se requiere explorar experiencias compartidas, es aconsejable que el grupo

de participantes sea homogéneo ya que facilitará la conversación entre ellos. Sin embargo, la heterogeneidad puede ser ventajosa también al permitir la profundización con base en diferentes perspectivas del problema (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

En este sentido entonces se debe tener en cuenta que el grupo de participantes debe ser homogéneo en cuanto a sus características generales, de forma que se facilite la conversación entre ellos, pero no debe ser completamente homogéneo ya que no se expresarán diferentes opiniones. En el grupo debe de haber cierta heterogeneidad para incrementar el rango de opiniones que se pueden obtener, pero no tanta (en términos de género, educación, nivel socioeconómico), ya que esas grandes diferencias podrían generar un impacto en las contribuciones de los participantes e incluso generar roces o choques en el desarrollo de la sesión que entorpecen la logística de la actividad y por ende la obtención de información útil para la investigación en cuestión (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Fisk *et al.* 2009).

El reclutamiento de los participantes no debe ser de forma aleatoria y puede darse de diferentes formas siguiendo técnicas de muestreo intencional, donde los participantes son seleccionados por el investigador si calzan con el perfil establecido según los objetivos y el tema de investigación. Se dice que esta forma de muestreo permite al investigador encontrar los participantes que le producirán la cantidad y calidad de información en las sesiones que resulte más provechosa. Entre las formas que se usan para ese reclutamiento destacan el contacto vía telefónico, el muestreo de bola de nieve o muestreo por referidos (donde algunos participantes ya seleccionados reclutan nuevos participantes entre sus conocidos), el muestreo por recomendación (participantes que cumplen con el perfil requerido son

recomendados por otras personas) o el muestreo de listas existentes con bases de datos de los participantes (Dilshad y Latif 2013).

Para los distintos tipos de reclutamiento normalmente se recomienda preparar un cuestionario para seleccionar los participantes de acuerdo con el perfil establecido. Este cuestionario permite obtener información general relacionada con los hábitos y patrones de consumo, el conocimiento de productos similares en el mercado, el comportamiento y las actitudes de los participantes, así como características demográficas estándar de los mismos (Malhotra y Birks 2006).

- El moderador

Otro aspecto por considerar, que es vital para la exitosa aplicación de la técnica de sesiones de grupo focal, es el papel que juega el moderador dentro de la misma; ya que este debe ser capaz de manejar las interacciones dentro del grupo de forma que se cree un ambiente en el cual los participantes, que usualmente no se conocen entre ellos, se sientan relajados y con la libertad de expresar sus percepciones, pensamientos, ideas, sentimientos, emociones y reacciones en torno al tema de interés. Un moderador experimentado, calificado y capacitado es esencial para asegurar la calidad de los datos generados de la discusión (Dilshad y Latif 2013; Rabiee 2004).

El moderador debe ser capaz de conducir la sesión de forma tal que no emita juicios de criterio que influyeran la discusión, es decir no juzgar o validar las respuestas de los participantes porque lo que se quiere es fomentar que estos expresen diversidad de opiniones e ideas. A la vez, debe tener el cuidado de no inhibir o irritar a los participantes, así como de identificar los roles que van tomando los participantes (el líder, el influenciador, el discutiendo, el influenciado) y manejarlos de forma que no afecten o influyan en la dinámica

de la discusión. Además, es el responsable de manejar el tiempo de la sesión de modo que permita a los participantes responder a las preguntas, mantenerlos en el tema y guiarlos a través de la discusión según lo planeado previamente (Fisk *et al.* 2009; Juan y Roussos 2010).

Asimismo, el moderador deberá promover un clima abierto y de libre discusión pero que a la vez esté orientado por objetivos claros, temas y preguntas estructuradas de forma que se cubran todos los aspectos necesarios para cumplir con los objetivos planteados inicialmente y se obtenga la mayor cantidad de información útil de los participantes. Para esto es recomendable preparar con anticipación una guía o guion de preguntas; estas deben organizarse por temas siguiendo un orden lógico, deben ser concretas, estimulantes y flexibles y en la medida de lo posible guiar la discusión de lo más general a lo más específico (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Fisk *et al.* 2009; Juan y Roussos 2010).

La guía de la sesión define la estructura de esta, por lo cual se incluyen los objetivos de la misma, los diferentes temas a tratar, las preguntas por hacer, el flujo de la discusión, sugerencias para fomentar la discusión, ayudas visuales y estímulos externos a utilizar, la duración estimada para cada actividad, entre otros aspectos. Las preguntas deben formularse de forma que sean fácilmente entendidas por los participantes, usando términos y palabras comunes (McDonagh-Philp y Bruseberg 2000).

Es recomendable y resulta útil que durante la sesión se combine la discusión con otras actividades (cuestionarios, ejercicios como lluvias de ideas, dibujo, entre otras), esto para estimular a los participantes de diferentes formas, obtener diversos tipos de datos y poder mantener el interés de los participantes. Además, en las sesiones puede integrarse la evaluación de productos, dependiendo de la etapa de desarrollo de producto en la que se encuentra el proyecto y los objetivos del mismo. En etapas iniciales, donde normalmente no se tienen prototipos disponibles, el principal objetivo será generar ideas iniciales para el

proyecto; mientras que en etapas posteriores la evaluación de los prototipos será el principal propósito. Las sesiones no deben tratar de abarcar mucho o muy poco del tema de interés y el tiempo de discusión y número de actividades deben estar equilibrados (McDonagh-Philp y Bruseberg 2000).

- Duración de la sesión

En cuanto a la duración de las sesiones se recomienda que esté en el rango de una y dos horas. Esto está relacionado con el tiempo requerido para las observaciones de apertura y cierre de la sesión, la complejidad del tema en cuestión, el desarrollo de las preguntas según los objetivos y la guía establecidos previamente, el número de preguntas y de participantes. Se recomienda que la sesión no sea muy larga debido a la capacidad de las personas para mantener la atención, que normalmente se pierde con la extensión en la duración de la sesión (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Rabiee 2004).

- Escogencia del lugar

La escogencia del lugar donde se llevará a cabo la sesión debe hacerse tomando en cuenta la conveniencia para los participantes. Sin embargo, es importante considerar aspectos básicos como que debe ser lo suficientemente grande para acomodar a los participantes, ser de fácil acceso y libre de interferencias. Es decir, permitir a los participantes sentirse cómodos, por lo que la luz, los asientos, la acústica y el ambiente en general deben ser aptos para esto (Charness *et al.* 2011). Es recomendable que el sitio donde se realiza la sesión cuente con una mesa de conferencias o tenga una configuración similar, esto para asegurar que los participantes puedan verse, escucharse e interactuar de forma adecuada entre ellos y con el moderador (Fisk *et al.* 2009).

- Análisis e interpretación de los datos

Para lograr un buen análisis de los datos e información generada, es importante que la sesión sea registrada con precisión. Esto puede hacerse de dos formas, mediante la toma de notas o mediante la grabación de la sesión. Se recomienda que se utilicen ambas formas ya que pueden complementarse entre ellas, el tomar notas permite hacer anotaciones en cuanto a actitudes, percepciones, formas de expresar las ideas, entre otros aspectos importantes que es posible detectar mediante la interacción del moderador y la persona encargada de tomar notas con los participantes. Mientras que las grabaciones permiten repasar sobre aspectos que pudieron pasarse por alto en la sesión, además de que se puede ampliar los datos obtenidos de las notas, profundizar en las ideas expresadas por los participantes y así enriquecer la información y el reporte final (Dilshad y Latif 2013).

Las técnicas cualitativas de análisis y en particular las sesiones de grupo focal generan grandes cantidades de datos, por lo cual se debe establecer una estrategia para analizar esa información y aprovecharla de la mejor forma para los objetivos de la investigación. El proceso de análisis cualitativo tiene como objetivo darles significado a los datos, no es una simple tabulación de la información obtenida de las grabaciones y las notas tomadas, implica también una interpretación cualitativa de esos datos, va más allá de las respuestas concretas de los participantes e incluye toda la interacción e ideas que fueron surgiendo producto de la discusión entre los mismos. Asimismo, implica poseer un criterio analítico capaz de detectar las relaciones entre lo expresado por los participantes tanto en forma individual como a nivel grupal (Juan y Roussos 2010; Rabiee 2004).

Usualmente el primer paso es la transcripción de las grabaciones y debe hacerse en la medida de lo posible apenas terminadas las sesiones. El nivel de detalle requerido de las transcripciones va a depender de los objetivos de la investigación y de la especificidad con

la que se quieran reportar los resultados obtenidos (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009). Una vez transcrita la sesión se debe complementar con la información recolectada mediante la toma de notas durante el desarrollo de la misma, con el fin de integrar los datos obtenidos y enriquecer el informe final (Charness *et al.* 2011).

Para el reporte final de la información obtenida se pueden usar diferentes técnicas, pero la intención principal debe ser el identificar categorías o temas comunes en las respuestas brindadas por los participantes a las preguntas hechas durante la sesión. Es recomendable que para el análisis se combine el reporte de resumen de las ideas principales con citas textuales de lo expresado por los participantes en sus propias palabras. Sin embargo, al elaborar el reporte se debe tener el cuidado de balancear las citas directas, la interpretación y el resumen de la información obtenida (Charness *et al.* 2011; Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

3.4.2 Ventajas de las sesiones de grupo focal

Esta técnica cualitativa tiene diversas ventajas entre las que destacan el hecho de que permite generar una gran cantidad de información en relativamente poco tiempo y a un costo relativamente menor en comparación con otras técnicas cualitativas. Además, es más fácil de administrar y la forma de comunicación e interacción del grupo es más natural, ya que los participantes tienen la oportunidad de expresar lo que quieren y piensan acerca del tema de interés, no se les limita a elegir entre opciones restringidas como se hace en las encuestas normalmente (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

Asimismo, una de las grandes ventajas señalada por varios autores radica en el sinergismo que se da producto del desarrollo de la sesión. Esto se debe a que los participantes no se ven limitados a solamente responder las preguntas planteadas por el moderador, sino

que se fomenta la interacción entre los mismos. Esto enriquece la calidad de la información obtenida ya que las observaciones emitidas por un participante hacen que los demás miembros del grupo reaccionen y de ahí se produzcan diferentes respuestas, emociones, sensaciones o percepciones (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Juan y Roussos 2010).

Además, las intervenciones de los participantes pueden hacer que se exploren asuntos que no se hayan anticipado, se generen nuevas ideas o conexiones que en otros modelos de investigación como los de preguntas cerradas se pasarían por alto. Las conclusiones dadas por un grupo de personas interactuando alrededor de un tema en cuestión, producirán ideas más ricas y completas que lo que normalmente se obtendría de entrevistas individuales hechas a varias personas (Dilshad y Latif 2013; Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

Las sesiones de grupo focal permiten sistematizar la información de conocimientos, percepciones, actitudes, prácticas sociales y experiencias de los participantes que difícilmente pueden obtenerse con otras técnicas. Esto logra dar a conocer las necesidades de los consumidores en diferentes áreas y así enriquecer y mejorar la investigación en cuestión (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

3.4.3 Limitaciones de los grupos focales

Una de las limitaciones asociadas a la técnica es el hecho de que al realizarse con grupos pequeños es difícil que los resultados que se obtienen sean generalizables a poblaciones más grandes, es decir se dificulta lograr una representatividad. Esto solo es posible de lograr si se seleccionan adecuadamente los participantes de forma que representen de la mejor forma posible a la población en estudio o de interés para la investigación y se

realizan varias sesiones para aumentar la posibilidad de obtener mayor representatividad (Escobar y Bonilla-Jiménez 2009; Juan y Roussos 2010).

Otro de los aspectos que se señala es la posibilidad de que las respuestas de algunos de los participantes sean sesgadas. Esto se produce debido a la presencia de un miembro dominante en el grupo o por el mismo moderador, a veces los participantes pueden sentirse presionados o inhibidos por las normas de grupo y no expresar libremente sus opiniones o incluso en ocasiones se pueden conformar con las opiniones expresadas por otros participantes, aunque no estén del todo de acuerdo con ellas. En estos casos la solución está en que el moderador tenga la capacidad y habilidad de manejar esos comportamientos y favorecer una interacción que permita a todos los participantes aportar sus ideas en forma libre y sin sentirse presionados (Dilshad y Latif 2013, Escobar y Bonilla-Jiménez 2009).

4. Objetivo 1: Determinación de las formulaciones de los prototipos para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya

4.1 Localización

Las pruebas de desarrollo de las formulaciones de los prototipos de la bebida de mora, linaza y soya se llevaron a cabo en la Planta Piloto del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), ubicada en la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca.

4.2 Materias primas

Para la elaboración de los prototipos de la bebida se utilizaron las materias primas que se mencionan en el Cuadro I, con su respectiva forma de uso y proveedor.

Cuadro I. Materias primas utilizadas en la elaboración de los prototipos de la bebida con su respectiva forma de uso y proveedor.

Materia prima	Forma de uso	Proveedor
Mora orgánica	Congelada	Didier Jiménez, productor zona de Dota, San José, Costa Rica
Linaza	En grano	Grupo Jinca
Soya	En polvo	SoyaPac (CETEBEDI S.A.)
Estabilizante (mezcla de gomas naturales)	En polvo	Insumos Químicos y Servicios de Costa Rica (IQS)
Edulcorante (a base de estevia)	En polvo	Grupo Aseal

4.3 Equipos

En el Cuadro II se detallan los equipos utilizados en la elaboración de los prototipos de la bebida en las diferentes pruebas llevadas a cabo.

Cuadro II. Equipos empleados en la elaboración de los prototipos de la bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.

Equipo	Especificaciones
Molino tornillo sin fin	Marca: Kramer Grebe Wetter Alfa Laval País de origen: Alemania Modelo: SMWZ. 1275 Número de serie: 1001 Número de activo: 134390
Hidroprensa	Marca: Enotecnica Pillan País de origen: Italia Modelo: Carezza Número de serie: ND Número de activo: 228848
Licuadora industrial para molienda de linaza	Marca: Quantum Pro OmniBlend I País de origen: China Modelo: TM-767A Número de serie: 50683851 Número de activo: CITA-SP/140
Emulsificador	Marca: Silverson País de origen: Estados Unidos Modelo: AXR Número de serie: AXR10445 Número de activo: 107573
Pasteurizador tubular	Marca: MicroThermics País de origen: Estados Unidos Modelo: UHT/HTST Lab 25 EHVH Número de serie: 3216643.1 Número de activo: 228867
Cocina de gas	Marca: Supergas País de origen: ND Modelo: ND Número de serie: ND Número de activo: ND

ND: no disponible

4.4 Metodología

4.4.1 Exploración preliminar de mercado y pruebas preliminares de prototipos de la bebida

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica técnica, científica y comercial sobre las bebidas disponibles en el mercado, elaboradas a partir de mora, soya y linaza, con el objetivo de tener una base para el desarrollo de los prototipos y diferentes formulaciones.

A partir de la exploración preliminar de los productos disponibles en el mercado llevada a cabo y una revisión bibliográfica acerca de las propiedades de las materias primas, sus características, el contenido de compuestos bioactivos, entre otros aspectos de caracterización de las mismas, se procedió a realizar pruebas preliminares de formulaciones de los prototipos con el fin de definir la forma y la proporción en que estos se iban a adicionar en la bebida (Acosta-Montoya *et al.* 2010; Ballesteros 2015; Bowen-Forbes *et al.* 2010; Corbo *et al.* 2014; Granato *et al.* 2010; He y Chen 2013; Landete 2011; Manach *et al.* 2004; Markovic *et al.* 2015; Murphy 2004; Ostojich y Sangronis 2012; Pandey & Rizvi 2009; Shahidi y Alasalvar, 2016).

4.4.2 Determinación del contenido de compuestos cianogénicos en la linaza

En relación con la linaza, se ha reportado que la semilla puede contener compuestos cianogénicos que se encuentran en forma de glucósidos cianogénicos. Estos compuestos son precursores del ácido cianhídrico (HCN), el cual tiene un efecto tóxico para el ser humano si se consume en concentraciones iguales o superiores a 0,5-3,5 mg/kg de peso corporal. Debido a la preocupación por su posible efecto perjudicial para la salud, se han propuesto diversos métodos de disminución del contenido de estos compuestos que pueden ser aplicados en el desarrollo de la bebida a desarrollar. Asimismo, resulta de gran importancia la determinación

del contenido de estos compuestos en la materia prima utilizada con el fin de asegurar que el consumo de la bebida no represente un riesgo para la salud de los consumidores (Ostojich 2010; Russo y Reggiani 2014).

Esta determinación se realizó por triplicado siguiendo el método descrito por Bradbury *et al.* (1994), usando una hidrólisis ácida seguida de una reacción colorimétrica y su determinación mediante espectrofotometría.

4.4.3 Desarrollo de las formulaciones definitivas de los prototipos

4.4.3.1 Uso de la técnica QFD

En primer lugar, se llevaron a cabo entrevistas a 10 personas, 5 mujeres y 5 hombres, potenciales consumidores de bebidas disponibles en el mercado con características similares a la que se desarrolló. Los participantes, de clase social media a media-alta, eran residentes en el Gran Área Metropolitana, con edades entre los 31 y 59 años, interesados por el consumo de bebidas saludables (a base de frutas preferiblemente) y preocupados por el cuidado de su salud.

Esto se realizó con el fin de recopilar información para orientar el desarrollo de la bebida, comprender el tipo de bebidas que compran y consumen, las razones por las cuales las consumen, los beneficios fisiológicos que buscan al ingerir estos productos, las preferencias en cuanto a sabor, color, textura, apariencia y demás características sensoriales (Jaiswal, 2012). En el apartado 10.1 (sección Anexos) se incluye una guía de preguntas que se utilizó para recopilar la información de las entrevistas a los consumidores.

Con la información recopilada mediante las entrevistas a los potenciales consumidores se construyó la “Casa de la Calidad”, característica de la herramienta “Quality Function Deployment” (QFD), ver Figura 15 en el apartado 4.5.3. Utilizando los

requerimientos o las necesidades detectadas de los consumidores y la priorización establecida por ellos, se lograron determinar los requerimientos técnicos adecuados para satisfacer esas necesidades y que el desarrollo del producto se realizara guiado por “la voz del consumidor”.

4.4.3.2 Determinación de las formulaciones de los prototipos

Con base en la información recopilada de las entrevistas, la revisión bibliográfica y el uso de la herramienta “Quality Function Deployment” (QFD) se determinaron las formulaciones de los prototipos de la bebida; esto haciendo variar los porcentajes de las materias primas, la forma en que se adicionan, así como los ingredientes y aditivos requeridos para el desarrollo de la bebida.

Delimitadas las formulaciones, se establecieron las condiciones de procesamiento requeridas para garantizar la producción de prototipos inocuos, con características aceptables para el consumidor y conteniendo los compuestos bioactivos de interés. Estas condiciones se ajustaron para obtener una bebida que sea almacenada en refrigeración (en el caso de la bebida pasteurizada) o estable a temperatura ambiente (en el caso de la bebida procesada mediante esterilización comercial) (ver secciones 4.4.5 y 4.5.4). En el primer caso, la bebida fue envasada en botellas de plástico del tipo politereftalato de etileno (PET) y en el segundo en botellas de vidrio, ambas de 375 mL.

De las diferentes formulaciones desarrolladas y probadas se seleccionaron las más promisorias y con las mejores características, que permitieran cumplir con los requisitos previamente establecidos y derivados de la aplicación de la técnica QFD. De esta forma, se obtuvo como producto final la formulación de los tres prototipos seleccionados con su debido flujo de proceso. Estas fueron las formulaciones que posteriormente se sometieron a evaluación del efecto de la intensidad del tratamiento térmico (como se describirá en el

apartado 5) y a evaluación por medio de la técnica de análisis sensorial cualitativo: sesiones de grupo o *focus group* (como se describirá en el apartado 6).

4.4.5. Descripción de las etapas del flujo de proceso definidas para la de elaboración de los prototipos seleccionados

4.4.5.1 Procesamiento de las materias primas utilizadas

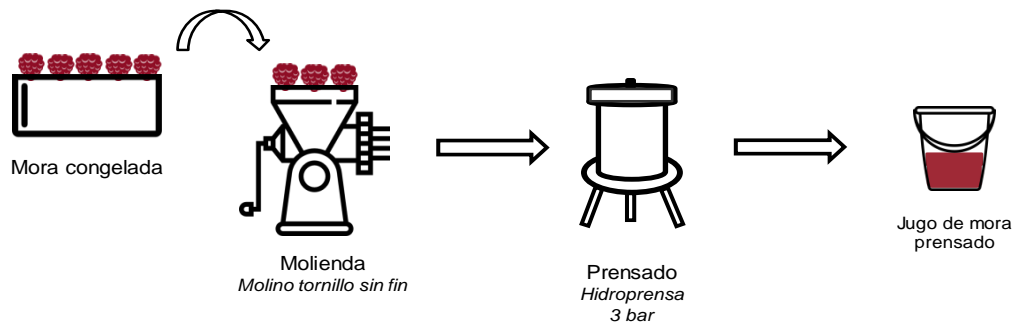
Las etapas de procesamiento de las materias primas, previas a la elaboración de las bebidas se describen a continuación y se resumen en la Figura 12.

Mora

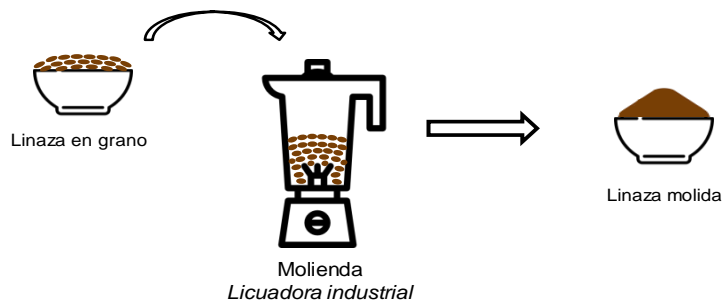
- Molienda: la mora se sometió a un proceso de molienda utilizando el molino de tornillo sin fin para ello. Este proceso se llevó a cabo en una sola etapa.
- Prensado: una vez molida la mora, se utilizó una hidroprensa para prensarla, el proceso se realizó a una presión de 3 bar y en una sola etapa. De aquí se obtuvo el jugo de mora que se utilizó para elaborar las bebidas con un porcentaje de rendimiento del 68%.

Linaza

- Molienda: la linaza en grano fue molida utilizando una licuadora industrial. El proceso se realizó por lotes, según la capacidad de la licuadora.



a. Procesamiento del jugo de mora



b. Procesamiento de la linaza

Figura 12. Procesamiento de las materias primas para su utilización en la elaboración de los prototipos de la bebida funcional.

4.4.5.2 Elaboración de los prototipos seleccionados

A continuación, se describen las etapas involucradas en el proceso de elaboración de los prototipos, procesados mediante dos tratamientos térmicos (pasteurización y esterilización comercial) y se resumen en las Figuras 13 y 14.

- Reconstitución: la soya en polvo se reconstituyó con agua en una proporción de 6:1 de agua:soya; esto según las indicaciones del proveedor de la soya utilizada. De esta forma se obtuvo la “bebida de soya” utilizada en el proceso. Esta etapa se llevó a cabo con ayuda de un emulsificador para asegurar obtener una mezcla homogénea.

- Mezclado 1: en la primera etapa de mezclado se añadieron los ingredientes secos (linaza molida, estabilizante y edulcorante) y el agua de la formulación a la bebida de soya preparada en la etapa anterior. Estos ingredientes fueron mezclados con ayuda de un emulsificador con el fin de asegurar la correcta dispersión de los mismos y con ello la obtención de una mezcla homogénea.

- Mezclado 2: en una segunda etapa de mezclado se añadió el jugo de mora prensado previamente preparado. Este ingrediente debió añadirse en una segunda etapa de mezclado para evitar la posible separación de fases que se da producto de la interacción del jugo de mora (pH ácido) con las proteínas de la soya, que provoca que estas precipiten.

A partir de la siguiente etapa, el procesamiento para la bebida pasteurizada y la esterilizada comercialmente se diferencia, por lo que estas etapas son descritas para cada bebida por aparte y esas diferencias se muestran en las Figuras 13 y 14 respectivamente

Bebida pasteurizada

- Tratamiento térmico de pasteurización: fue llevado a cabo en un pasteurizador tubular a 71,1 °C por 3 s (Mazzotta 2001).

- Envasado: la bebida se envasó en botellas de plástico PET de 375 mL a una temperatura de 25-30 °C que es la temperatura a la que sale el producto del equipo donde se llevó a cabo la pasteurización.

- Enfriamiento: una vez envasadas las bebidas, se colocaron en un baño de hielo para su enfriamiento hasta alcanzar valores de temperatura de refrigeración (~5 °C), condiciones a las cuales se almacenó el producto terminado.

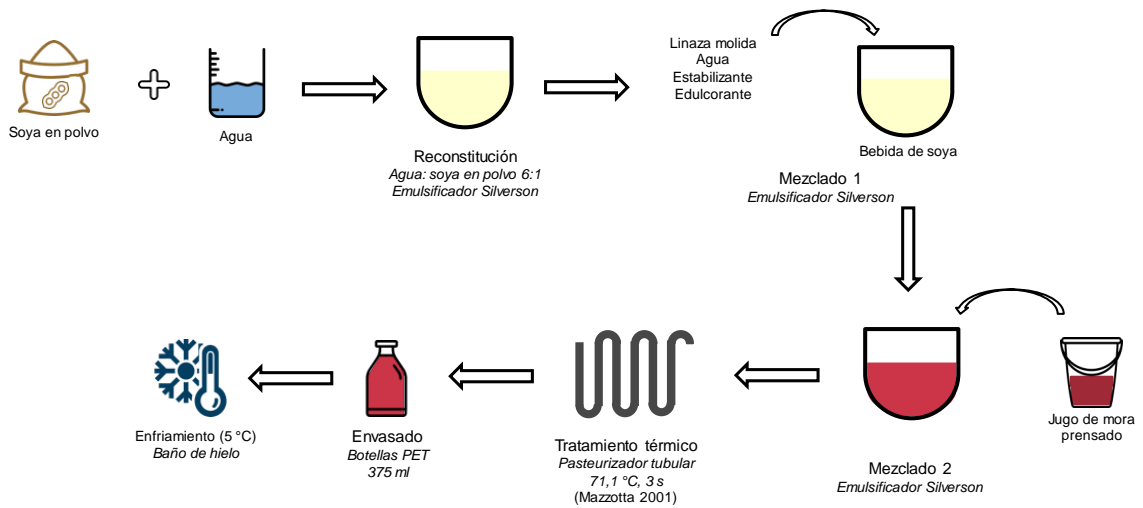


Figura 13. Flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de la bebida funcional procesada mediante tratamiento térmico de pasteurización.

Bebida esterilizada comercialmente

- Tratamiento térmico de esterilización: el proceso de esterilización y llenado en caliente fue llevado a cabo en una cocina de gas, la bebida se calentó hasta alcanzar una temperatura de 87 °C (Pflug 1998), con agitación manual y constante. Una vez alcanzada esta temperatura se procedió a envasar el producto.
- Envasado: la bebida se envasó en caliente (87 °C) en botellas de vidrio de 375 mL y el envase se tapó e invirtió inmediatamente y se mantuvo en esa posición por al menos 5 minutos, esto para asegurar la esterilización de todo el envase y con ello la inocuidad del producto.
- Enfriamiento: se llevó a cabo de forma gradual a temperatura ambiente hasta que la temperatura del envase fuera la adecuada para sumergirlo en un baño de agua fría. La bebida

fue enfriada hasta alcanzar la temperatura ambiente, condiciones a las cuales se almacenó el producto terminado.

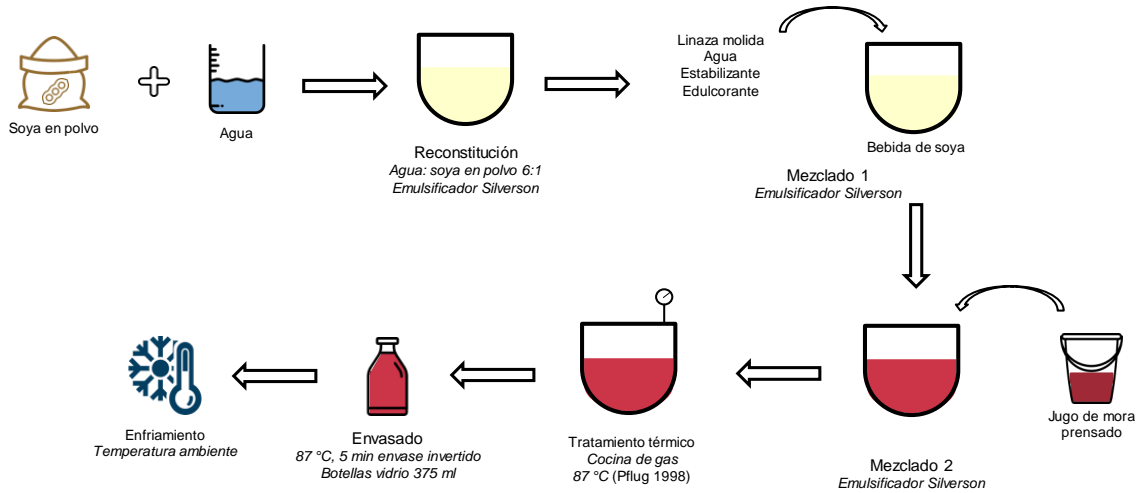


Figura 14. Flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de la bebida funcional procesada mediante tratamiento térmico de esterilización comercial.

4.5 Resultados y discusión

4.5.1 Exploración y pruebas preliminares de prototipos de la bebida

En primer lugar, se realizó una prueba utilizando, en partes iguales, bebidas comerciales de soya, mora y linaza, las tres en forma líquida. En este caso la proporción de los ingredientes utilizada provocó una separación de fases, lo cual condujo a realizar una nueva revisión bibliográfica que permitiera determinar los cambios en las proporciones de los ingredientes y la forma de adición de estos para evitar posibles problemas en este sentido.

De acuerdo con la nueva revisión bibliográfica llevada a cabo se definió que la bebida debía contener al menos un 25% de contenido de mora para observar los posibles efectos

beneficiosos a la salud derivados de los compuestos funcionales de esta fruta. Esto se definió basado en un estudio científico llevado a cabo con el fin de evaluar el efecto del consumo de bebidas de mora en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina. En este estudio se encontró que el consumo de una bebida de mora con una concentración de 25% de jugo microfiltrado de mora produjo una reducción significativa en la glucosa, los triacilgliceroles y el colesterol de las ratas (Azofeifa *et al.* 2016).

Asimismo, se encontró que los compuestos bioactivos de la linaza se localizan principalmente en la semilla y no en el mucílago de la misma. Por esta razón, para que la bebida tuviera estos compuestos bioactivos fue necesario añadir la linaza en forma de semilla (molida) y no sólo el mucilago que normalmente se extrae de la misma mediante remojo con agua en caliente para preparar las bebidas de linaza disponibles a nivel comercial (Edel *et al.* 2015; Smeds *et al.* 2012).

En relación con la proporción en la que se añadiría la soya, esta se determinó con base en los hallazgos de la nueva revisión bibliográfica, específicamente en productos similares que contenían como base una bebida de soya en combinación con jugos de frutas. En este sentido se encontró que normalmente la proporción en que se utiliza la bebida de soya es del 30 al 45%, por lo que se decidió que se utilizarían como base esas proporciones ya probadas en productos similares. Además, se decidió que se utilizaría una bebida de soya en polvo disponible en el mercado proporcionada por una empresa que la comercializa en el país (Dulebohn y Carlotti 2005; New 2015; Rodríguez-Roque *et al.* 2014).

También producto de la revisión bibliográfica se encontró que, en un estudio realizado con 18 consumidores voluntarios sanos, se determinó que no hay un efecto significativo sobre la biodisponibilidad y el metabolismo de los elagitaninos presentes en la granada, producto de mezclar proteína aislada de soya con un jugo de esta fruta (Yang *et al.*

2016). Este hallazgo resulta de especial importancia debido a que la bebida desarrollada contiene soya y mora, por lo que hay indicio de que la proteína de la soya no tendría un efecto sobre el metabolismo y biodisponibilidad de los elagitaninos presentes en la mora.

Otros de los factores tomados en cuenta para la determinación de las formulaciones relacionados con la forma de adición, la proporción de las materias primas y los principales retos técnicos se detallan en el Cuadro V que se presenta y discute más adelante en este capítulo.

4.5.2 Determinación del contenido de compuestos cianogénicos en la linaza

Cuadro III. Contenido de compuestos cianogénicos determinados mediante el método descrito por Bradbury *et al.* (1994), en la linaza utilizada como materia prima en la elaboración de los prototipos de la bebida.

Réplica	Contenido de compuestos cianogénicos (mg HCN/kg linaza molida)
1	13,9 ± 1,1
2	12,1 ± 1,1
3	12,5 ± 1,1
Promedio	12,8 ± 1,1

Los resultados mostrados en el Cuadro III indican que el contenido de compuestos cianogénicos en la linaza utilizada como materia prima se encuentran por debajo de los valores reportados en la literatura, estos valores varían según la variedad de linaza analizada y el método de análisis utilizado. Entre los valores reportados se encuentran: 198,42 mg HCN/kg (en base húmeda) en linaza cultivada en Pakistán (Imran *et al.* 2013), 157,68 mg HCN/kg en linaza cultivada en China (Yang *et al.* 2004), 138,8 mg HCN/kg (Feng *et al.*

2003) en linaza cultivada en Canadá, 129 a 204 mg HCN/kg en linaza cultivada en Canadá (Chadha *et al.* 1995).

Según Ballhorn (2011), existen muy pocas variedades de plantas con contenidos elevados de compuestos cianogénicos de forma natural. En general, las nueces, semillas o productos derivados de las mismas, con contenidos de compuestos cianogénicos y destinadas al consumo humano, si son procesadas en forma adecuada contienen cianuro en cantidades por debajo del límite crítico o dosis letal.

Cuando el ácido cianhídrico (HCN) es consumido en pequeñas dosis (por debajo de la letalidad), puede ser metabolizado en forma eficiente por los mamíferos. El HCN es convertido en tiocianato, el cual no tiene un efecto tóxico, por el organismo mediante acción de la enzima mitocondrial rodanasa. Como se mencionó anteriormente la dosis letal oral de HCN en seres humanos es de 0,5 a 3,5 mg/kg peso corporal, lo que quiere decir que para un adulto promedio de 70 kg es de 35 a 245 mg (Ballhorn, 2011).

Según estos valores la linaza analizada está muy lejos de considerarse peligrosa para su consumo ya que solo contiene aproximadamente 13 mg de HCN por kg de linaza; es decir la cantidad de linaza que se requeriría consumir para tener un efecto tóxico en un adulto promedio sería de alrededor de 2,5 kg diarios, lo cual en condiciones normales de consumo es muy poco probable que se dé.

4.5.3 Aplicación de la técnica QFD mediante entrevistas a potenciales consumidores

Mediante las entrevistas realizadas a los potenciales consumidores de la bebida funcional se construyó la “Casa de la Calidad” característica de la aplicación de la técnica QFD (ver Figura 15).

Como se observa en la Figura 15, las características identificadas como las más importantes para los consumidores en relación con las bebidas saludables o del tipo funcional se relacionaron con parámetros técnicos como el sabor, el contenido de azúcar, el contenido nutricional de la bebida, la textura, la apariencia, el color, la cantidad de ingredientes y el uso de preservantes en la bebida.

En la “Casa de la Calidad” los requerimientos de los consumidores se relacionan con los requerimientos técnicos (que establece el investigador) mediante el uso de una escala de interrelación con puntajes de 9, 3 y 1 para expresar una relación fuerte, media y débil respectivamente, mientras que de considerar que no hay relación se expresa con un espacio en blanco. De esta forma, en la matriz central de la Figura 15 se puede ver cómo los factores más interrelacionados son los que tienen puntajes más altos en las casillas donde se cruzan (Bhise 2013).

Asimismo, esos aspectos técnicos pueden correlacionarse entre ellos en forma positiva o negativa. En el primer caso, la presencia, aumento o disminución de un requisito condiciona en la misma forma a otro; esta relación es deseable ya que la modificación de uno potencia al otro, lo cual se traduce en un producto con mejores características. Por otro lado, en el caso de ser negativa, esta indica que la modificación de uno de estos en alguna forma resulta en un detrimento de otro y por ende de las características finales del producto. Por estas razones es importante prestar atención a esas correlaciones con el fin de garantizar que el producto final tenga las características acordes en la mayor medida de lo posible a los requerimientos del consumidor (Bhise 2013).

En las entrevistas realizadas, los consumidores manifestaron que usualmente a la hora de consumir bebidas y alimentos en general, los aspectos que consideran como más importantes son el sabor del producto; que “sepa rico” como lo describen, además del hecho

de que estos contengan poco o nada de azúcar, aspecto considerado por ellos mismos como sinónimo de producto saludable.

Otro requerimiento detectado como relevante en las entrevistas fue la textura; la mayor parte de los consumidores señaló su preferencia por bebidas con textura espesa, más que todo en bebidas a base de frutas. Debido a que, según lo expresaron, esto se relaciona con un mayor contenido de la fruta en la bebida, lo que para ellos significa que el contenido nutricional es de mejor calidad.

Asimismo, se debe destacar que los consumidores afirmaron que a la hora de consumir bebidas se inclinan por productos “naturales”, a los cuales se les agregue la menor cantidad de ingredientes posible y se evite en la medida de lo posible añadir productos “sintéticos” como algunos preservantes, colorantes artificiales y edulcorantes.

En cuanto al color de la bebida, los consumidores manifestaron que, en el caso de las bebidas a base de frutas, este debe ser lo más semejante al de la fruta (o frutas) de la cual está elaborada la bebida. En este sentido señalaron que se inclinan por consumir bebidas que no tengan colorantes artificiales añadidos.

La importancia absoluta y relativa de los requisitos técnicos permitió establecer cuáles de estos debían ser considerados como prioridades a la hora de desarrollar las bebidas. Como se observa en la Figura 15, los aspectos más importantes son el sabor, el contenido de azúcar, el contenido o valor nutricional del producto y la textura. Mientras que aspectos como el color, el uso de preservantes, la apariencia y la cantidad de ingredientes en la formulación son aspectos considerados de menor prioridad.

Estas preferencias de los consumidores entrevistados por productos con beneficios para la salud y con mejores contenidos nutricionales concuerdan con la tendencia que se ha

observado en los últimos años en el comportamiento de los mismos. Numerosos estudios señalan que se ha incrementado la preocupación por el cuidado de la salud y existe una mayor disposición a adoptar estilos de vida saludables donde los hábitos alimenticios juegan un papel fundamental (Siró *et al.* 2008; Szakály *et al.* 2012; Chen 2011).

Asimismo, en una investigación realizada para conocer la influencia del estilo de vida sobre el comportamiento de los consumidores y sus patrones de consumo, se determinó que la calidad del alimento o producto y la demanda por productos saludables y naturales son considerados como los dos factores a los que los consumidores les dan mayor importancia a la hora de seleccionar los productos funcionales que consumen. El primero de ellos se refiere tanto a la calidad nutricional; es decir, a los posibles beneficios que puede obtener el consumidor de un determinado producto, asociado a la vez con la relación contenido nutricional-precio del alimento, como a la calidad en cuanto a características como el sabor, el aroma y la frescura de los productos (Szakály *et al.* 2012).

Cabe destacar que el hecho de que el sabor fuera considerado como el aspecto más importante para los consumidores a la hora de seleccionar o consumir un producto saludable coincide con lo señalado por múltiples estudios, los cuales indican que los consumidores no están dispuestos a sacrificar o comprometer el sabor del alimento que consumen por posibles efectos beneficiosos para la salud. Otros estudios han encontrado que el sabor es el predictor más fuerte en los patrones de consumo de alimentos (Siegrist *et al.* 2008; Siró *et al.* 2008).

4.5.4 Determinación de las formulaciones de los prototipos

A continuación, en el Cuadro IV, se detallan las formulaciones preliminares desarrolladas y probadas durante el proceso de determinación de las formulaciones definitivas de los prototipos, estas fueron establecidas con base en la información recopilada de la revisión bibliográfica expuesta anteriormente y aplicación de la técnica QFD.

Cuadro IV. Formulaciones preliminares probadas y desarrolladas con el fin de obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.

Prototipo	Porcentaje del ingrediente (%)						
	Jugo de mora prensado	Bebida de soya	Linaza molida	Agua	Total	Estabilizante	Edulcorante
1	JM ₁	BS ₁	LM ₁	A ₁	100,00	NA	NA
2	JM ₂	BS ₂	LM ₂	NA	100,00	NA	NA
3	JM ₃	BS ₃	LM ₃	NA	100,00	NA	NA
4	JM ₄	BS ₄	LM ₄	A ₄	100,00	NA	NA
5	JM ₅	BS ₅	LM ₅	A ₅	100,00	NA	NA
6	JM ₆	BS ₆	LM ₆	A ₆	100,00	NA	NA
7	JM ₇	BS ₇	LM ₇	A ₇	100,00	NA	NA
8	JM ₈	BS ₈	LM ₈	A ₈	100,00	NA	ED ₈
9	JM ₉	BS ₉	LM ₉	A ₉	100,00	ES ₉	ED ₉
10	JM ₁₀	BS ₁₀	LM ₁₀	A ₁₀	100,00	ES ₁₀	ED ₁₀
11	JM ₁₁	BS ₁₁	LM ₁₁	A ₁₁	100,00	ES ₁₁	ED ₁₁
12	JM ₁₂	BS ₁₂	LM ₁₂	A ₁₂	100,00	ES ₁₂	ED ₁₂
13	JM ₁₃	BS ₁₃	LM ₁₃	A ₁₃	100,00	ES ₁₃	ED ₁₃
14	JM ₁₄	BS ₁₄	LM ₁₄	A ₁₄	100,00	ES ₁₄	ED ₁₄
15	JM ₁₅	BS ₁₅	LM ₁₅	A ₁₅	100,00	ES ₁₅	ED ₁₅

JM: jugo de mora; BS: bebida de soya; LM: linaza molida; A: agua; ES: estabilizante; ED: edulcorante; NA: no añadido

Como se observa en el Cuadro IV, las formulaciones preliminares se obtuvieron haciendo variar los porcentajes de los tres ingredientes principales (mora, linaza y soya). Esas variaciones se realizaron tomando en cuenta todos los aspectos mencionados en las dos secciones anteriores y a la vez buscando resolver diversos retos tecnológicos que se presentaron durante el proceso de establecimiento de las formulaciones. De la misma forma, el proceso debió ser establecido y ajustado en el mismo sentido.

En el Cuadro V se resumen los retos tecnológicos enfrentados durante el desarrollo de las formulaciones con las respectivas soluciones encontradas para resolverlos.

Cuadro V. Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.

Reto técnico	Descripción	Solución
Separación de fases	En las primeras pruebas se dio este fenómeno debido al efecto del pH ácido de la mora que provoca su precipitación por desnaturalización de las proteínas de la soya (Yuan <i>et al.</i> 2002).	Se ajustó la proporción de las materias primas en las formulaciones, se modificó el orden de mezclado de los ingredientes y se añadió un estabilizante para evitar que se diera la separación de fases en el procesamiento y el almacenamiento del producto.
Forma de adición de materias primas y proporciones	Definición de la forma y proporción en que se agregaría la mora.	Se definió que se usaría un jugo de mora prensado y que la bebida debía contener al menos un 25% de este (Azofeifa <i>et al.</i> 2016).

Cuadro V (continuación). Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.

Reto técnico	Descripción	Solución
Forma de adición de materias primas y proporciones	Forma de adición de la linaza en la bebida y que esta contuviera la mayor cantidad de compuestos bioactivos de interés (lignanós).	Se añadió en forma de semilla molida y no sólo el mucilago extraído normalmente mediante remojo con agua en caliente; debido a que los compuestos bioactivos de la linaza se localizan principalmente en la semilla y no en el mucílago (Edel <i>et al.</i> 2015; Smeds <i>et al.</i> 2012).
	Forma de adición de la soya y proveedor en el país.	Se utilizó en forma de polvo, adquirida de una empresa que la distribuye de esta forma, y se reconstituyó con agua (según indicaciones del proveedor).
Molienda linaza	Se probó moler la semilla en dos molinos diferentes, en ambos casos se formó una costra en el equipo, por calentamiento en el proceso. Esto generaba pérdidas de muestra y posible deterioro de los ácidos grasos de la linaza.	Se molió la semilla utilizando una licuadora industrial, en un proceso por lotes o de forma discontinua para evitar que se diera la formación de costra por el calentamiento de la linaza.

Cuadro V (continuación). Descripción de los principales retos técnicos enfrentados en el proceso de desarrollo de las formulaciones de los prototipos y sus respectivas soluciones.

Reto técnico	Descripción	Solución
Formación de gel (linaza) producto del calentamiento	El calentamiento de la bebida durante los tratamientos térmicos, principalmente el de esterilización comercial, daba paso a la formación de una especie de “gel” característico de la linaza. Esto dificultaba el envasado de la bebida, además de que afectaba su apariencia y textura.	Las formulaciones se ajustaron con el fin de minimizar la formación del gel, disminuyendo la proporción en que se agregó la linaza (máximo de 10%) y aumentando la proporción de agua.
Condiciones de tratamientos térmicos prototipos	Necesidad de que los tratamientos térmicos fueran adecuados para el aseguramiento de la inocuidad de los productos y por lo tanto que su consumo fuera seguro.	Se establecieron los tratamientos basados en estudios en productos similares y en el parámetro de pH de los prototipos (Mazzotta 2001; Pflug 1998).
Adición de edulcorante no calórico y natural	Durante las entrevistas llevadas a cabo para la aplicación de la técnica QFD, los consumidores expresaron la preferencia por bebidas sin azúcar adicionada ni aditivos artificiales.	Tomando en cuenta la voz del consumidor, se decidió agregar un edulcorante no calórico y natural. Por lo cual se seleccionó uno a base de estevia como la mejor opción para cumplir ambos requisitos.

4.5.5 Formulaciones finales de los prototipos desarrollados

Tomando en cuenta todos los aspectos señalados en las secciones anteriores se fueron variando las formulaciones de la bebida hasta obtener tres formulaciones finales que permitieran ajustarse de la mejor forma a los requerimientos de los consumidores, la priorización de los requerimientos técnicos establecidos y la resolución de los retos técnicos que surgieron en el proceso. Las formulaciones seleccionadas como las más promisorias considerando todo lo indicado se detallan a continuación en el Cuadro VI, así como el flujo de proceso desarrollado para los dos tratamientos térmicos establecidos.

Cuadro VI. Formulaciones finales de los prototipos desarrollados para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya.

Ingrediente	Porcentaje del ingrediente (%)		
	Prototipo 1	Prototipo 2	Prototipo 3
Jugo de mora prensado	M ₁	M ₂	M ₃
Bebida de soya	S ₁	S ₂	S ₃
Linaza molida	L ₁	L ₂	L ₃
Agua	A ₁	A ₂	A ₃
Total	100,00	100,00	100,00
Estabilizante*	ES	ES	ES
Edulcorante (estevia)*	ED	ED	ED

*Porcentaje con respecto al total M: jugo de mora; S: bebida de soya; L: linaza molida; A: agua; ES: estabilizante; ED: edulcorante.

5. Objetivo 2: Evaluación del efecto de la intensidad del tratamiento térmico (pasteurización vs esterilización comercial) sobre el contenido de compuestos bioactivos de la mora (elagitaninos), soya (isoflavonas) y linaza (lignanos), así como las características fisicoquímicas de los prototipos de la bebida

5.1 Localización

Los análisis fisicoquímicos, la extracción de polifenoles, tanto para su determinación de polifenoles totales y determinación del contenido de los compuestos bioactivos de la mora, linaza y soya en la bebida por medio de la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (High Performance Liquid Chromatography, HPLC por sus siglas en inglés), y el análisis proximal del prototipo seleccionado como el más promisorio según los resultados obtenidos de las sesiones de *focus group* se llevaron a cabo en los Laboratorios de Química del CITA y de la Escuela de Tecnología de Alimentos, ambas unidades ubicadas en la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca.

5.2 Equipos

En el Cuadro II, presentado anteriormente, se muestran los equipos utilizados en la elaboración de los prototipos de la bebida en las diferentes pruebas llevadas a cabo para la evaluación del efecto del tratamiento térmico sobre el contenido y perfil de compuestos bioactivos de la mora (elagitaninos), soya (isoflavonas) y linaza (lignanos).

5.3 Metodología

5.3.1 Condiciones de proceso (tiempo y temperatura) de los tratamientos térmicos

Las condiciones de proceso del tratamiento de pasteurización se basaron en estudios de tratamientos térmicos en productos similares que contienen jugos de frutas, como el

realizado por Mazzotta (2001), donde se encontró que, para jugos de manzana, naranja y uva verde un tratamiento térmico de 71,1 °C por 3 s permite una reducción de 5 logaritmos de células vegetativas de los patógenos *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes*.

Mientras que, en el caso del tratamiento de esterilización comercial, las condiciones se ajustaron para obtener una letalidad adecuada en el producto de acuerdo con sus características y el valor de pH determinado para cada formulación (valores determinados se muestran en el cuadro VII). Para establecer estas condiciones se utilizó como referencia los parámetros de procesamiento (tiempo y temperatura de llenado) sugeridos por Pflug (1998), según el valor de pH más alto de los tres prototipos (ver Cuadro VI). Tomando esto en cuenta, se determinó que las condiciones del tratamiento serían: calentamiento a 85 °C, con llenado en caliente e inversión del envase por al menos 5 minutos, esto último con el fin de garantizar la esterilización del mismo.

Cuadro VII. Valores de pH de los tres prototipos desarrolladas, medidos con el fin de determinar las condiciones del tratamiento térmico de esterilización comercial.

Prototipo	pH ($\pm 0,01$)
1	3,81
2	3,71
3	3,92

Las formulaciones de los prototipos 1, 2 y 3 a las que se refiere el Cuadro VII y a las que se les realizaron las determinaciones que se presentan en este objetivo, para la evaluación del efecto del tratamiento térmico sobre el contenido y perfil de compuestos bioactivos de la

mora (elagitaninos), soya (isoflavonas) y linaza (lignanos), así como características fisicoquímicas de los prototipos de la bebida; se detallan en el Cuadro VI presentado en la sección 4.5.5 del objetivo anterior.

Debido a que, al envasar la bebida procesada bajo las condiciones de esterilización comercial, se daba un enfriamiento de la misma por el contacto con el envase (botella de vidrio), se llevaron a cabo pruebas para determinar la temperatura de calentamiento que permitiera que la bebida estuviera a 85 °C durante el llenado y se mantuviera durante el tiempo de inversión del envase. Por esta razón se estableció que la bebida sería calentada a 87 °C, una vez alcanzada esta temperatura se procedería entonces al llenado e inversión de los envases.

El tratamiento térmico de pasteurización se llevó a cabo en un pasteurizador tubular (UHT/HTST Lab 25 EHVH, MicroThermics), cuyo sistema de calentamiento permite alcanzar condiciones como las características de los tratamientos térmicos de ultra alta temperatura (UHT, por sus siglas en inglés) y alta temperatura-tiempo corto (HTST, por sus siglas en inglés). Específicamente, el equipo permite alcanzar temperaturas de procesamiento de entre 76 °C y 150 °C y tiempos de retención de 3 a 150 segundos.

En el caso del tratamiento de esterilización comercial este fue llevado a cabo por calentamiento en cocina de gas, debido a que por las condiciones específicas de tratamiento térmico (temperatura, llenado en caliente y tiempo de inversión del envase) no fue posible utilizar el mismo equipo que para el otro tratamiento. Asimismo, debido a la cantidad de bebida procesada en cada lote (aproximadamente 5 kg), no fue posible realizar el tratamiento de esterilización comercial en una marmita (dado a que la cantidad mínima de producto requerida era mayor que con la que se contaba), por lo cual se optó por utilizar la cocina de gas que permitía procesar la bebida respetando las condiciones establecidas.

5.3.2 Diseño experimental y análisis estadístico

Para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico sobre el contenido de los compuestos bioactivos de interés en los tres prototipos de bebida desarrollados se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado donde los lotes independientes de producto fueron los bloques. El efecto del tratamiento se evaluó comparando tres tratamientos: producto sin tratamiento térmico, producto pasteurizado (diseñado según lo sugerido por Mazzotta (2001) para bebidas con pH menor a 4,5) y producto sujeto a esterilización comercial, definido según el valor de pH de los mismos y aplicando un llenado en caliente utilizando los parámetros establecidos por Pflug (1998).

Se realizaron tres repeticiones de los tratamientos (en tres lotes independientes de productos, partiendo de la misma materia prima) y se determinó el contenido de los compuestos bioactivos como variable respuesta (lignanos, isoflavonas, elagitaninos y antocianinas). Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía estableciendo un nivel de confianza del 95% con valores de P menores a 0,05 ($P < 0,05$). En caso de encontrar diferencias significativas en el contenido de compuestos bioactivos se utilizó la Prueba de Tukey para determinar cuáles de los tratamientos difieren significativamente entre ellos.

5.3.3 Métodos de análisis

Los prototipos de las bebidas fueron analizados para establecer el contenido de compuestos bioactivos de interés (elagitaninos, lignanos e isoflavonas), de acuerdo con las condiciones establecidas en el método desarrollado para la determinación de los mismos que se detalla en el apartado 10.2 de la sección de Anexos. Adicional a estos compuestos se

determinó el contenido de antocianinas provenientes de la mora en los prototipos con el fin de tener un perfil más completo de los polifenoles presentes en los prototipos desarrollados.

Además, se caracterizó la bebida en cuanto a ciertos parámetros fisicoquímicos importantes, relacionados con aspectos de calidad de la misma. Estos análisis fueron: pH, color, viscosidad, turbidez, °Brix o sólidos solubles y contenido de polifenoles totales.

5.3.3.1 Determinación de compuestos bioactivos de interés (elagitaninos, antocianinas lignanos e isoflavonas) por HPLC

Se realizó por duplicado siguiendo el método desarrollado que se detalla en el apartado 10.3 (sección Anexos), basado en el método del CITA “Determinación de polifenoles por HPLC” P-SA-MQ-044 (CITA 2015a), este último basado en lo descrito por Mertz *et al.* (2007).

5.3.3.2 Determinación del pH

Se realizó por duplicado siguiendo el método del CITA “Determinación del pH” P-SA-MQ-012 (CITA 2015c), basado en el método AOAC 981.12 (AOAC International 2005a), utilizando un pHmetro marca Sartorius modelo PB-11, con control de temperatura.

5.3.3.3 Determinación de color

Se realizó por triplicado siguiendo el método del CITA “Determinación de color en muestras de alimentos mediante el uso de Colorímetro electrónico, Colorflex EZ” P-SA-MQ-045 (CITA 2016), el colorímetro de geometría 45°/0° se utilizó en la escala CIE L*, a*, b*, iluminante D65 y ángulo de visión de 10°. Para realizar la determinación la temperatura del laboratorio se mantuvo a 20 °C.

5.3.3.3 Determinación de viscosidad

Se realizó por duplicado siguiendo el método del CITA “Viscosidad” P-SA-MQ-043 (CITA 2015e), utilizando un viscosímetro de Brookfield (marca Cole-Parmer, modelo 98936-10), con el husillo R3 (diámetro de 3,465 cm) y una velocidad de 10 rpm. Los valores se determinaron haciendo rotar el husillo y anotando el valor luego de 30 s de rotación.

5.3.3.4 Determinación de turbidez

Se realizó por triplicado siguiendo el método descrito por Vaillant *et al.* (2008), utilizando un turbidímetro (marca Hach, modelo 2100 AN, USA).

5.3.3.5 Determinación de °Brix o sólidos solubles

Se realizó por duplicado siguiendo el método del CITA “Grados Brix” P-SA-MQ-046 (CITA 2015d), basado en el método AOAC 932.12 (AOAC International 2005b), utilizando un refractómetro marca Atago modelo NAR-1T, con control de temperatura.

5.3.3.6 Determinación de polifenoles totales

Se realizó por duplicado siguiendo el método del CITA “Determinación de polifenoles” P-SA-MQ-048 (CITA 2015b) basado en el método de Georgé *et al.* (2005).

5.4 Resultados y discusión

En los Cuadros VIII, IX, X y XI se muestran los resultados obtenidos de la medición del contenido de compuestos bioactivos (elagitaninos, antocianinas, isoflavonas y lignanos) con el fin de determinar, en los tres prototipos desarrollados, el efecto del tratamiento térmico. Los resultados se agruparon en los diferentes cuadros de acuerdo con la materia prima a la que están asociados esos compuestos, es decir un cuadro para los elagitaninos y

antocianinas de la mora, otro para las isoflavonas de la soya y otro para los lignanos de la linaza.

Cuadro VIII. Contenido de elagitaninos totales (compuestos bioactivos de interés de la mora, como equivalentes de ácido elágico) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.

Prototipo	Tratamiento térmico	Concentración elagitaninos totales (mg/100 g)	
		Base húmeda	Base seca
1	Sin pasteurizar	1,60 ± 0,29 ^a	10,2 ± 1,6 ^a
	71,1 °C; 3 s	1,55 ± 0,20 ^a	9,9 ± 1,3 ^a
	87 °C	1,61 ± 0,19 ^a	9,5 ± 0,9 ^a
2	Sin pasteurizar	1,89 ± 0,28 ^a	11,7 ± 2,7 ^a
	71,1 °C; 3 s	1,69 ± 0,21 ^a	9,9 ± 1,5 ^a
	87 °C	1,78 ± 0,09 ^a	10,2 ± 1,8 ^a
3	Sin pasteurizar	1,35 ± 0,26 ^a	8,1 ± 1,6 ^a
	71,1 °C; 3 s	1,42 ± 0,24 ^a	8,7 ± 1,9 ^a
	87 °C	1,39 ± 0,03 ^a	7,9 ± 0,2 ^a

Valores de concentración corresponden a la sumatoria de picos de elagitaninos detectados en las muestras (detallado y ejemplificado en el Anexo 10.2). Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por duplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Como se observa en el Cuadro VIII, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de elagitaninos totales entre los diferentes tratamientos térmicos para ninguna de las tres formulaciones. Esto indica que el tratamiento térmico no tuvo un efecto significativo en la concentración de elagitaninos.

Este resultado concuerda con lo reportado en la literatura en estudios similares, específicamente en un trabajo donde se analizó el efecto de diferentes tipos de procesamiento en productos de mora y se determinó que el tratamiento térmico de pasteurización (90 °C,

por el tiempo requerido para alcanzar esa temperatura) en jugos de mora clarificados y no clarificados, no tuvo un efecto significativo en el contenido de elagitaninos (Hager et al. 2010).

Cuadro IX. Contenido de antocianinas (compuestos bioactivos de interés de la mora) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.

Prototipo	Tratamiento térmico	Concentración antocianinas (mg/100 g)			
		A1 BH	A1 BS	A2 BH	A2 BS
1	Sin pasteurizar	7,0 ± 2,4 ^{ab}	44 ± 14 ^{ab}	0,65 ± 0,20 ^c	4,1 ± 1,2 ^c
	71,1 °C; 3 s	7,7 ± 2,8 ^a	49 ± 18 ^a	0,63 ± 0,18 ^c	4,0 ± 1,2 ^c
	87 °C	5,8 ± 1,9 ^b	34 ± 11 ^b	0,42 ± 0,13 ^d	2,5 ± 0,8 ^d
2	Sin pasteurizar	7,8 ± 1,0 ^{ab}	48 ± 7 ^{ab}	0,74 ± 0,06 ^c	4,5 ± 0,5 ^c
	71,1 °C; 3 s	7,6 ± 1,6 ^a	44 ± 6 ^a	0,64 ± 0,08 ^c	3,7 ± 0,2 ^c
	87 °C	5,6 ± 1,0 ^b	31 ± 2 ^b	0,41 ± 0,07 ^d	2,2 ± 0,2 ^d
3	Sin pasteurizar	5,4 ± 1,5 ^{ab}	32 ± 9 ^{ab}	0,52 ± 0,12 ^c	3,1 ± 0,6 ^c
	71,1 °C; 3 s	5,9 ± 1,6 ^a	37 ± 12 ^a	0,48 ± 0,10 ^c	3,0 ± 0,8 ^c
	87 °C	4,5 ± 0,9 ^b	25 ± 5 ^b	0,32 ± 0,06 ^d	1,8 ± 0,3 ^d

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por duplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$). A1: Cianidin-3-glucósido; A2: Cianidin-3-malonil-glucósido. BH: base húmeda, BS: base seca.

En el caso de las antocianinas, como se ve en el Cuadro IX, el tratamiento térmico tuvo un efecto diferente en la concentración según la antocianina. En el caso de la cianidin-3-glucósido (A1) se puede ver que presentó el mismo comportamiento en las tres formulaciones, dado que el contenido de la antocianina en la bebida pasteurizada (71,1 °C por 3 s) fue significativamente diferente al de la bebida esterilizada comercialmente (87 °C). Sin embargo, la concentración de esta antocianina en la bebida pasteurizada no es significativamente diferente al de la bebida sin pasteurizar, y el contenido en la bebida esterilizada comercialmente tampoco es significativamente diferente al de la bebida sin

pasteurizar. De esta forma estos resultados parecen indicar que no hay un efecto significativo del tratamiento térmico sobre el contenido de esta antocianina.

Por otro lado, en el caso de la antocianina 2 (identificada tentativamente como cianidin-3-malonil-glucósido, sección 10.2.9 de Anexos) esta presentó el mismo comportamiento para las tres formulaciones de los prototipos. Como se puede ver en el Cuadro IX el contenido de la antocianina en la bebida esterilizada comercialmente (87 °C) es significativamente diferente (en este caso menor) del de las bebidas sin pasteurizar y pasteurizada (71,1 °C por 3 s). Esto quiere decir que el tratamiento térmico de esterilización comercial disminuyó significativamente el contenido de la antocianina 2, generando una pérdida de antocianinas entre el 35 y 45% aproximadamente. Sin embargo, se debe considerar que esta antocianina es la que se encuentra en menor proporción en la bebida (ver Cuadro IX), siendo el contenido aproximadamente diez veces menor al de la cianidin-3-glucósido (A1).

Los resultados obtenidos en el contenido de la antocianina 2 coinciden con lo reportado en un estudio donde se analizó el efecto de las condiciones de procesamiento y almacenamiento en diferentes características o propiedades de diversos productos de mora. Como parte de este estudio se analizó el efecto de un tratamiento térmico a 90 °C (por el tiempo necesario para alcanzar esta temperatura) en el contenido de antocianinas totales en jugos de mora clarificados y no clarificado. Los resultados reportados muestran que el tratamiento térmico disminuyó significativamente el contenido de antocianinas totales (Hager *et al.* 2008). Mientras que en el caso de la cianidin-3-glucósido (A1), no coinciden con lo reportado por Hager *et al.* para el contenido de antocianinas totales.

Cuadro X. Contenido de isoflavonas (compuestos bioactivos de interés de la soya) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.

Prototipo	Tratamiento térmico	Concentración daidzeína (mg/100 g)		Concentración genisteína (mg/100 g)	
		Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca
1	Sin pasteurizar	0,33 ± 0,08 ^a	2,06 ± 0,43 ^a	0,93 ± 0,18 ^b	5,9 ± 1,1 ^b
	71,1 °C; 3 s	0,33 ± 0,03 ^a	2,13 ± 0,22 ^a	1,04 ± 0,21 ^b	6,6 ± 1,4 ^b
	87 °C	0,37 ± 0,03 ^a	2,17 ± 0,18 ^a	1,08 ± 0,16 ^b	6,4 ± 0,9 ^b
2	Sin pasteurizar	0,44 ± 0,07 ^a	2,69 ± 0,66 ^a	1,16 ± 0,09 ^b	7,1 ± 1,0 ^b
	71,1 °C; 3 s	0,37 ± 0,05 ^a	2,22 ± 0,50 ^a	1,16 ± 0,13 ^b	6,7 ± 0,2 ^b
	87 °C	0,38 ± 0,08 ^a	2,20 ± 0,76 ^a	1,18 ± 0,06 ^b	6,7 ± 0,5 ^b
3	Sin pasteurizar	0,33 ± 0,09 ^a	2,01 ± 0,60 ^a	0,99 ± 0,11 ^b	5,9 ± 0,6 ^b
	71,1 °C; 3 s	0,31 ± 0,07 ^a	1,90 ± 0,39 ^a	1,04 ± 0,12 ^b	6,4 ± 1,1 ^b
	87 °C	0,33 ± 0,08 ^a	1,86 ± 0,46 ^a	1,10 ± 0,07 ^b	6,2 ± 0,4 ^b

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por duplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Los datos presentados en el Cuadro X muestran que no se encontraron diferencias significativas en la concentración de isoflavonas según el tratamiento térmico para ninguna de las tres formulaciones desarrolladas, por lo que al igual que en los elagitaninos el tratamiento térmico no tiene un efecto significativo en la concentración de estos compuestos bioactivos de interés.

Estos resultados coinciden con lo reportado en estudios similares para el contenido de estos compuestos bioactivos. En un estudio donde se evaluó el efecto del tratamiento térmico (90 °C, 6 s en un pasteurizador tubular) en una bebida elaborada con leche de soya y jugo de frutas (naranja, kiwi y piña) se reportó que no se encontraron diferencias

significativas en el contenido de isoflavonas producto del tratamiento térmico aplicado (Morales-de la Peña *et al.* 2010).

Cuadro XI. Contenido de lignanos (compuestos bioactivos de interés de la linaza) determinados mediante la técnica HPLC en las formulaciones de los tres prototipos de bebida para evaluar el efecto de la intensidad del tratamiento térmico.

Prototipo	Tratamiento térmico	Concentración secoisolariciresinol (mg/100 g)	
		Base húmeda	Base seca
1	Sin pasteurizar	97 ± 12 ^a	617 ± 50 ^a
	71,1 °C; 3 s	111 ± 14 ^a	709 ± 94 ^a
	87 °C	114 ± 11 ^a	679 ± 52 ^a
2	Sin pasteurizar	113 ± 13 ^a	691 ± 94 ^a
	71,1°C; 3 s	117 ± 10 ^a	681 ± 42 ^a
	87 °C	116 ± 11 ^a	652 ± 35 ^a
3	Sin pasteurizar	106 ± 8 ^a	633 ± 44 ^a
	71,1 °C; 3 s	94 ± 5 ^a	573 ± 43 ^a
	87 °C	108 ± 7 ^a	610 ± 43 ^a

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por duplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$). BH: base húmeda, BS: base seca.

Como se puede ver en el Cuadro XI, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de lignanos según el tratamiento térmico para ninguna de las tres formulaciones desarrolladas, por lo que al igual que en los elagitaninos y las isoflavonas, el tratamiento térmico no tiene un efecto significativo en la concentración de los lignanos.

Diversos estudios han reportado que el tratamiento térmico aplicado a linaza en grano, linaza molida, linaza molida añadida en productos de panadería (queque, pan, “muffins”) no tuvo un efecto significativo sobre el contenido de lignanos y en específico del

secoisolariciresinol (Edel *et al.* 2015). Por lo que el comportamiento observado concuerda con lo reportado en la literatura para estos compuestos.

Otra de las mediciones realizadas en las bebidas fue el contenido de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos se resumen en el Cuadro XII.

Cuadro XII. Contenido de polifenoles totales (expresados como equivalentes de ácido gálico) determinados mediante el método de Folin- Ciocalteu en las formulaciones de los tres prototipos de bebida desarrollados.

Prototipo	Tratamiento térmico	Concentración polifenoles totales (mg/100 g)	
		Base húmeda	Base seca
1	Sin pasteurizar	69 ± 15 ^a	439 ± 77 ^a
	71,1 °C; 3 s	71 ± 10 ^a	453 ± 66 ^a
	87 °C	70 ± 9 ^a	413 ± 45 ^a
2	Sin pasteurizar	76 ± 6 ^a	464 ± 60 ^a
	71,1 °C; 3 s	74 ± 10 ^a	427 ± 35 ^a
	87 °C	71 ± 7 ^a	399 ± 40 ^a
3	Sin pasteurizar	70 ± 11 ^a	419 ± 64 ^a
	71,1 °C; 3s	68 ± 7 ^a	418 ± 72 ^a
	87 °C	67 ± 5 ^a	381 ± 28 ^a

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por duplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P < 0,05).

Los resultados obtenidos en el contenido de polifenoles totales no mostraron diferencias significativas según el tratamiento térmico en ninguno de los tres prototipos. De nuevo esto concuerda con lo reportado en la literatura, ya que específicamente en un estudio donde se analizó el impacto del procesamiento mediante altas presiones en comparación con un tratamiento térmico convencional en el contenido de polifenoles en purés de fresa y mora,

se encontró que el tratamiento térmico (ebullición en agua a 70 °C por el tiempo necesario para alcanzar reducciones logarítmicas de 6 logaritmos en células vegetativas del patógeno *Listeria monocytogenes*) no tuvo un efecto significativo en el contenido de polifenoles totales en la mora (Patras *et al.* 2009).

Es importante destacar que, según los resultados obtenidos, el contenido de polifenoles totales de las bebidas desarrolladas se encuentra en un rango de valores entre los 311 y 464 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra. En un estudio realizado en jugos de diferentes bayas y otras frutas se reportaron los siguientes contenidos de polifenoles, 212 a 414 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra en jugo de fresa, 311 a 369 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra en jugo de mora, 246 a 380 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra en jugo de granada y 55 a 164 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra en jugo de toronja (Al Asaad y Al Diab 2016). De esta forma se puede observar que los valores determinados para las bebidas desarrolladas son similares e incluso superiores a los reportados para jugos de diferentes bayas y frutas; lo cual se puede señalar como un aspecto positivo de los prototipos desarrollados.

Como se mencionó en la sección 5.3.3 las bebidas fueron caracterizadas en cuanto a diversos parámetros fisicoquímicos, los resultados obtenidos de esas determinaciones se resumen en los Cuadros XIII y XIV que se muestran a continuación. El objetivo de estas determinaciones fue caracterizar las bebidas y por ende no se realizó un análisis estadístico del efecto del tratamiento térmico sobre estas características y solo se analizaron las tendencias generales observadas para cada uno de los parámetros.

Cuadro XIII. Características fisicoquímicas (pH, °Brix, turbidez, viscosidad) de los tres prototipos de bebida desarrollados.

Prototipo	Tratamiento térmico	pH	°Brix	Turbidez (NTU)	Viscosidad (cP)
1	Sin pasteurizar	3,85 ± 0,04	9,74 ± 0,26	70324 ± 2380	1590 ± 156 ^a
	71,1 °C; 3 s	3,83 ± 0,02	9,55 ± 0,06	74824 ± 5823	1480 ± 218 ^a
	87 °C	3,81 ± 0,03	9,55 ± 0,06	53533 ± 5970	2745 ± 127 ^b
2	Sin pasteurizar	3,95 ± 0,02	10,05 ± 0,37	65522 ± 2672	2622 ± 175 ^a
	71,1 °C; 3 s	3,91 ± 0,03	9,71 ± 0,55	75651 ± 7347	2128 ± 52 ^a
	87 °C	3,89 ± 0,04	9,55 ± 0,37	67773 ± 5426	6897 ± 265 ^b
3	Sin pasteurizar	3,90 ± 0,05	10,30 ± 0,19	75863 ± 3906	1688 ± 82 ^a
	71,1 °C; 3 s	3,90 ± 0,05	10,05 ± 0,06	81679 ± 3042	1692 ± 294 ^a
	87 °C	3,92 ± 0,04	10,05 ± 0,32	78471 ± 1514	6618 ± 43 ^b

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

En el Cuadro XIII se puede observar como los valores de pH son muy similares para los tres prototipos de las bebidas, estos se mantienen entre 3,8 y 3,9. En el caso del parámetro de °Brix también se observaron resultados muy similares para las bebidas en valores que van de los 9,5 a 10,0 °Brix.

A diferencia de los dos anteriores parámetros, los valores de turbidez se comportaron de forma irregular en las tres formulaciones según el tratamiento térmico. Como se observa en el Cuadro XIII hay una tendencia al aumento de los valores de turbidez producto del tratamiento térmico de pasteurización con respecto al producto sin pasteurizar para las tres bebidas. Mientras que los valores de turbidez tienden a ser menores para las bebidas procesadas mediante esterilización comercial (87 °C) con respecto a las pasteurizadas.

En el caso de la viscosidad, los valores presentaron el mismo comportamiento para las tres formulaciones, estos tienden a ser menores en las bebidas procesadas bajo condiciones de pasteurización con respecto al producto sin pasteurizar y a aumentar en las bebidas esterilizadas comercialmente (87 °C) con respecto a las pasteurizadas. Este comportamiento observado coincide con el resultado del análisis de varianza realizado a estos datos con el fin de determinar si el tratamiento térmico tiene un efecto significativo en la viscosidad de las bebidas. Como se muestra en el Cuadro XIII, los valores de viscosidad de las bebidas procesadas mediante el tratamiento de esterilización comercial son significativamente mayores a los de las bebidas pasteurizadas y las no pasteurizadas.

Esto puede deberse a que el calentamiento de la bebida en el tratamiento térmico de esterilización comercial requería de un tiempo más prolongado en comparación con la bebida pasteurizada. En el caso de la primera, la bebida se calentaba por el tiempo necesario para alcanzar la temperatura requerida (87 °C) lo que implica una mayor exposición de las bebidas a temperaturas elevadas, lo cual puede tener un mayor efecto sobre las características fisicoquímicas de la misma. Mientras que, en el caso del tratamiento de pasteurización el tiempo de exposición a la temperatura del proceso (71,1 °C) era de solo 3 s por las condiciones del equipo usado para el tratamiento térmico.

Asimismo, la exposición a tiempos prolongados de calentamiento puede favorecer que la formación del gel o goma de la linaza se dé en mayor proporción y de ahí la mayor viscosidad en la bebida. Este comportamiento de la linaza puede explicarse por lo encontrado en un estudio realizado para determinar las condiciones óptimas de extracción de la goma de la linaza, donde se encontró que la temperatura óptima es de 85 °C, temperatura similar a la del tratamiento térmico aplicado y que por ende favorece la formación de ese gel o goma de la linaza (Maherani *et al.* 2007).

Los parámetros de color determinados se muestran en el Cuadro XIV que se presenta a continuación. Como se puede observar estos valores fueron muy variables y no presentaron una tendencia clara según el tratamiento térmico ni las formulaciones.

Cuadro XIV. Valores de parámetros de color (L^* , a^* , b^* , DE^*) determinados para los tres prototipos de bebida desarrollados.

Prototipo	Tratamiento térmico	Color			
		L^*	a^*	b^*	DE^*
1	Sin pasteurizar	45,0 ± 1,4	12,2 ± 1,2	3,8 ± 1,0	0,00 ± 0,00
	71,1 °C, 3 s	45,0 ± 0,8	13,7 ± 1,6	3,3 ± 0,8	2,08 ± 0,41
	87 °C	43,8 ± 1,3	13,5 ± 1,5	4,8 ± 1,1	2,58 ± 0,98
2	Sin pasteurizar	43,4 ± 0,2	12,4 ± 0,6	4,7 ± 0,4	0,00 ± 0,00
	71,1 °C, 3 s	43,0 ± 0,5	14,7 ± 0,2	3,7 ± 0,2	2,58 ± 0,18
	87 °C	44,0 ± 0,4	12,8 ± 0,1	4,7 ± 0,5	0,81 ± 0,38
3	Sin pasteurizar	45,6 ± 0,8	10,9 ± 1,7	4,7 ± 0,3	0,00 ± 0,00
	71,1 °C, 3 s	46,3 ± 0,5	12,2 ± 2,0	4,1 ± 0,2	1,74 ± 0,45
	87 °C	45,9 ± 0,6	10,7 ± 1,7	5,4 ± 0,4	1,41 ± 0,24

Valores mostrados para cada variable son el promedio de los valores de concentración determinados por triplicado para cada uno de los tratamientos en los tres lotes independientes de producto, con su respectiva desviación estándar. Los valores de DE^* fueron calculados usando la fórmula $\sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$, donde L_0^* , a_0^* y b_0^* son los valores de L^* , a^* y b^* de las bebidas sin pasteurizar de cada uno de los prototipos, tomadas como valor referencia para el cálculo de los valores DE^* de las bebidas pasteurizadas y esterilizadas comercialmente (Tiwari *et al.* 2009a).

El valor de L^* indica el nivel de luminosidad del color, los valores van de 0 (negro) a 100 (blanco), el valor de a^* representa la escala de los colores que van de verde (valores negativos) a rojo (valores positivos), mientras que el valor de b^* representa los colores de azul (valores negativos) a amarillo (valores positivos) (Tiwari *et al.* 2008; Tiwari *et al.* 2009a; Tiwari *et al.* 2009b).

Como se muestra en el cuadro XIV, para las tres formulaciones de los prototipos sometidos a los diferentes tratamientos térmicos, los valores de L^* indican una luminosidad intermedia; los valores de a^* son positivos por lo que la coloración tiende más a tonalidades rojas, lo cual es de esperar por el color característico del jugo de mora que se encuentra en una proporción importante en las tres formulaciones. Mientras que en el caso de los valores de b^* , estos indican coloración amarillenta al ser positivos.

En el caso del parámetro DE^* este se calculó utilizando la fórmula que se detalla como nota al pie del Cuadro XIV; este valor indica la magnitud del cambio del color, luego de aplicados los tratamientos térmicos de pasteurización y esterilización, con respecto a las bebidas sin pasteurizar (Tiwari *et al.* 2008; Tiwari *et al.* 2009a; Tiwari *et al.* 2009b).

Como se puede observar en el Cuadro XIV, los valores se comportaron de forma diferente de acuerdo con el prototipo y el tratamiento térmico aplicado. En el caso del prototipo 1 el parámetro DE^* tendió a aumentar con el aumento de la temperatura del tratamiento térmico, mientras que para los prototipos 2 y 3 este parámetro tendió a disminuir conforme aumentó la temperatura del tratamiento térmico.

Las diferencias en el color perceptibles al ojo humano pueden ser clasificadas de forma analítica como muy diferentes ($DE^* > 3$), diferentes ($1,5 < DE^* < 3$) y poco diferentes ($DE^* < 1,5$) (Tiwari *et al.* 2008; Tiwari *et al.* 2009 b). Según esto, para el prototipo 1 los valores de color de la bebida pasteurizada y esterilizada comercialmente son diferentes de los de la bebida no pasteurizada. Mientras que para los prototipos 2 y 3, los valores de color de la bebida pasteurizada son diferentes de los de la bebida no pasteurizada y los de la bebida esterilizada comercialmente son poco distintos de los de la bebida no pasteurizada. Estas diferencias en el color que podrían ser perceptibles al ojo humano son un factor importante que se debe tener en cuenta, ya que esto podría tener implicaciones a nivel de aceptación de

la bebida por parte de los consumidores. Por esta razón, se debería evaluar si hay un efecto significativo de estos cambios sobre la aceptación sensorial de las bebidas.

Para ilustrar de mejor forma las diferencias observadas en el parámetro DE* en la Figura 16 se muestran los tres prototipos de la bebida sometidos a los tres tratamientos (sin pasteurizar, pasteurizada a 71,1 °C por 3 s y esterilizada comercialmente a 87 °C). Como se observa en la Figura 16, a simple vista se perciben ciertas diferencias en coloración entre formulaciones y entre tratamientos térmicos para una misma bebida, lo cual confirma la importancia de realizar una evaluación con consumidores del efecto de esos cambios sobre la aceptación sensorial de las bebidas.



Figura 16. Fotografías de los tres prototipos de la bebida desarrollados (1: prototipo 1, 2: prototipo 2, 3: prototipo 3) y sometidos a los tres tratamientos (SP: sin pasteurizar, P: pasteurizada 71,1 °C por 3 s, EC: esterilizada comercialmente a 87 °C).

6. Objetivo 3: Evaluación de los prototipos por parte de los consumidores mediante la técnica de análisis sensorial cualitativo: sesiones de grupo focal o *focus group*

6.1. Localización

Las sesiones de *focus group* se llevaron a cabo en las instalaciones de la Unidad de Conocimiento Agroalimentario (UCAGRO), ubicada en la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca.

6.2 Metodología

6.2.1 Perfil de potenciales consumidores participantes en las sesiones de grupo

Se llevaron a cabo dos sesiones de *focus group* con la participación de consumidores potenciales de las bebidas desarrolladas, de clase media a media-alta, residentes en el Gran Área Metropolitana, con edades entre los 36 y 64 años, consumidores de bebidas saludables (a base de frutas preferiblemente), interesados por el cuidado de su salud y no alérgicos a la soya. Para la primera sesión participaron 7 mujeres y 1 hombre; mientras que en el caso de la segunda fueron 5 mujeres y 1 hombre.

6.2.2 Selección de los participantes

Para la selección de los participantes de ambas sesiones de grupo llevadas a cabo se aplicó, a cada uno de los posibles participantes, una pequeña encuesta (ver apartado 10.3) como filtro, con el fin de conocer si el perfil del consumidor era acorde con lo que se estaba buscando como posible público meta de los prototipos desarrollados.

6.2.3 Logística de desarrollo de las sesiones

Ambas sesiones de grupo fueron dirigidas por la misma moderadora, la cual para el desarrollo de las mismas siguió lo establecido en la “Guía de sesiones para la aplicación de los *focus group*” (ver apartado 10.4). Esta guía fue diseñada y estructurada de forma que incluyera preguntas que permitieran obtener información en temas como hábitos de consumo de los participantes, su estilo de vida, las razones que los motivan a consumir bebidas funcionales, su percepción acerca de estas bebidas, específicamente las disponibles en el mercado costarricense, los ingredientes más comúnmente consumidos y preferidos por los consumidores, entre otros aspectos. Asimismo, se incluyeron actividades que permitieran profundizar en las percepciones de los participantes en los temas mencionados, estas actividades se detallan en la “Guía de sesiones” mostrada en el apartado 10.4.

Con el fin de evaluar el nivel de agrado de los prototipos por parte de los consumidores participantes en las sesiones y seleccionar el prototipo de mayor agrado, se incluyó una sección de evaluación sensorial de las bebidas. Debido a la logística de las sesiones, considerando la cantidad de muestras que tendrían que probar los consumidores, y tomando en cuenta las diferencias importantes percibidas en las características sensoriales (mayor viscosidad y color más oscuro y opaco) de los prototipos procesados bajo las condiciones de tratamiento térmico de esterilización comercial, se decidió que a los participantes de las sesiones se les presentarían sólo los prototipos procesados bajo las condiciones del tratamiento térmico de pasteurización (71,1 °C por 3 s).

Para la evaluación sensorial se les dio a los participantes una muestra de cada uno de los tres prototipos, en vasos de plástico transparentes, codificadas con números de tres dígitos asignados a las bebidas en forma aleatoria previamente y se les indicó que debían probarlas en el orden establecido también previamente de forma aleatoria (para los participantes de la

misma sesión el orden fue el mismo) y especificado en las hojas de evaluación entregadas con las muestras (ver apartado 10.4). Las muestras debían ser probadas por los participantes y calificadas según el nivel de agrado general en una escala del 0 al 10, donde un 0 es “me disgusta muchísimo” y un 10 “me gusta muchísimo”. Además, en la hoja de evaluación se dejó un espacio para sugerencias y comentarios de cambios u oportunidades de mejora detectados para cada uno de los prototipos. Las muestras fueron probadas por los participantes sin conocer los ingredientes de las mismas y sin haber sido informadas acerca de los beneficios y características principales que encierra el concepto del producto.

6.3 Resultados y discusión

6.3.1 Hábitos de consumo/estilo de vida de los participantes

En este aspecto cabe destacar que debido a que el perfil de los participantes resultó ser muy parecido en cuanto a las características generales de hábitos de consumo y estilo de vida se resumieron estas características en descriptores comunes como se describe a continuación.

En general todos los participantes expresaron que se preocupan por el cuidado de su salud y reconocen la importancia de tomar medidas o adquirir hábitos en su estilo de vida que les permitan llevar una vida saludable. El cuidado de la salud lo realizan incorporando la actividad física en sus vidas y mediante su alimentación.

En el caso del cuidado por medio de la actividad física esto incluye la práctica de algún deporte, la asistencia al gimnasio, caminatas, baile, entre otras actividades. Mientras que, en el caso de la alimentación, expresaron que tienen una alta preferencia por los productos naturales (sin aditivos “artificiales”), se interesan por conocer, adquirir y consumir alimentos saludables entre los que destacaron los productos integrales, bajos en grasa, con

bajo o nulo contenido de azúcar, bebidas naturales preferiblemente preparadas por ellos mismos, además de un alto consumo de frutas y vegetales, un consumo reducido de sodio, entre otros.

Asimismo, ciertos alimentos destacaron por ser conocidos como saludables o que generan un beneficio en el organismo como resultado de su consumo. Entre estos alimentos destacaron: la chía, la avena, la linaza, el agua de coco (pipa), las bebidas a base de *Aloe vera*, la hierbabuena, el jengibre, el yogurt, la moringa, los diversos tipos de té e infusiones, las frutas y vegetales en general, las semillas y los frutos secos.

6.3.2 Aspectos determinantes a la hora de elegir o comprar una bebida saludable

En esta actividad los participantes debían elaborar una lista con los aspectos que consideran más importantes a la hora de adquirir o consumir una bebida saludable. Entre los aspectos señalados destacaron: el sabor, el valor nutricional, los beneficios asociados a su consumo, el que sea un producto natural, el bajo o nulo contenido de azúcar, la apariencia del producto, la presentación o el empaque y el precio.

6.3.3 Concepto de alimento/bebida funcional

A los participantes de ambas sesiones se les preguntó acerca del conocimiento que tenían del concepto de alimento o bebida funcional, con el fin de tener un punto de partida en este aspecto y así poder ampliarlo, aclararlo y definirlo con mayor precisión para el entendimiento de los participantes.

En este sentido se detectó que la mayoría de los participantes tenían poco o nulo conocimiento del concepto y que este era entendido o confundido con otros conceptos. Algunos participantes asociaban el concepto con productos dirigidos exclusivamente a

poblaciones de deportistas, atletas, personas que asisten al gimnasio o incluso con productos dirigidos a poblaciones con padecimientos o necesidades específicas.

6.3.4 Diseño de la “bebida ideal”

En el Cuadro XV se resumen las principales características físicas, nutricionales y de empaque que según los consumidores debe tener una bebida saludable/funcional dirigida a una población de adultos sanos.

Cuadro XV. Características físicas, nutricionales y de empaque señaladas por los participantes de las sesiones de *focus group* como indispensables en una bebida saludable/funcional dirigida a una población de adultos sanos

Sesión #1	Sesión #2
Baja en calorías	A base de frutas
Refrescante	Saludable
“Energizante”	“Buen contenido nutricional”
“Que permita recuperación luego del ejercicio”	Refrescante, “que quite la sed”
“Atractiva, que llame la atención”	“Que dé saciedad, que llene”
“Que despierte el interés del consumidor”	“Complemento de la alimentación”
Etiqueta vistosa	“Que aporte algún beneficio a la salud”
Que sea natural y se destaque esto como uno de los principales atributos	Envase/botella reciclable o reutilizable, amigable con el ambiente
Que algo en el envase permita ver cómo es el producto (etiqueta o algo en el diseño)	Sabor agradable, “rica”
Sabor agradable	Poco contenido de azúcar
Precio adecuado, accesible	Precio accesible para la mayoría de la población
“Natural y nutritiva”	“Que ayude a la digestión”
“Contenido de antioxidantes relacionados con prevención del cáncer”	Para consumir luego de realizar ejercicio o actividad física de algún tipo

Estos hallazgos en relación con los patrones de consumo de alimentos, estilo de vida y preferencias de los participantes de las sesiones llevadas a cabo siguen la tendencia creciente que se ha observado en los últimos años, donde los consumidores se preocupan cada vez más por el cuidado de su salud y reconocen el papel esencial que juega la alimentación y los hábitos de consumo en este sentido (Chen 2011; Siró *et al.* 2008; Szakály *et al.* 2012).

Como parte de la tendencia mencionada, los consumidores pueden modificar sus hábitos de consumo, inclinándose por adquirir y consumir productos con contenidos y perfiles nutricionales que les permitan obtener el mayor beneficio para su salud y en la medida de lo posible que sean productos naturales (Szakály *et al.* 2012).

El hecho de que se destaque el sabor como uno de los principales atributos que toman en cuenta los consumidores a la hora de seleccionar los productos o alimentos saludables que ingieren como parte de su dieta, comprueba nuevamente lo encontrado en diversas investigaciones donde se ha reportado que los consumidores no están dispuestos a sacrificar o comprometer el sabor del alimento que consumen por posibles efectos beneficiosos para la salud (Siegrist *et al.* 2008; Siró *et al.* 2008).

6.3.5 Evaluación sensorial de los prototipos de la bebida

Los prototipos de las bebidas fueron degustados y evaluados por los participantes según lo indicado en la sección 6.3. Como parte de la evaluación cada participante debía indicar cuál de los prototipos probados le gustó más; los resultados obtenidos de esa selección se resumen en el gráfico que se presenta a continuación (Figura 17).

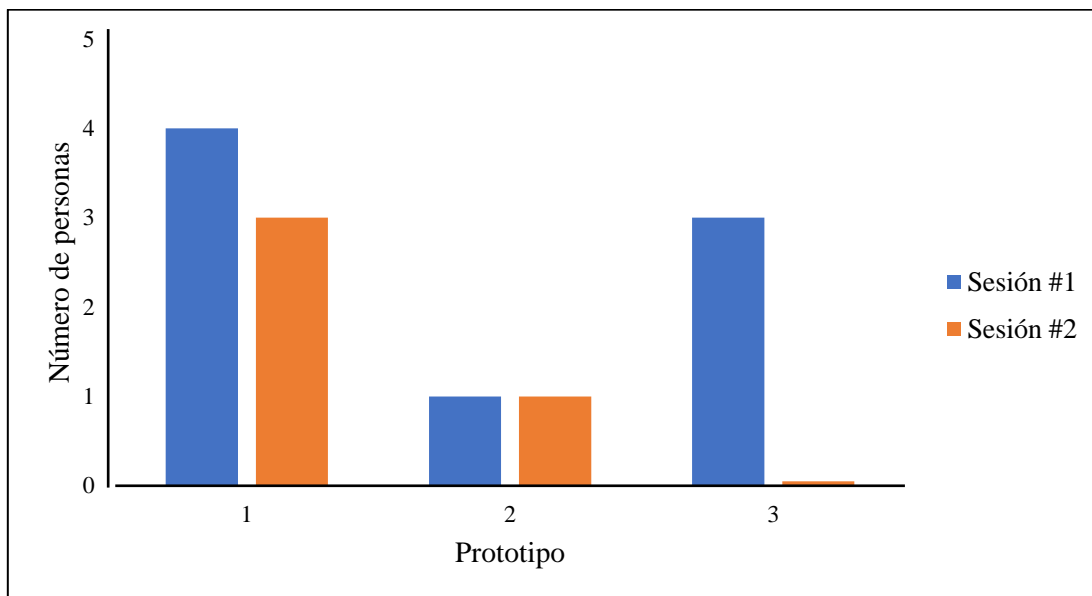


Figura 17. Resultados obtenidos en la prueba de agrado de tres prototipos de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya realizada en dos sesiones de *focus group*.

De acuerdo con la información de la Figura 17, el prototipo de mayor agrado, tomando en cuenta la evaluación realizada por los participantes de ambas sesiones, es el prototipo 1, seguido del prototipo 3 y por último el 2. Algunas características generales del prototipo 1 que pudieron influir en su aceptación por el consumidor y que fueron señaladas por los participantes de las sesiones son el color, que fue destacado como más atractivo y semejante al natural de la fruta (mora), la textura menos “espesa” y que hacía que la bebida fuera más fácil de tomar, el sabor más “balanceado” y que más reflejaba el contenido de las tres materias primas principales (mora, soya y linaza).

Estas características señaladas por los consumidores pueden relacionarse y explicarse tomando en cuenta las formulaciones de las bebidas. El hecho de que el color de la bebida sea más atractivo y el sabor más agradable y balanceado puede deberse a que las proporciones

de los dos principales ingredientes (mora y soya) en el prototipo 1 son muy parecidas y de ahí que el sabor de ambas esté más balanceado, en comparación con el prototipo 3 que tiene mayor contenido de soya que de mora y el del prototipo 2 que contiene más mora que soya.

Además, el prototipo 1 es el que contiene linaza en menor proporción de las tres formulaciones, lo cual puede influir en el color de la bebida ya que la linaza posee una tonalidad café y esto puede hacer que la bebida tenga una coloración más oscura y opaca, como señalaron los consumidores para las bebidas de menor agrado (prototipos 2 y 3). Asimismo, esto se puede observar en la coloración de las bebidas como se muestra en la Figura 16 presentada en el capítulo anterior.

Por otro lado, en el caso de la textura espesa, también puede relacionarse con el porcentaje de linaza en la bebida, ya que al contener menos linaza el prototipo 1 puede que se perciba como menos “espeso”, lo que estaría relacionado con el parámetro fisicoquímico de viscosidad ya explicado y analizado en el capítulo anterior (sección 5.4). Un mayor contenido de linaza podría implicar mayor formación del gel o goma de la linaza y con ello un aumento en la viscosidad de la bebida.

De estas evaluaciones y según los resultados mostrados en la Figura 17, se seleccionó el prototipo que presentó un mayor agrado por la mayoría de los consumidores como el más promisorio, en este caso el prototipo 1. A este prototipo se le realizó un análisis proximal, con el fin de caracterizarlo nutricionalmente y elaborar una ficha técnica del producto, la cual se adjunta en el apartado 10.5 de la sección de Anexos. Los resultados obtenidos del análisis proximal se presentan en el Cuadro XVI y son discutidos a continuación.

Cuadro XVI. Análisis proximal del prototipo seleccionado como el de mayor agrado por los consumidores en las sesiones de *focus group*, realizado por el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Parámetro	Valor reportado
Humedad (g/100 g)	84,32 ± 0,12
Cenizas (g/100 g)	0,83 ± 0,04
Acidez (g ácido málico/100 g)	1,36 ± 0,08
Grasa (g/100 g)	4,40 ± 0,32
Proteína (N*6,25) (g/100 g)	3,12 ± 0,11
Sodio (mg/100 g)	31,49 ± 1,98
Potasio (mg/100 g)	207,21 ± 0,60
Calcio (mg/100 g)	76,29 ± 1,70
Hierro (mg/100 g)	0,69 ± 0,06
Lactosa (g/100 g)	1,25 ± 0,09
Carbohidratos totales (g/100 g)	5,96 ± 0,50
Fibra dietética (g/100 g)	4,89 ± 0,19
Valor energético en kJ/100g (kcal/100 g)	335 (80) ± 5 (1)
Valor energético por grasa en kJ/100g (kcal/100 g)	166 (40) ± 12 (3)

*Valores reportados de cada parámetro son el promedio de los valores determinados para 3 lotes independientes de bebida

De acuerdo con lo obtenido del análisis proximal y lo establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 sobre el Etiquetado Nutricional de Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano, se puede decir que la bebida tiene un bajo contenido de sodio (no más de 140 mg/100 g). Además de que los contenidos de potasio y calcio están por encima del mínimo, 175 mg/100 g y 40 mg/100 g respectivamente, que establece este reglamento para declarar las propiedades asociadas al consumo de estos minerales (COMIECO, 2012).

Con respecto al contenido de sodio, es un aspecto positivo que este sea bajo ya que dietas que implican un elevado consumo de sodio se han visto asociadas con un incremento en la presión arterial y con ello un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares,

de sufrir un infarto y una mayor tasa de mortalidad por enfermedades coronarias (Mozaffarian *et al.* 2014; Sacks *et al.* 2001).

En el caso del contenido de potasio, como se mencionó anteriormente, este supera el mínimo que establece la reglamentación para declarar beneficios por su ingesta. El consumo de potasio como parte de la dieta tiene un papel como regulador de la presión sanguínea, tanto para la población en general como para las personas que padecen de presión sanguínea alta. Además, se le han asociado otros beneficios como la reducción en el riesgo de tener un infarto, la prevención de sufrir daño renal, la reducción de la excreción urinaria de calcio, reducción de la formación de piedras en los riñones y la disminución de desmineralización de los huesos (osteoporosis) (He y MacGregor 2001; Zhu *et al.* 2008).

Diversos estudios han demostrado que las personas cuya dieta se caracteriza por la ingesta de sodio en niveles bajos y de potasio en niveles altos, tienen valores de presión sanguínea más bajos, un menor riesgo de padecer de hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Cook *et al.* 2009).

Por otro lado, el contenido de calcio en la bebida supera también el mínimo que establece la reglamentación para declarar sus propiedades. Esto se considera un aspecto positivo ya que el consumo de calcio en bajas dosis se ha asociado con una menor densidad ósea, lo cual implica un mayor riesgo de padecer osteoporosis. El calcio es un micronutriente esencial y forma parte de la mayoría de los procesos metabólicos y las sales fosfatadas del mismo proveen rigidez mecánica a los huesos y los dientes (Fleming y Heimbach 1994; Kim *et al.* 2014; Nordin 1997).

Asimismo, por su contenido de fibra dietética y considerando lo que establece el RTCA 67.01.60:10 al respecto, la bebida puede considerarse como “fuente de fibra” ya que

contiene más de 3 g/100 g de la misma (COMIECO, 2012). Entre los beneficios asociados al consumo de alimentos que son fuente de fibra dietética destacan la reducción de la presión sanguínea tanto en pacientes con hipertensión arterial como en personas que no la padecen. Asimismo, se encuentra inversamente relacionado con la obesidad, la diabetes tipo dos, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. El consumo de fibra dietética mejora el control glicémico, disminuye la hiperinsulinemia y la concentración de lípidos en plasma en pacientes con diabetes tipo dos (Chandalia *et al.* 2000; Lattimer y Haub 2010; Whelton *et al.* 2005). Recientes investigaciones indican que el consumo de fibra dietética tiene diversos efectos a nivel metabólico, entre los cuales se incluyen la mejora de la sensibilidad a la insulina, la regulación de la secreción de ciertas hormonas intestinales, así como efectos en varios marcadores metabólicos e inflamatorios asociados con el síndrome metabólico (Weickert y Pfeiffer 2008).

Es importante mencionar que como se observa en el Cuadro XVI, la bebida contiene lactosa. Esta lactosa proviene de la bebida de soya utilizada como materia prima en la elaboración de los prototipos. El Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10, establece que un alimento debe contener menos de 0,5 g de lactosa por porción para poder ser consumido por una persona intolerante a la lactosa. Por esta razón, debe declararse que la bebida contiene lactosa por lo que no podría ser consumida por personas intolerantes a la lactosa (COMIECO, 2012).

Estos resultados derivados del análisis proximal realizado a la bebida en conjunto con las ya mencionadas propiedades asociadas a los compuestos polifenólicos bioactivos de la mora, linaza y soya, muestran que la bebida desarrollada posee potencial como bebida funcional.

Otro de los resultados derivados de las evaluaciones sensoriales llevadas a cabo en ambas sesiones de *focus group* fue la detección de ciertas oportunidades de mejora señaladas en general por los participantes de ambas sesiones de grupo, así como aspectos positivos de los prototipos en relación con la formulación y características generales de los mismos. Ambos aspectos se resumen a continuación en forma de lista.

Oportunidades de mejora detectadas

- a) Mejoramiento de la textura: disminuir un poco el espesor ya que para el concepto de bebida no es el esperado. Lo espeso es agradable ya que se asocia con una mayor saciedad y contenido de ingredientes, pero a la vez el producto bajo el concepto de bebida debe ser fácil de tomar.
- b) Aumento del dulzor: algunos participantes sugieren que se aumente un poco el nivel de dulzor sin que esto implique añadir grandes cantidades de azúcar en detrimento de su valor nutricional.
- c) Mejora del color: este debe ser más parecido al color natural de la fruta (mora) en combinación con una bebida de soya, se habla de una tonalidad conocida popularmente como “mora en leche”.
- d) Cambio de concepto de producto: debido a su textura espesa se sugiere que el producto puede ser llamado de otra forma y no como “bebida”. Entre las posibilidades se sugiere que asemeje la textura de un yogurt o incluso de un “topping”. Si se desea comercializar como bebida se debe mejorar la textura para que sea acorde al concepto.

Aspectos positivos resaltados

- a) Uso de mora, linaza y soya: la combinación de las tres materias primas principales que componen la bebida resulta atractivo por lo innovador.
- b) Beneficios asociados a las materias primas: el conocer más acerca de los potenciales beneficios por el consumo de la mora, linaza y soya utilizadas en la elaboración de las bebidas le da al producto un valor agregado.
- c) Posibilidad de consumo de linaza: la incorporación en la bebida de este alimento beneficioso y poco consumido debido a que normalmente requiere un proceso de preparación previa se considera una buena oportunidad de facilitar y promover su consumo.
- d) Alternativa de consumo de producto saludable: considerando los beneficios asociados a la mora, linaza y soya se consideró que la bebida desarrollada representa una forma de que los consumidores ingieran en forma de bebida un producto saludable.
- e) Práctico y listo para su consumo: se destacó el hecho de que el producto desarrollado no requiere de ninguna preparación adicional para ser consumido.

6.3.6 Concepto de producto

Como parte de la sesión se expuso el concepto de producto desarrollado en torno a la bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya. En este concepto se incluyeron aspectos relacionados con la composición de la bebida (ingredientes principales, contenido de azúcar), el público meta seleccionado para el producto y un poco acerca de los beneficios que se le han asociado a los componentes principales de la bebida (mora, linaza y soya) (ver concepto en la guía de sesión presentada en el apartado 10.4 de la sección de Anexos).

Los principales aspectos que llamaron la atención de los participantes de ambas sesiones son los asociados con los potenciales beneficios de la mora, linaza y soya. Esto debido a que la mayoría de ellos no tenía conocimiento de esos beneficios y muchos de los términos en sí mismos.

Es importante señalar que en ambas sesiones los participantes indicaron que en su opinión el público meta del producto no debe limitarse a “una población de adultos consumidores sanos”, ya que se considera que los beneficios pueden ser aprovechados por diferentes segmentos de la población. El limitar el consumo a un sector específico de la población sería desaprovechar el producto y la posibilidad de llegar a otras poblaciones como por ejemplo los adultos mayores, estos muchas veces ya no pueden masticar y no consumen generalmente líquidos; por lo que la bebida sería una opción para ingerir un producto saludable y que se adecua a las limitaciones y necesidades de esta población. También los adolescentes y los niños pueden verse beneficiados por su consumo e incorporar este alimento en su dieta.

6.3.7 Perfil del consumidor típico de la bebida

Como actividad final se solicitó a los participantes realizar un perfil del que consideran ellos es el consumidor típico de la bebida desarrollada. Este perfil debía incluir aspectos como la edad, el sexo, nombre, lugar de residencia, profesión, estilo de vida, intereses, cómo cuida de su salud, hábitos de consumo, estilo de vida, entre otros aspectos.

A continuación, en los Cuadros XVII y XVIII, se muestra un resumen de los perfiles de los consumidores creados por los participantes de las sesiones, para cada sesión se conformaron dos grupos por lo que al final se obtuvieron cuatro perfiles. En el Cuadro XVII se muestran los perfiles que surgieron en la primera sesión y en el XVIII los de la segunda.

Cuadro XVII. Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la primera sesión de grupo focal.

Aspecto	Consumidor 1	Consumidor 2
Edad	35 años	30 años
Sexo	Mujer	Hombre
Nombre	Sofía	Mario
Lugar de residencia	San Pedro, San José, Costa Rica	San Pedro, San José, Costa Rica
Sueños	Desarrollo integral: ser madre, profesional, persona familiar, viajar, saludable, vida equilibrada, belleza tanto interna como externa	NE
Temores	Enfermarse, fracasar, estancarse, no realizarse como mujer	Al fracaso
Estudios/profesión	Economista	Vendedor de carros
Estilo de vida/intereses	Tiene una vida ajetreada (activa) con poco tiempo para sí misma. Le interesa el ejercicio físico, el balance entre familia y trabajo, evitar la rutina, tener éxito.	Le gusta el deporte, vida saludable con la incorporación de la práctica de ejercicios y los paseos.
Cuidado de la salud	Mediante el cuidado de la alimentación buscando ofertas comerciales sanas e incorpora el ejercicio físico en su vida.	Por medio de alimentación saludable y la práctica de ejercicios (actividad física).
Alimentos y bebidas que consume	Cuando puede cocina y en otros momentos consume productos saludables. Incluye vegetales y frutas, leguminosas, proteínas, bebidas energizantes, agua, vino, carbohidratos saludables.	Tiene una dieta basada en comida saludable que incluye frutas, vegetales (no harinosos), cereales, entre otros.
Pasatiempos	Leer, ir al cine, caminar, pasear, convivir con sus amigos.	Leer, pasear con su familia
¿Qué tiene la nueva bebida que hace que la persona la consuma?	“Consumo la bebida dos veces al día, en el desayuno y a media tarde. Le aporta antioxidantes que coadyuvan a su proceso natural de envejecimiento”	Le aporta nutrientes necesarios para el desarrollo de su vida diaria, es práctica de consumir, rápido, no debe prepararla y tiene un precio accesible.
¿Qué necesidades resuelve con la bebida?		

NE: no especificado

Cuadro XVIII. Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la segunda sesión de grupo focal.

Aspecto	Consumidor 1	Consumidor 2
Edad	40 años	55 años
Sexo	Mujer	Hombre
Nombre	María	Juan
Lugar de residencia	San Pedro, San José, Costa Rica	Coronado, San José, Costa Rica
Sueños	NE	Comprar una finca, vivir en un ambiente sano con aire puro y tener una vida saludable.
Temores	Al sufrimiento físico y mental producto de enfermedades o padecimientos que se desarrollan como resultado de no llevar un estilo de vida saludable	Contraer enfermedad grave No tener trabajo
Estudios/profesión	Ama de casa	NE
Estilo de vida/intereses	Lleva una vida saludable. Le gusta estar informada por medio de las redes sociales y los recursos disponibles en línea de las nuevas tendencias en alimentación que le permitan llevar una vida saludable. Además de informarse por medio de doctores e internet acerca de las formas de prevenir la contracción de padecimientos que deterioren su salud.	Lleva una vida saludable, le gusta preparar bebidas que le permitan probar nuevos sabores, disfrutar, sentirse satisfecho y feliz. Se interesa por consumir alimentos y en particular bebidas saludables.
Cuidado de la salud	Mediante el ejercicio ya que asiste al gimnasio donde se entera de las tendencias y recomendaciones en alimentos saludables. Se preocupa por el cuidado de su salud, pero también por el de los miembros de su familia (sus hijos, esposo y sus padres).	Mediante su alimentación, consumiendo productos naturales que pueda disfrutar, saludables.

NE: no especificado

Cuadro XVIII (continuación). Perfiles del consumidor típico de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, creados por los participantes de la segunda sesión de grupo focal.

Aspecto	Consumidor 1	Consumidor 2
Alimentos y bebidas que consume	Alimentos y bebidas que le permitan satisfacer su sed y recuperarse del ejercicio que realiza. Que le aporten beneficios nutricionales.	Saludables, bajos en calorías, naturales, con buen valor nutricional. Consume leche todas las mañanas (saludable). No le gustan los ingredientes artificiales.
Pasatiempos	Se dedica al cultivo de plantas y le gustan las actividades al aire libre como las caminatas y poder disfrutar de la naturaleza.	“Escuchar radio, caminar, bajar frutas de los árboles, cosechar hortalizas, arrear y ordeñar vacas”
¿Qué tiene la nueva bebida que hace que la persona la consuma?	Consume la nueva bebida por su valor nutritivo. Esta le resuelve la necesidad de tener un producto que además de saciar su sed le aporte beneficios nutricionales adicionales relacionados con la prevención de contraer enfermedades y que ayude al mejoramiento de la salud de ella y todos los miembros de su familia.	Consume la nueva bebida por su sabor, presentación, color, olor, textura, contenido nutricional único, “rica”, barata, saludable.
¿Qué necesidades resuelve con la bebida?		

Como se puede deducir de los resultados que surgieron de la aplicación de las sesiones de grupo focal, los participantes de estas sesiones, al igual que los consumidores de bebidas saludables entrevistados como parte de la aplicación de la técnica QFD en el primer objetivo de la presente investigación, mostraron una preferencia por el consumo de productos naturales, con bajo o nulo contenido de azúcar, con contenidos nutricionales que se ajusten a un estilo de vida saludable, con beneficios asociados a la mejora de la salud y prevención de contracción de enfermedades como el cáncer, la diabetes, enfermedades cardiovasculares,

entre otros padecimientos. Asimismo, los participantes de las sesiones manifestaron la importancia del cuidado de la salud por medio de una alimentación saludable, basada principalmente en la ingesta de alimentos a base de frutas, vegetales y otros con beneficios a la salud asociados a su consumo como los mencionados en la sección 6.3.1.

Otro de los aspectos a destacar es el hecho de que las características determinantes a la hora de elegir o comprar una bebida saludable coinciden en general con los requisitos expresados por los consumidores en las entrevistas realizadas como parte del uso de la herramienta del QFD. Estos aspectos son el sabor, el contenido de azúcar, el que sea un producto natural, su contenido nutricional, los beneficios derivados de su consumo, así como la apariencia del producto.

Los elementos destacados como importantes a la hora de elegir una bebida saludable, así como las características tanto de los consumidores que participaron en las sesiones de grupos focales como de los entrevistados como parte de la técnica QFD, se vieron reflejados en la descripción de los perfiles de los consumidores típicos de la bebida saludable realizados en las sesiones de *focus group* y detallados anteriormente en los Cuadros XVII y XVIII.

La información detallada en esta sección en conjunto con los resultados obtenidos del uso de técnica QFD, permiten tener un punto de partida para las siguientes etapas de desarrollo del producto, orientando el proceso en cuanto a los requisitos de los consumidores típicos de la bebida, los aspectos considerados como más importantes, las características que buscan en una bebida saludable, los cambios o mejoras que se le pueden realizar al producto desarrollado. Además, con los resultados obtenidos se puede crear un perfil del consumidor al cual estaría dirigida la bebida desarrollada.

7. Conclusiones

- El uso de la técnica de QFD permitió determinar y priorizar los requerimientos de los consumidores de bebidas saludables y traducirlos en requisitos técnicos de la bebida desarrollada. El sabor, el contenido de azúcar, el contenido o valor nutricional del producto y la textura destacaron como los aspectos más importantes o de mayor prioridad.
- Se determinó la formulación y las condiciones de procesamiento de tres prototipos de una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya con ayuda de la técnica QFD y una revisión bibliográfica exhaustiva realizada.
- La intensidad del tratamiento térmico tuvo un efecto significativo ($P < 0,05$) en el contenido de antocianinas en los tres prototipos desarrollados, provocando una disminución en las bebidas sometidas al proceso de esterilización comercial (87°C con llenado en caliente) con respecto al contenido en la bebida sin pasteurizar y la pasteurizada a $71,1^{\circ}\text{C}$ por 3 s.
- El contenido de elagitaninos, isoflavonas, lignanos y polifenoles totales en las bebidas no se vio afectado en forma significativa ($P < 0,05$) por la intensidad del tratamiento térmico aplicado a los tres prototipos desarrollados.
- Las características fisicoquímicas de los prototipos presentaron comportamientos variables según el tratamiento térmico aplicado para las tres formulaciones desarrolladas, siendo el pH y los $^{\circ}\text{Brix}$ los que presentaron valores menos variables según el tratamiento térmico y la formulación.
- El uso de la técnica de sesiones de grupo focal, mediante la realización de dos sesiones, permitió observar que ciertos aspectos sensoriales (sabor, textura, apariencia, color) y un bajo

contenido de azúcar, son determinantes para los consumidores a la hora de ingerir bebidas funcionales.

- La aplicación de las técnicas de QFD y *focus group* permitió conocer la percepción de los consumidores adultos costarricenses, con edades entre los 30 y 64 años, sobre las bebidas saludables y funcionales, así como recopilar información en temas como hábitos de consumo de los participantes, su estilo de vida, las razones que los motivan a consumir este tipo de alimentos, su percepción acerca de las bebidas funcionales, específicamente las disponibles en el mercado costarricense.

- El contenido nutricional, los beneficios a la salud derivados de su consumo y el empaque destacaron como factores importantes para los consumidores, con una marcada preferencia por productos naturales, sin adición de preservantes, colorantes ni edulcorantes artificiales.

8. Recomendaciones

- Aplicar las mejoras sugeridas por los participantes de las sesiones de *focus group* a las formulaciones desarrolladas, con respecto a la textura y el dulzor de las mismas.
- Evaluar la aceptación sensorial de los prototipos por parte de los consumidores, una vez aplicadas las mejoras sugeridas a las formulaciones, utilizando una técnica más robusta de evaluación sensorial de las bebidas desarrolladas, como un panel de agrado con un mayor número de jueces (potenciales consumidores) con el fin de obtener datos más generalizables a la población a la que está dirigida el producto.
- Realizar un estudio de vida útil de la bebida con base en análisis microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales, para determinar la vida útil exacta de las bebidas procesadas mediante ambos tratamientos térmicos.
- Evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento en el contenido de compuestos bioactivos de las bebidas desarrolladas bajo las condiciones normales de almacenamiento asociadas a ambos tratamientos térmicos.
- Realizar un estudio de biodisponibilidad de los compuestos bioactivos de interés en las bebidas en dosis y condiciones normales de consumo de la población a la que está dirigida el producto.
- Analizar el perfil de ácidos grasos de la bebida debido a la posible presencia de ácidos grasos mono- y poliinsaturados asociados a la linaza añadida como parte de la formulación.

- Aplicar estrategias con el fin de aumentar el porcentaje de rendimiento de la operación de prensado para obtener el jugo de mora. En primer lugar, la aplicación de un tratamiento enzimático y en segundo lugar la extracción acuosa del residuo de prensado (torta) y su uso como parte de la formulación de la bebida (en sustitución del agua añadida).

9. Bibliografía

- Acosta-Montoya, O; Vaillant, F; Cozzano, S; Mertz, C; Pérez, AM; Castro, MV. 2010. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. *Food Chemistry* 119(4): 1497-1501.
- Aehle, E; Müller, U; Eklund, PC; Willför, SM; Sippl, W; Dräger, B. 2011. Lignans as food constituents with estrogen and antiestrogen activity. *Phytochemistry* 72(18): 2396-2405.
- Agriculture and Agri-Food Canada. 2009. Market analysis report. Consumer trends: functional foods. Canadá. 10 p.
- Al Asaad, N; Al Diab, D. 2016. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Eight Mediterranean Fruit Juices. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology* 9(3): 3299-3304.
- Andrade, JM; Fasolo, D. 2014. Polyphenol antioxidants from natural sources and contribution to health promotion. *In* Watson, RR; Preedy, VR; Zibadi, S. *Polyphenols in Human Health and Disease*. Estados Unidos, Elsevier. p. 253-265.
- AOAC International. 2005a. Official methods of analysis: Official method 981.12. pH of acidified foods (en línea). Consultado 16 feb. 2017. Disponible en <http://www.eoma.aoac.org/>.
- AOAC International. 2005b. Official methods of analysis: Official method 950.27. Solids (total) in nonalcoholic beverages (en línea). Consultado 16 feb. 2017. Disponible en <http://www.eoma.aoac.org/>.

- Arthur, R. 2016. Functional water is predicted to grow very fast: Euromonitor on functional beverage trends (en línea). William Reed Business Media Ltd. Crawley, Inglaterra. Consultado 4 ago. 2018. Disponible en <https://www.beveragedaily.com/Article/2016/06/03/Euromonitor-functional-beverage-trends>
- Azofeifa, G. 2013. Study of the health promoting properties of the tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos*) and the impact of digestion and pasteurization processes. Tesis Ph.D. Montpellier, Francia. Université Montpellier II. 152 p.
- Azofeifa, G; Quesada, S; Navarro, L; Hidalgo, O; Portet, K; Pérez, AM; Vaillant, F; Poucheret, P; Michel, A. 2016. Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of blackberry beverage consumption in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Functional Foods* 26: 330-337.
- Bakkalbaşı, E; Menteş, Ö; Artik, N. 2009. Food ellagitannins-occurrence, effects of processing storage. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49(3): 283-298.
- Ballesteros, E. 2015. Phenolic Compounds. *In* Nollet, LML; Toldrá, F (eds.). *Handbook of Food Analysis*. 3 ed. Estados Unidos, CRC Press. p. 695-715.
- Ballhorn, DJ. 2011. Chapter 14 - Cyanogenic Glycosides in Nuts and Seeds. *In* Preedy, VR; Watson, RR; Patel, VB (eds). *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Estados Unidos, Academic Press. p 129-136.
- Bernacchia, R; Preti, R; Vinci, G. 2014. Chemical composition and health benefits of flaxseed. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences* 2 (8): 1045.

- Bhise, VD. 2013. Product Development Tools. In *Designing Complex Products with Systems Engineering Processes and Techniques*. Estados Unidos. CRC Press. p. 241-277.
- Bouchereau, V; Rowlands, H. 2000. Methods and techniques to help quality function deployment (QFD). *Benchmarking: An International Journal* 7(1): 8-19.
- Bowen-Forbes, CS; Zhang, Y; Nair, MG. 2010. Anthocyanin content, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 23(6): 554-560.
- Bradbury, JH; Bradbury, MG; Egan, SV. 1994. Comparison of methods of analysis of cyanogens in cassava. *Acta Horticulturae* 375: 87-96.
- Chadha, RK; Lawrence, JF; Ratnayake, WM. 1995. Ion chromatographic determination of cyanide released from flaxseed under autohydrolysis conditions. *Food Additives and Contaminants* 12(4): 527-533.
- Chandalia, M; Garg, A; Lutjohann, D; von Bergmann, K; Grundy, SM; Brinkley, LJ. 2000. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *The New England of Journal Medicine* 342(19): 1392-1398.
- Charness, N; Demiris, G; Krupinski, E. 2011. Tutorial on Conducting Focus Groups. In *Designing Telehealth for an Aging Population: A Human Factors Perspective*. Estados Unidos, CRC Press. p 81-86.
- Chen, MF. 2011. The joint moderating effect of health consciousness and healthy lifestyle on consumers' willingness to use functional foods in Taiwan. *Appetite* 57(1): 253-262.

- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2015a. Determinación de polifenoles por HPLC, P-SA-MQ-044. Emisión N° 2. San José, Costa Rica.
- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2015b. Determinación de polifenoles, P-SA-MQ-048. Emisión N°10. San José, Costa Rica.
- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2015c. Determinación del pH, P-SA-MQ-012. Emisión N°7. San José, Costa Rica.
- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2015d. Grados Brix, P-SA-MQ-046. Emisión N° 2. San José, Costa Rica.
- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2015e. Viscosidad, P-SA-MQ-043. Emisión N°2. San José, Costa Rica.
- CITA (Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Costa Rica). 2016. Determinación de color en muestras de alimentos mediante el uso de Colorímetro electrónico, Colorflex EZ, P-SA-MQ-045. Emisión N°3. San José, Costa Rica.
- CNP (Consejo Nacional de Producción, Costa Rica). 2013a. Boletín Monitoreo de mercados: granos. Sistema de Información Agroalimentaria. Costa Rica. N° 1-2013. 8 p.
- CNP (Consejo Nacional de Producción, Costa Rica). 2013b. Boletín Monitoreo de mercados: mora. Sistema de Información Agroalimentaria. Costa Rica. N° 01-2013. 4 p.
- CNP (Consejo Nacional de Producción, Costa Rica). 2014. Boletín Monitoreo de mercados: granos. Sistema de Información Agroalimentaria. Costa Rica. N° 1-2014. 11 p.

- CNP (Consejo Nacional de Producción, Costa Rica). 2015. Boletín Monitoreo de mercados: mora. Sistema de Información Agroalimentaria. Costa Rica. N° 01-2015. 5 p.
- Cook, NR; Obarzanek, E; Cutler, JA; Buring, JE; Rexrode, KM; Kumanyika, SK; Appel, LJ; Whelton, PK. 2009. Joint Effects of Sodium and Potassium Intake on Subsequent Cardiovascular Disease. *Archives of International Medicine* 169(1): 32-40.
- Corbo, MR; Bevilacqua, A; Petruzzi, L; Casanova, FP; Sinigaglia, M. 2014. Functional beverages: The emerging side of functional foods commercial trends, research, and health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13(6):1192-1206.
- COMIECO (Consejo de Ministros de Integración Económica, Costa Rica). 2012. Decreto Ejecutivo 37100. Resolución N° 277-2011 (COMIECO-LXI) del 2 de diciembre de 2011 y su anexo: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años de edad. *Diario Oficial La Gaceta* N° 89, Alcance Digital N° 61. 9 may.
- Cristiano, JJ; Liker, JK; White, CC. 2001. Key factors in the successful application of quality function deployment (QFD). *IEEE Transactions on Engineering Management* 48(1): 81-95.
- Crowe, KM; Francis, C. 2013. Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 113(8): 1096-1103.
- Dilshad, RM; Latif, MI. 2013. Focus Group Interview as a Tool for Qualitative Research: An Analysis. *Pakistan Journal of Social Sciences* 33(1): 191-198.

- Dulebohn, JI; Carlotti RJ. 2005. Soy Milk Juice Beverage. Milkwaukee, Estados Unidos. Foley and Lardner. Pat. US 2005/0074535 A1. 7 abr. 6 p.
- Edel, AL; Pierce, GN; Aliani, M. 2015. Age-dependency in the metabolism of flaxseed lignans by healthy adults. *Journal of Functional Foods* 17: 948-957.
- Eliasson, C; Kamal-Eldin, A; Andersson, R.; Åman, P. 2003. High-performance liquid chromatographic analysis of secoisolariciresinol diglucoside and hydroxycinnamic acid glucosides in flaxseed by alkaline extraction. *Journal of Chromatography A* 1012(2): 151-159.
- Escobar, J; Bonilla-Jiménez, FI. 2009. Grupos focales: una guía conceptual y metodológica. *Cuadernos Hispanoamericanos de Psicología* 9(1): 51-67.
- Feng, D; Shen, Y; Chavez, ER. 2003. Effectiveness of different processing methods in reducing hydrogen cyanide content of flaxseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 836-841.
- Fleming, KH; Heimbach, JT. 1994. Consumption of Calcium in the U.S.: Food Sources and Intake Levels. *The Journal of Nutrition* 124: 1426S-1430S.
- Fisk, AD; Rogers, WA; Charness, N; Czaja, SJ; Sharit, J. 2009. Conducting focus groups with older adults. *In* *Designing for older adults. Principles and creative human factors approaches*. 2 ed. Estados Unidos, CRC Press. p. 179-191.
- Fransceschini, F. 2001. Quality function deployment. *In* *Advanced Quality Function Deployment*. Estados Unidos, CRC Press. p. 21-33.

- Georgé, S; Brat, P; Alter, P; Amiot, MJ. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin c in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1370-1373.
- Goyal, A; Sharma, V; Upadhyay, N; Gill, S; Sihag, M. 2014. Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal of Food Science and Technology* 51(9): 1633-1653.
- Granato, D; Branco, GF; Nazarro, F; Cruz, AG; Faria, JAF. 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9(3): 292-302.
- Grand View Research. 2018. Functional Drinks Market Size, Share & Trends Analysis Report By Type (Sports Drinks, Energy Drinks, Nutraceutical Drinks), By Region (US., Canada, Mexico, U.K.), And Segment Forecasts, 2010 – 2019 (en línea). California, Estados Unidos. Consultado 4 ago. 2018. Disponible en <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/functional-drinks-market>
- Hager, TJ; Howard, LR; Prior, RL. 2008. Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blackberry Products 56: 689-695.
- Hager, TJ; Howard, LR; Prior, RL. 2010. Processing and Storage Effects on the Ellagitannin Composition of Processed Blackberry Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 11749-11754.
- He, FJ; Chen, JQ. 2013. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. *Food Science and Human Wellness* 2:146-161.

- He, FJ; MacGregor, GA. 2001. Beneficial effects of potassium. *British Medical Journal* 323: 497-501.
- Herchi, W; Arráez-Román, D; Boukhchina, S; Kallel, H; Segura-Carretero, A; Fernández-Gutiérrez, A. 2012. A review of the methods used in the determination of flaxseed components. *African Journal of Biotechnology* 11(4): 724-731.
- Hu, C; Yuan, IV; Kitts, DD. 2007. Antioxidant activities of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglucoside, its aglycone secoisolariciresinol and the mammalian lignans enterodiol and enterolactone *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology* 45(11): 2219-2227.
- IFT. 2005. Expert Report. Functional Foods: Opportunities and Challenges. Estados Unidos. 66 p.
- Imran, M; Anjum, FM; Butt, MS; Siddiq, M; Sheikh, MA. 2013. Reduction of Cyanogenic Compounds in Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) Meal Using Thermal Treatment. *International Journal of Food Properties* 16(8): 1809-1818.
- Jaiswal, ES. 2012. A case study on Quality Function Deployment (QFD). *Journal of Mechanical and Civil Engineering* 3(6): 27-35.
- Juan, S; Roussos, A. 2010. El focus group como técnica de investigación cualitativa (en línea). Buenos Aires, Argentina. Universidad de Belgrano. 12 p. Consultado 20 ene. 2018 (Documento de Trabajo n.º 256). Disponible en http://www.ub.edu.ar/investigaciones/dt_nuevos/256_roussos.pdf.
- Kammerer, DR; Kramer, M; Carle, R. 2012. Phenolic compounds. In Nolle, LML; Toldrá, F (eds.). *Food Analyses by HPLC*. 3 ed. Estados Unidos, CRC Press. p. 717-756.

- Kaume, L; Howard, LR; Devareddy, L. 2012. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(23): 5716-5727.
- Kaur, N; Singh, DP. 2017. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. *Appetite* 112: 167-187.
- Kim, KM; Choi, SH; Lim, S; Moon, JH; Kim, JH; Kim, SW; Jang, HC; Shin, CS. 2014. Interactions Between Dietary Calcium Intake and Bone Mineral Density or Bone Geometry in a Low Calcium Intake Population (KNHANES IV 2008–2010). *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 99(7): 2409-2417.
- Kiss, AK; Piwowarski, JP. 2016. Ellagitannins, Gallotannins and their Metabolites- The Contribution to the Anti-Inflammatory Effect of Food Products and Medicinal Plants. *Current Medicinal Chemistry* 23: 1-22.
- Koponen, JM; Happonen, AM; Mattila, PH; Törrönen, AR. 2007. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(4):1612-1619.
- Kuhnle, GGC. 2012 Isoflavones. *In* Nollet, LML; Toldrá, F (eds). *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*. Estados Unidos, CRC Press. p. 405-434.
- Landete, JM. 2011. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International* 44:1150-1160.
- Landete, JM. 2012. Plant and mammalian lignans: a review of source, intake, metabolism, intestinal bacteria and health. *Food Research International* 46(1): 410-424.
- Lane, P. 2016. Focus group methodology. *Nurse Researcher* 8(3): 45-59.

- Larrosa, M; García-Conesa, MT; Espín, JC; Tomás-Barberán, FA. 2010. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Molecular Aspects of Medicine* 31:513-539.
- Li, X; Yuan, JP; Xu, SP; Wang, JH; Liu, X. 2008. Separation and determination of secoisolariciresinol diglucoside oligomers and their hydrolysates in the flaxseed extract by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1185(2): 223-232.
- Liu, K. 2004a. Soybeans as a Powerhouse of Nutrients and Phytochemicals. *In Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Estados Unidos, AOCS Press. p. 1-22.
- Liu, K. 2004b. Soy Isoflavones: Chemistry, Processing Effects, Health Benefits, and Commercial Production. *In Soybeans as Functional Foods and Ingredients*. Estados Unidos, AOCS Press. p. 52-71.
- Maherani, B; Barzegar, M; Sahari, MA. 2007. Extraction conditions and physico-chemical properties of flaxseed gum. *Journal of Food Science and Technology* 44(3): 250-254.
- Malhotra, NK; Birks, D. 2006. *Marketing Research: An Applied Approach*. 3 ed. Italia, Pearson Education. 835 p.
- Manach, C; Scalbert, A; Morand, C; Rémésy, C; Jiménez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- Markovic, R; Baltic, MZ; Pavlovic, M; Glisic, M; Radulovic, S; Djordjevic, V; Sefer, D. 2015. Isoflavones - from Biotechnology to Functional Foods. *Procedia Food Science* 5: 176-179.

- Mazzotta, AS. 2001. Thermal Inactivation of Stationary-Phase and Acid Adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in Fruit Juices. *Journal of Food Protection* 64(3): 315-320.
- McDonagh-Philip, D.; Bruseberg, A. 2000. Using focus groups to support new product development. *Institution of Engineering Designers Journal* 26(5): 4-9.
- Meagher, LP; Beecher, GR; Flanagan, VP; Li, BW. 1999. Isolation and Characterization of the Lignans, Isolariciresinol and Pinoresinol, in Flaxseed Meal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 3173-3180.
- Mertz, C; Cheynier, V; Günata, Z ; Brat, P. 2007. Analysis of Phenolic Compounds in Two Blackberry Species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(21): 8816-8624
- Messina, M. 2005. Overview of the Health Effects of Soyfoods. *In* Riaz, M.N. *Soy Applications in Food*. Estados Unidos, CRC Press. p. 23-38.
- Morales-de la Peña, M; Salvia-Trujillo, L; Rojas-Graü, MA; Martín-Belloso, O. 2010. Isoflavone profile of a high intensity pulsed electric field or thermally treated fruit juice-soymilk beverage stored under refrigeration. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11(4): 604-610.
- Mozaffarian, D; Fahimi, S; Singh, GM; Micha, R; Khatibzadeh, S; Engell, RE; Lim, S; Danaei, G; Ezzati, M; Powles, J. 2014. Global Sodium Consumption and Death from Cardiovascular Causes. *The New England Journal of Medicine* 317: 624-634.

- Murphy, P. 2004. Isoflavones in Soybean Processing. *In* Dunford, N.T. & Dunford, H.B (eds.). *Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing*. Illinois, Estados Unidos, AOAC Press. p. 38-70.
- Natale, A; Nardiello, D; Palermo, C; Muscarella, M; Quinto, M; Centonze, D. 2015. Development of an analytical method for the determination of polyphenolic compounds in vegetable origin samples by liquid chromatography and pulsed amperometric detection at a glassy carbon electrode. *Journal of chromatography A* 1420:66-73.
- New, K. 2015. Formulation Success for Soy Beverages. *The World of Food Ingredients* (en línea). Arnhem, Holanda. Consultado 20 abr. 2017. Disponible en <https://www.foodingredientsfirst.com/searchresult.html?Formulation%20Success%20for%20Soy%20Beverages>
- Nordin, C. 1997. Calcium and Osteoporosis. *Nutrition* 13(7-8): 664-686.
- Okamoto, RH. 2011. Kansei, Quality, and Quality Function Deployment. *In* Nagamachi, M. *Kansei/Affective Engineering*. Estados Unidos, CRC Press. p. 295-309.
- Oregon State University; Linus Pauling Institute. 2017. Soy Isoflavones (en línea). Ed. rev. Oregon, Estados Unidos. Consultado 19 abr. 2017. Disponible en <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/soy-isoflavones>.
- Ostojich, Z. 2010. Efecto de procesamientos caseros sobre algunos constituyentes funcionales de la linaza (*Linum usitatissimum L.*) Tesis MSc. en Ciencia de los Alimentos. Caracas, Venezuela. Universidad Simón Bolívar. 154 p.

- Ostojich, Z; Sangronis, E. 2012. Caracterización de semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L.) cultivadas en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 62(2): 192-200.
- Ozen, AE; Pons, A; Tur, JA. 2012. Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. Nutrition Reviews 70(8):472-481.
- Pandey, KB; Rizvi, SI. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2(5): 270-278.
- Patras, A; Brunton, NP; Da Pieve, S; Butler, F. 2009. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purées. Innovative Food Science and Emerging Technologies 10(3): 308-313.
- Peterson, J; Dwyer, J; Adlercreutz, H; Scalbert, A; Jacques, P; Mccullough, ML. 2010. Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular disease risk reduction. Nutrition Reviews 68(10):571-603.
- Pflug, IJ. 1998. Microbiology and engineering of sterilization processes. 9 ed. Estados Unidos, Environmental Sterilization Laboratory, University of Minnesota.
- Popova, IE; Hall, C; Kubátová, A. 2009. Determination of lignans in flaxseed using liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1216(2): 217-229.
- Rabiee, F. 2004. Focus-group interview and data analysis. Proceedings of the Nutrition Society. 63: 655-660.

- Ramírez-Navas, JS. 2012. Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. *ReCiTeIA* 12(1): 83-101.
- ReVelle, JB; Margetts, DN. 2009. Quality function deployment. *In Home builder's guide to continuous improvement schedule, quality, customer satisfaction, cost, and safety.* Estados Unidos, CRC Press. p. 157-170.
- Riaz, MN. 2005. Processing of Soybeans into Ingredients. *In Soy Applications in Food.* Estados Unidos, CRC Press. p. 39-62.
- Rodríguez-Roque, MJ; Rojas-Graü, MA; Elez-Martínez, P; Martín-Belloso, O. 2014. In vitro bioaccessibility of health-related compounds from a blended fruit juice–soymilk beverage: Influence of the food matrix. *Journal of Functional Foods* 7: 161-169.
- Russo, R; Reggiani, R. 2014. Variation in the Content of Cyanogenic Glycosides in Flaxseed Meal from Twenty-One Varieties. *Food and Nutrition Sciences* 5: 1456-1462.
- Sacks, FM; Svetkey, LP; Vollmer, WM; Appel, LJ; Bray, GA; Harsha, D; Obarzanek, E; Conlin, PR; Miller, ER; Simons-Morton, DG; Karanja, N; Lin, PH. 2001. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet. *The New England Journal of Medicine* 344(1): 3-10.
- Scalbert, A; Johnson, IT; Saltmarsh, M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *American Journal of Clinical Nutrition* 81:215S-217S.
- Setchell, KDR; Brown, NM; Lydeking-Olsen, E. 2002. The Clinical Importance of the Metabolite Equol-A Clue to the Effectiveness of Soy and Its Isoflavones. *The Journal of Nutrition* 132(12): 3577-3584.

- Setchell, KDR; Clerici, C; Lephart, ED; Cole, SJ; Heenan, C; Castellani, D; Wolfe, BE; Nechemias-Zimmer, L; Brown, NM; Lund, TD; Handa, RJ; Heubi, JE. 2005. S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *The American Journal of Clinic Nutrition* 81(5): 1072-1079.
- Setchell, KDR; Cole, SJ. 2006. Method of Defining Equol-Producer Status and Its Frequency among Vegetarians. *The Journal of Nutrition* 136(8): 2188-2193.
- Shahidi, F; Alasalvar, C. 2016. *Handbook of Functional Beverages and Human Health*. Estados Unidos, CRC Press. 866 p.
- Shi, J; Mazza, G; Le Maguer, M. 2002. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects*. Estados Unidos, CRC Press. 409 p.
- Sicilia, T; Niemeyer, HB; Honig, DH; Metzler, M. 2003. Identification and Stereochemical Characterization of Lignans in Flaxseed and Pumpkin Seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(5): 1181-1188.
- Siegrist, M; Stampfli, N; Kastenholz, H. 2008. Consumers' willingness to buy functional foods. The influence of carrier, benefit and trust. *Appetite* 51(3): 526-529.
- Siró, I; Kápolna, E; Kápolna, B; Lugasi, A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance- A review. *Appetite* 51(3): 456-467.
- Slanina, J; Glatz, Z. 2004. Separation procedures applicable to lignan analysis. *Journal of Chromatography B* 812(1-2): 215-229.
- Smeds, AI, Eklund, PC; Willför, SM. 2012. Content, composition, and stereochemical characterization of lignans in berries and seeds. *Food Chemistry* 134: 1991-1998.

- Statista. 2018. Revenue generated by the functional food market worldwide in 2017 and 2022 (in billion U.S. dollars) (en línea). Hamburgo, Alemania. Consultado 30 abr. 2018. Disponible en <https://www.statista.com/statistics/252803/global-functional-food-sales/>
- Strik, BC; Clark, JR; Finn, CE; Bañados, MP. 2007. Worldwide Blackberry Production. *HortTechnology* 17(2): 205-213.
- Szakály, Z; Szente, V; Kövér, G; Polereczki, Z; Szigeti, O. 2012. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite* 58(1): 406-413.
- Tiwari, BK; Muthukumarappan, K; O'Donnell, CP; Cullen, PJ. 2008. Effects of Sonication on the Kinetics of Orange Juice Quality Parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(7): 2423-2428.
- Tiwari, BK; O'Donnell, CP; Cullen, PJ. 2009a. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering* 93(2): 166-171.
- Tiwari, BK; O'Donnell, CP; Muthukumarappan, K; Cullen, PJ. 2009b. Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10(1): 70-75.
- Touré, A; Xueming, X. 2010. Flaxseed lignans: source, biosynthesis, metabolism, antioxidant activity, bio-active components and health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9(3): 261-269.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2015. USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods (en línea). Estados Unidos. 72 p. Consultado 19 abr. 2017. Disponible en <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>

- Vaillant, F; Pérez, AM; Acosta, O; Dornier, M. 2008. Turbidity of pulpy fruit juice: a key factor for predicting cross-flow microfiltration performance. *Journal of Membrane Science* 325: 404-412.
- Vanegas Pérez, LS; Restrepo Molina, DA; López Vargas, JH. 2009. Características de las bebidas con proteína de soya. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 62(2): 5165-5175.
- Vicentini, A; Liberatore, L; Mastrocola, D. 2016. Functional Foods: Trends and Development of the Global Market. *International Journal of Food Science* 28(2): 338-351.
- Waszkowiak, K; Gliszczyńska-Świgło, A; Barthet, V; Skręty, J. 2015. Effect of Extraction Method on the Phenolic and Cyanogenic Glucoside Profile of Flaxseed Extracts and their Antioxidant Capacity. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 92: 1609-1619.
- Weickert, MO; Pfeiffer, AFH. 2008. Metabolic Effects of Dietary Fiber Consumption and Prevention of Diabetes. *The Journal of Nutrition* 138(3): 439-442.
- Whelton, SP; Hyre, AD; Pedersen, B; Yi, Y; Whelton, PK; He, J. 2005. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Journal of Hypertension* 23(3): 475-481.
- Wilför, SM; Smeds, AI; Holmbom, BR. 2006. Chromatographic analysis of lignans. *Journal of Chromatography A* 1112(1-2): 64-77.
- Wu, Q; Wang, M; Simon, JE. 2004. Analytical methods to determine phytoestrogenic compounds. *Journal of Chromatography B* 812(1-2):325-355.

- Yacuzzi, E; Martín, F. 2003. QFD: conceptos, aplicaciones y nuevos desarrollos (en línea). Buenos Aires, Argentina. Universidad del CEMA. 37 p. (Serie Documentos de Trabajo, n.º 224). Consultado 15 ene. 2018. Disponible en: <https://ideas.repec.org/p/cem/doctra/234.html>.
- Yang, H; Mao, Z; Tan, H. 2004. ASAE/CSAE Meeting Paper No. 046066. Determination and Removal Methods for Cyanogenic Glucoside in Flaxseed. ASAE/CSAE Annual International Meeting (2004, Ontario Canadá). American Society of Association Executives (ASAE)/Canadian Society of Association Executives (CSAE). Ontario, Canadá. 6 p.
- Yang, J; Lee, R; Henning, SM; Thames, G; Hsu, M; ManLam, H; Heber, D; Li, Z. 2016. Soy protein isolate does not affect ellagitannin bioavailability and urolithin formation when mixed with pomegranate juice in humans. *Food Chemistry* 194: 1300-1303.
- Yuan, YJ; Velez, OD; Chen, K; Campbell, BE; Kaler, EW; Lenhoff, AM. 2002. Effect of pH and Ca²⁺-Induced Associations of Soybean Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(17): 4953-4958.
- Zhang, ZS, Li, D; Wang, LJ; Ozkan, N; Chen, XD; Mao, ZH; Yang, HZ. 2007. Optimization of ethanol-water extraction of lignans from flaxseed. *Separation and Purification Technology* 57: 17-24.
- Zhu, K; Devine, A; Prince, RL. 2008. The effects of high potassium consumption on bone mineral density in a prospective cohort study of elderly postmenopausal women. *Osteoporosis International* 20(2): 335-340.

10. Anexos

10.1 Guía de preguntas para entrevistas a potenciales consumidores

Las preguntas que se presentan a continuación se utilizaron como una guía por el entrevistador, la cantidad pudo aumentar y el orden en que se realizaron pudo variar según el desarrollo de la entrevista con cada uno de los potenciales consumidores.

1. ¿Qué tipos de bebidas funcionales acostumbra a consumir?
2. ¿Con qué frecuencia consume este tipo de bebidas?
3. Describa para usted cuál es el concepto de un alimento/bebida funcional o con efectos beneficiosos para la salud.
4. ¿Cuáles ingredientes conoce usted o de cuáles ha escuchado que poseen un efecto funcional en la salud?
5. Específicamente de las bebidas que usted usualmente consume ¿conoce los efectos funcionales o beneficiosos para la salud asociados a su consumo?
6. Al escoger o adquirir una bebida funcional ¿en qué aspectos basa su escogencia? (sabor, apariencia, color, textura, contenido de ingredientes funcionales, precio, marca).
7. ¿Cuáles ingredientes prefiere que contengan las bebidas que usted usualmente consume?
8. En cuanto al sabor de las bebidas ¿Cuáles son sus preferencias? ¿Por qué se inclina por los sabores que usualmente consume?

9. En relación con la apariencia de las bebidas ¿Qué aspectos le agradan y qué aspectos le desagradan? ¿Y en cuanto a la textura?

10. ¿Qué tamaño (porción) o presentación suele comprar de estas bebidas? (personal, mediana, grande).

10.2 Método de determinación de compuestos bioactivos de interés (elagitaninos, lignanos e isoflavonas) por HPLC-DAD

Este método está basado en lo establecido por el método del CITA “Determinación de polifenoles por HPLC” P-SA-MQ-044, el cual consiste en la extracción de polifenoles en condiciones controladas de luz y temperatura con el fin de reducir la degradación de los mismos (CITA 2015a), basado en lo descrito por Mertz *et al.* (2007).

Como lo especifica el método, se utilizó la técnica de HPLC donde la separación y cuantificación de los polifenoles se realiza por medio de las diferencias en afinidad de los mismos con una fase móvil y una fase estacionaria. Las señales son identificadas según el espectro UV y los tiempos de retención comparados con patrones de referencia. La cuantificación de los polifenoles se realizó con una curva de calibración elaborada con los patrones de referencia (CITA 2015a).

A continuación, se detallan las especificaciones del equipo y reactivos utilizados para el método. Así como el procedimiento de preparación de las muestras, disoluciones, patrones y condiciones cromatográficas.

10.2.1 Equipo requerido

- Balanza analítica con resolución de 0,1 mg
- Agitadores magnéticos o vortex para agitación durante la extracción
- Equipo para microfiltración de la fase móvil marca Phenomenex, para usar con filtros de 0,45 μm \times 47 mm
- Filtros microporo 0,45 μm \times 25 mm y jeringas para la microfiltración de las muestras

- Baño ultrasónico
- Micropipetas de 10 mL, 100 µL y 1 000 µL
- Beakers de 50 ml, 100 y 200 ml
- Probetas 250 ml, 1L

10.2.2 Especificaciones del cromatógrafo líquido de alta resolución que se utilizó para la determinación

- Horno para la columna Shimadzu CTO-20A
- Inyector automático de muestras SIL-20A HT, controlado por módulo CBM-20A.
- Bomba Shimadzu LC-20AT
- Integrador LC-Solutions de Shimadzu
- Columna cromatográfica Phenomenex Luna 5 µm C18 100A, tamaño 150 mm x 2.00 mm
Número de serie 546184-17 o equivalente y guarda columna asociada
- Detector de arreglo de diodos (DAD)

10.2.3 Reactivos

- Metanol grado reactivo
- Metanol grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Ácido fórmico al 96%
- Acetonitrilo grado HPLC

- Patrones de daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol, cianidina 3-glucósido, ácido elágico.

10.2.4 Preparación de disoluciones

Solución A (solución ácido fórmico al 2%): se midió con micropipeta 20,84 ml de ácido fórmico al 96% y se llevó a 1 L en un balón aforado utilizando agua grado HPLC. Se filtró la solución utilizando vacío y un filtro para solución acuosa.

Solución B (solución acetonitrilo 80% y ácido fórmico 2%): se midió con una probeta un volumen de 800 ml de acetonitrilo, se tomó una alícuota de 20,84 ml de ácido fórmico al 96% medido con micropipeta y se llevó la solución a 1L con agua grado HPLC. Se filtró la solución utilizando vacío y un filtro para solución acuosa.

10.2.5 Preparación de patrones

Se prepararon disoluciones madre de cada uno de los siguientes patrones: ácido elágico, daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y cianidin-3-glucósido de la siguiente forma.

Se midió, en balanza analítica, 1,00 mg de los patrones: daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y cianidin-3-glucósido, se disolvió y aforó en un balón aforado de 5,00 ml con una disolución 80/20 de metanol grado HPLC en agua grado HPLC. De esta forma se obtuvieron disoluciones con una concentración de 200,00 mg/L (200 ppm) de cada uno de los patrones, disoluciones que llamaremos “madre” para efectos del presente documento.

En el caso del ácido elágico se preparó una disolución con concentración de 100 ppm, para lo cual se midieron, en balanza analítica, 2,50 mg del patrón del compuesto, este se disolvió y aforó en un balón de 25,00 ml con la disolución de metanol antes mencionada.

A partir de las disoluciones madre de los patrones con concentración de 200 ppm y 100 ppm según corresponde, se prepararon disoluciones intermedias de concentraciones de 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm como se ilustra en el diagrama de la Figura 1A.

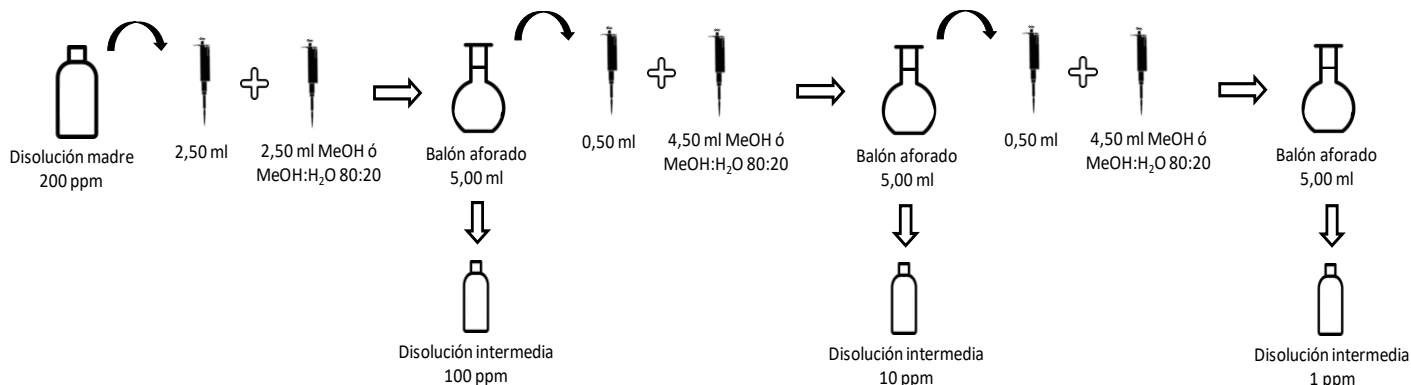


Figura 1A. Preparación de las disoluciones intermedias de los patrones ácido elágico, daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y cianidin-3-glucósido.

Luego se preparó la curva de calibración, preparando disoluciones de concentraciones que van desde los 100 ppm hasta los 0,01 ppm, mediante la toma de alícuotas de las disoluciones intermedias y completando a un volumen de 1,00 ml con la disolución de metanol HPLC/agua HPLC 80/20, según se muestra en la Figura 2A.

De esta forma se obtuvieron las disoluciones que fueron inyectadas en el equipo HPLC para obtener las curvas de calibración de los diferentes compuestos patrón, como se resume en el Cuadro IA.

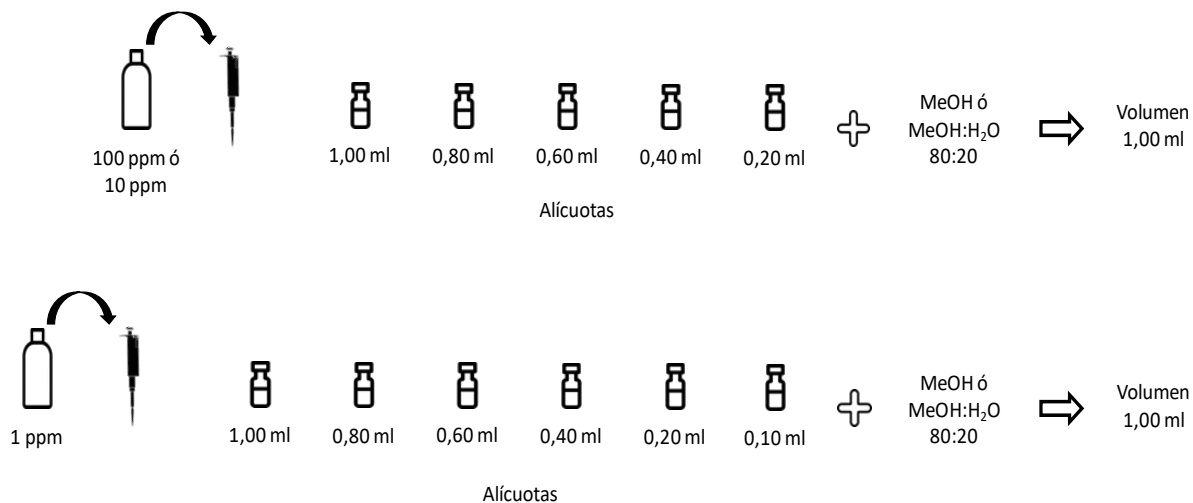


Figura 2A. Preparación de las disoluciones de los patrones de ácido eláxico, daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y cianidin-3-glucósido para las curvas de calibración.

Cuadro IA. Concentración de las disoluciones inyectadas en el equipo HPLC para obtener las curvas de calibración de los compuestos utilizados como patrón (ácido eláxico, daidzeína, genisteína, secoisolariciresinol y cianidina).

Patrón	Concentración disolución (ppm)	Patrón	Concentración disolución (ppm)
1	100,00	9	4,00
2	80,00	10	2,00
3	60,00	11	1,00
4	40,00	12	0,80
5	20,00	13	0,60
6	10,00	14	0,40
7	8,00	15	0,20
8	6,00	16	0,10

10.2.6. Determinación de las condiciones de extracción de las muestras para el análisis

Para determinar las condiciones de extracción de las muestras en cuanto a la proporción de disolvente y el tiempo de extracción se utilizó un diseño factorial con dos factores (tiempo y concentración de metanol:agua) a tres niveles (-1,0,1) utilizando un mínimo de 6 experimentos, realizando 3 repeticiones de estos y empleando la herramienta *custom design* del software JMP 4, el diseño se muestra en el Cuadro IIA.

Cuadro IIA. Diseño experimental utilizado para determinar las condiciones de extracción de las muestras

Concentración del disolvente (metanol:agua)	Tiempo de extracción (min)
60:40	25
	45
100:0	25
	30
80:20	30
	45

*Extracción realizada a temperatura ambiente.

Con este diseño experimental establecido se realizaron las extracciones en las muestras de la bebida a analizar y se calculó la concentración de los compuestos bioactivos. Estas concentraciones obtenidas bajo las diferentes condiciones de extracción fueron sometidas a un análisis de varianza con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre ellas y poder determinar las condiciones de extracción que permitieran cuantificar los componentes bioactivos en mayor proporción.

Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas por lo que se determinó que se escogería la proporción de metanol:agua de 80:20 y el tiempo de extracción de 45 minutos debido a que en estas condiciones de trabajo se obtenían los mayores valores de concentración de los componentes y que permitían que la extracción se desarrollara de la mejor forma (en cuanto a filtración de la muestra y evaporación del disolvente).

10.2.7 Preparación de muestras para el análisis

El análisis se realizó por duplicado, tanto la extracción como la preparación de las muestras a analizar se realizó en un cuarto oscuro o bajo luz amarilla. Para cada una de las réplicas se detalla el procedimiento a continuación.

- a. Se homogeneizó la muestra.
- b. Se midió una masa de 3,00 g de muestra (muestras líquidas) y 1,00 mg (muestras sólidas, en este caso la linaza utilizada como materia prima) en un beaker de 50 ml.
- c. Se agregaron 15 ml de solución extractora de metanol grado reactivo en agua HPLC, en una proporción de 80/20 respectivamente, a la muestra. Se colocó una pastilla de agitación magnética y se tapó el beaker con papel parafilm.
- d. Se agitó por 10 min en agitador magnético, 10 min en baño ultrasónico y otros 10 min en agitador magnético.
- e. Se dejó 5 min en reposo y luego se decantó el extracto cuantitativamente a un embudo de espiga con papel filtro Whatman #41 y se recogió el filtrado en un balón de 250 ml.
- f. Se repitió la extracción una vez más de los puntos c a e.

- g. Se realizaron lavados al beaker y papel filtro con 10 ml de la solución extractora de metanol grado reactivo en agua HPLC (proporción 80/20 respectivamente) y se recogieron en el mismo balón de 250 ml.
- h. Se colocaron los balones en el rotavapor múltiple (con baño de agua a 40°C) y se eliminó el metanol hasta obtener un volumen final de aproximadamente 8 ml.
- i. Se trasvasó cuantitativamente el líquido a una jeringa con un filtro de 0,45 µm acoplado en el extremo. Se filtró a un balón aforado de 10,00 ml.
- j. Se realizaron lavados al balón de 250 ml con agua grado HPLC y se trasvasaron a la jeringa. Se filtraron y luego se aforó el balón de 10,00 ml con agua grado HPLC.
- k. Se trasvasó el filtrado (extracto acuoso) a una botella ámbar y se guardó en congelación a temperaturas ultra bajas (-80 °C) para su posterior inyección en el equipo HPLC.
- l. Para medir en el equipo HPLC, se trasvasó 1,00 ml del filtrado (extracto acuoso) a tubos Eppendorf bien rotulados.
- m. La inyección de cada uno de los extractos se realizó utilizando tres volúmenes de inyección (2 µL, 20 µL y 40 µL) mediante la variación de este mediante el equipo de HPLC. Esto con el fin de que las concentraciones de los diferentes compuestos de interés estuvieran dentro de los límites de detección y cuantificación de las diferentes curvas de calibración para cada uno de los mismos. El volumen de inyección de 2 µL fue utilizado para calcular la concentración del secoisolariciresinol, el de 20 µL para la concentración de una de las 2 antocianinas y la genisteína, mientras que el de 40 µL para la concentración de la daidzeína, los elagitaninos y la antocianina restante. Estos volúmenes de inyección fueron tomados en

cuenta en los cálculos como parte del factor de dilución de estos con respecto al volumen de inyección de los patrones en las curvas (20 µL).

10.2.8 Condiciones cromatográficas

Cuadro IIIA. Condiciones cromatográficas utilizadas en el equipo de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación de las curvas de calibración de los patrones y de los compuestos bioactivos de interés en las muestras.

Temperatura del horno	30 °C
Longitudes de onda de trabajo	190-650 nm
Volumen de inyección	20 µL para patrones en curvas calibración
	2 µL: secoisolariciresinol
	20 µL: cianidin-3-glucósido y genisteína
	40 µL: daidzeína, elagitaninos y cianidin-3-malonil-glucósido
	2 µL: secoisolariciresinol
Flujo	0,30 ml/ min
Tiempo del proceso	40 min
Concentración solvente B	0 a 20 min, de 5 a 25%
	20 a 25 min, de 25 a 100%
	25 a 30 min, de 100 a 10%
	30 a 40 min, de 10 a 5%

10.2.9 Identificación de polifenoles

Los polifenoles de la muestra que se pudieron identificar fueron: elagitaninos totales como equivalentes de ácido elágico, isoflavonas como equivalentes de daidzeína y genisteína, lignanos como equivalentes de secoisolariciresinol y antocianinas como equivalentes de cianidin-3-glucósido.

La identificación de los diferentes polifenoles se determinó de la siguiente forma: los elagitaninos según la respuesta del ácido elágico a 280 nm, las isoflavonas según la respuesta de la daidzeína y genisteína a 260 nm, los lignanos según la respuesta del secoisolariciresinol a 280 nm y las antocianinas según la respuesta de la cianidin-3-glucósido a 512 nm. Estas longitudes de onda son en las que cada uno de los compuestos de interés presentan la mayor absorbancia.

Además, para realizar esta identificación se compararon los tiempos de retención y los espectros UV de los picos detectados en los extractos de las muestras de bebida con los tiempos de retención y espectros de los patrones asociados a cada uno de los compuestos de interés (ya mencionados en el párrafo anterior). También, se utilizaron como referencia cromatogramas inyectados de extractos de mora, linaza y soya (extraídos mediante el mismo método de extracción e inyectados con las mismas condiciones cromatográficas de los extractos de las muestras), para verificar la presencia de los compuestos de interés en las materias primas y que estos coincidieran con lo detectado en el producto terminado.

En el caso de los elagitaninos de la mora, estos fueron expresados como la sumatoria de los picos identificados como elagitaninos (ver picos señalados en la figura 10A) y la identificación se llevó a cabo como se describió en el párrafo anterior. Mientras que, en el caso de las antocianinas de la mora, para asignarle identidad tentativa a ambas antocianinas detectadas se utilizó como referencia lo establecido en el método de polifenoles del CITA “Determinación de polifenoles por HPLC” P-SA-MQ-044 (CITA 2015a), por comparación de los tiempos de retención de las mismas y basado en lo descrito por Mertz *et al.* (2007).

La identificación de la daidzeína, la genisteína, el secoisolariciresinol y la cianidin-3-glucósido es inequívoca ya que se contaba con el patrón respectivo de cada uno de los compuestos. Sin embargo, en el caso de los elagitaninos y la cianidin-3-malonil-glucósido

esta identificación es tentativa ya que es basada en lo establecido en las dos referencias mencionadas en el párrafo anterior.

Asimismo, para verificar la identidad de los diferentes compuestos de interés se realizó por triplicado un enriquecimiento mediante la adición de una concentración conocida de cada uno de los patrones en 3,0 g de uno de los prototipos de la bebida (se escogió al azar el prototipo 1 pasteurizado a 71,1 °C por 3 s). Luego a esta muestra enriquecida se le realizó la extracción y determinación de la concentración según el procedimiento descrito en la sección 10.2.7. Este enriquecimiento permitió corroborar la identidad de los compuestos identificados, al comprobar que la señal que se aumentaba al agregar el patrón era el compuesto que se identificaba como tal en la muestra.

En el Cuadro IVA se muestran los tiempos de retención de los compuestos analizados que fueron utilizados para la integración y cuantificación de estos en las muestras.

Cuadro IVA. Tiempos de retención de los compuestos bioactivos de la mora, linaza y soya usados para la identificados y cuantificación por HPLC-DAD de estos en las muestras de bebida analizadas.

Compuesto bioactivo	Tiempo de retención (min)
Daidzeína	15-16
Genisteína	21-22
Secoisolariciresinol	24-25
Elagitaninos	14-15
	17-18
Cianidin-3-glucósido (A1)	12-13
Cianidin-3-malonil-glucósido (A2)	18-19

10.2.10 Cálculos

Después de la inyección de cada una de las disoluciones de los patrones especificadas en el Cuadro IA, se utilizó el software del equipo para determinar el área debajo del pico de los polifenoles identificados a la longitud de onda seleccionada. Se construyó una curva de calibración (regresión lineal) graficando área vs concentración para cada uno de los patrones (ver figuras en la sección 10.2.10 de este Anexo), donde el R^2 debe ser mayor a 0,995:

$$y = mx + b, \text{ donde } \text{área} = \text{concentración (mg/L)} \times b$$

Una vez obtenida la curva de calibración, para cada uno de los patrones se calcularon los límites de detección y cuantificación utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{Límite de detección (LD)} = 3 * \frac{S_b}{m}$$

$$\text{Límite de cuantificación (LC)} = 10 * \frac{S_b}{m}$$

Donde S_b es la incertidumbre del intercepto y m la pendiente de la curva de calibración

Utilizando el software del equipo se integró el área bajo el pico de cada uno de los polifenoles identificados en las muestras, para introducir ese valor en la curva de calibración e interpolar la concentración. De esta forma se obtuvo la concentración en mg/g de muestra.

La concentración total en la muestra se obtuvo de la siguiente ecuación y se expresó en mg “polifenol”/100 g muestra.

$$\frac{\text{mg polifenol}}{\text{g muestra}} = \frac{C_n \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \text{ curva} \times f_d \times V \text{ (L)}}{\text{masa muestra (g)}} * 100$$

fd = factor de dilución de la muestra antes de inyectar si es que lo requiere o de volumen de inyección; considerando el volumen de inyección dentro de este factor.

V = volumen de extracto

10.2.11 Curvas de calibración de los patrones de los compuestos utilizados como patrón

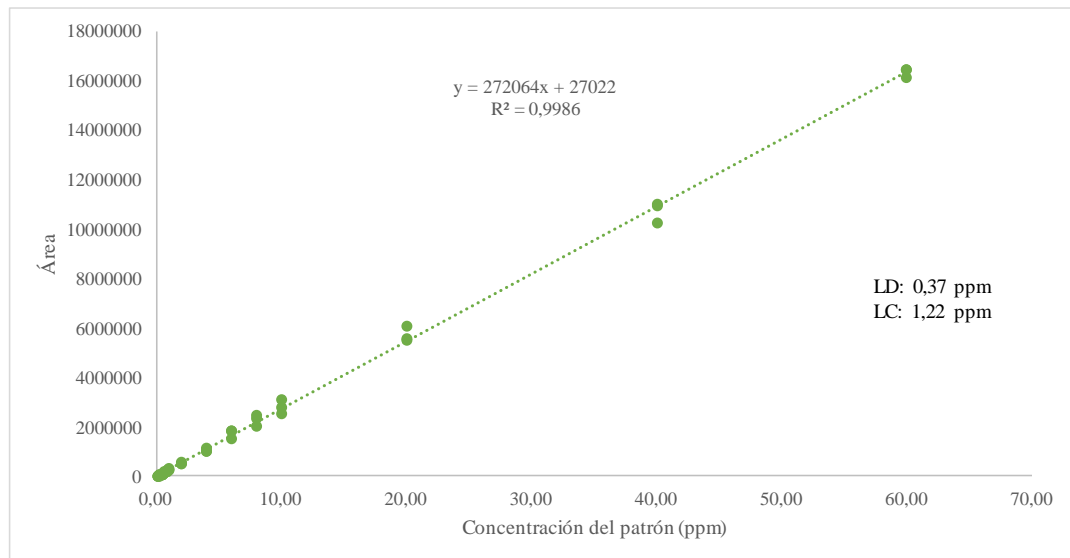


Figura 3A. Curva de calibración de la daidzeína

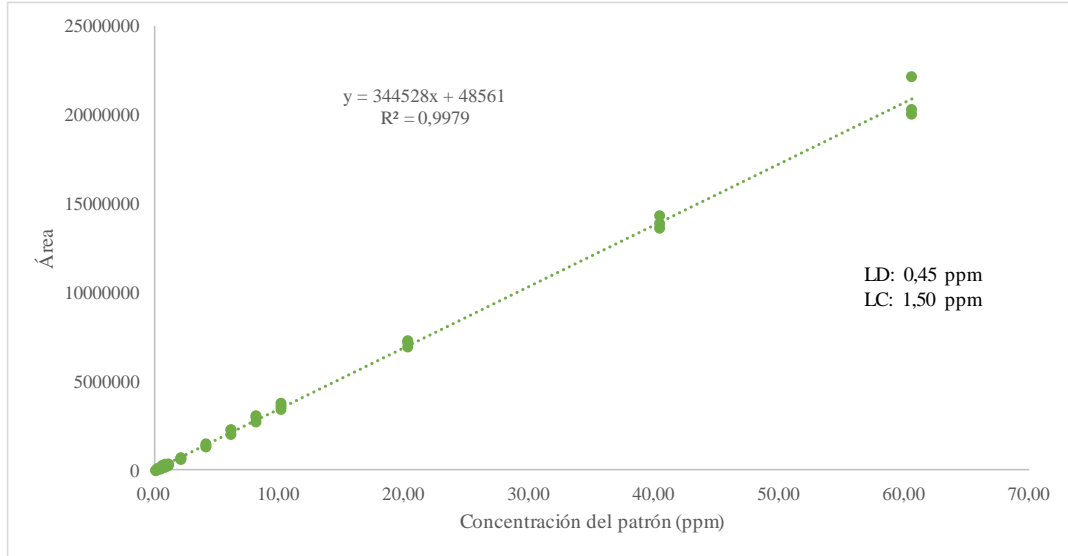


Figura 4A. Curva de calibración de la genisteína.

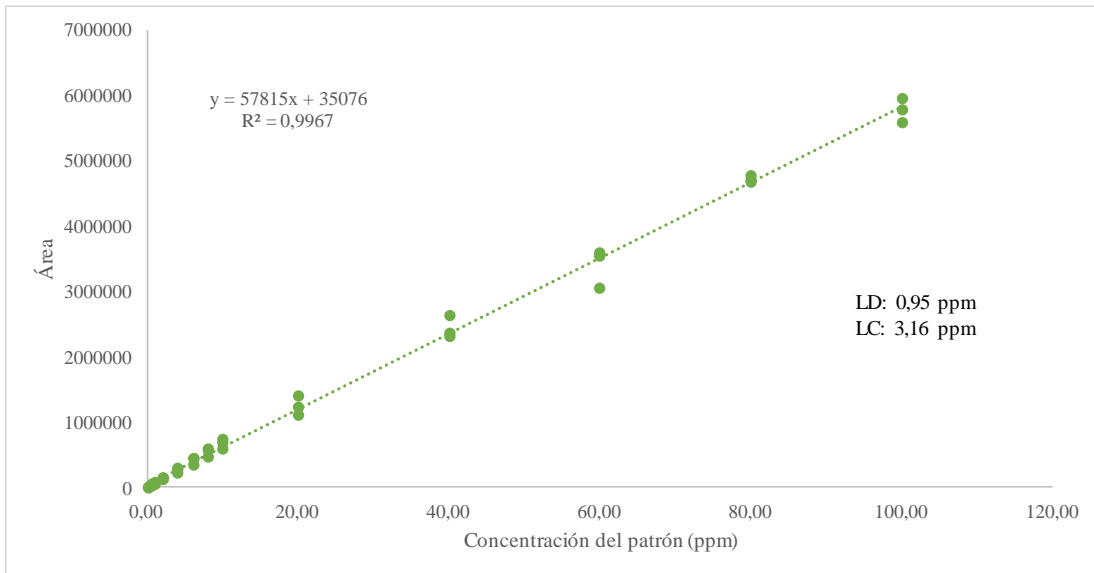


Figura 5A. Curva de calibración del secoisolariciresinol.

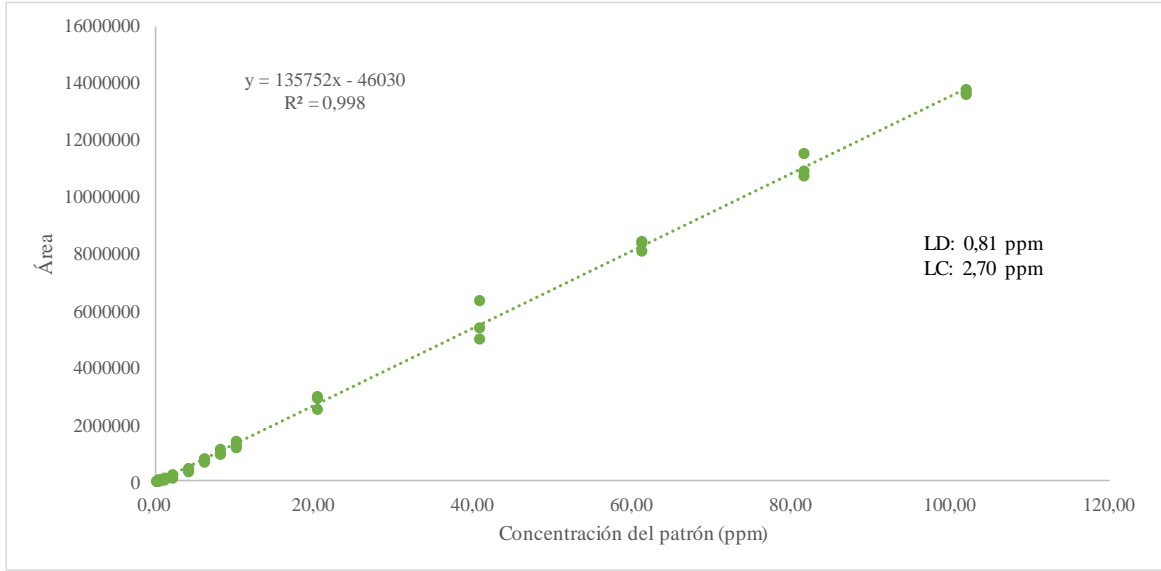


Figura 6A. Curva de calibración del ácido elágico.

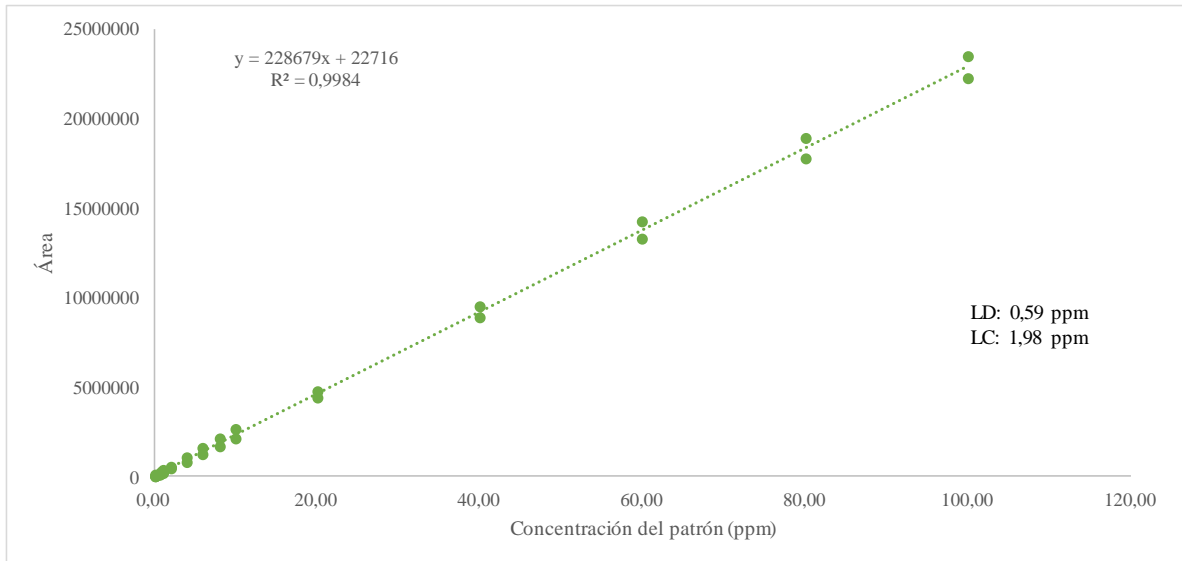


Figura 7A. Curva de calibración de la cianidin-3-glucósido.

10.2.12 Cromatogramas obtenidos mediante la aplicación del método descrito

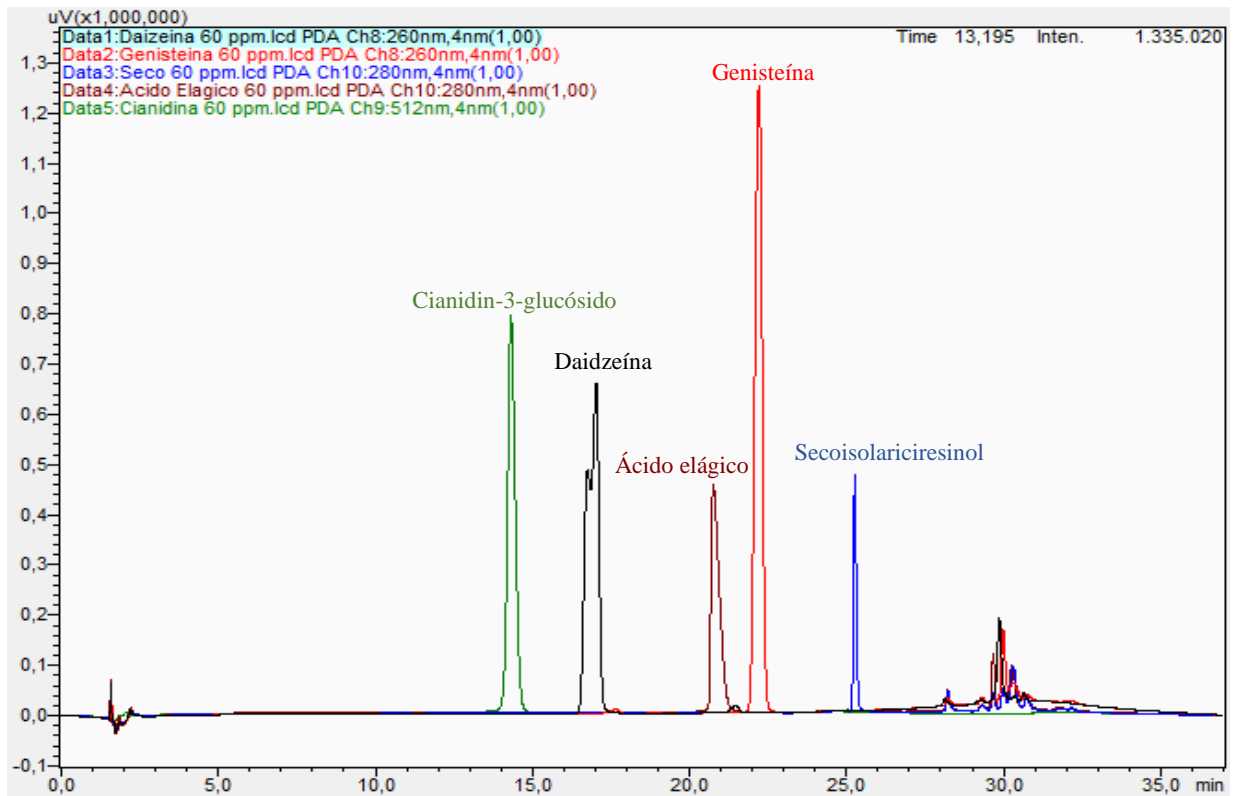


Figura 8A. Cromatograma de patrones de daidzeína ($\lambda = 260$ nm), genisteína ($\lambda = 260$ nm), secoisolariciresinol ($\lambda = 280$ nm), ácido elágico ($\lambda = 280$ nm) y cianidin-3-glucósido ($\lambda = 512$ nm) inyectados en el cromatógrafo líquido de alta resolución.

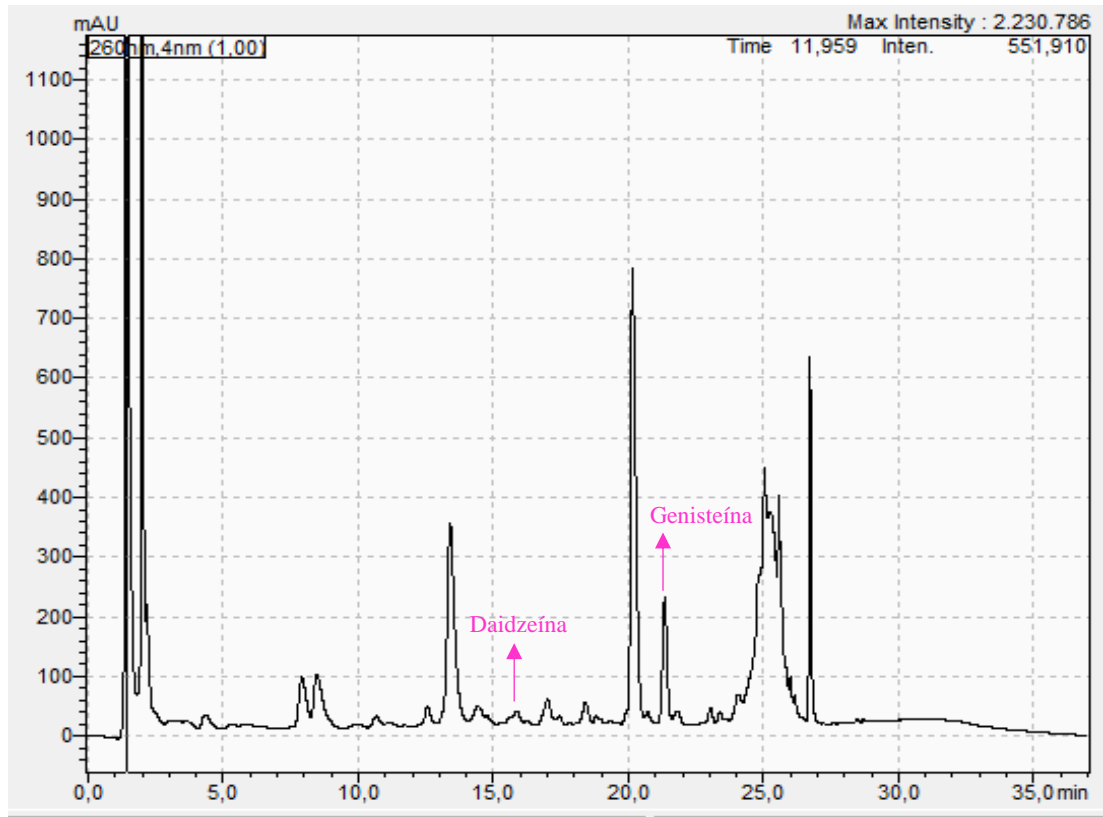


Figura 9A. Cromatograma utilizado para la identificación por HPLC-DAD, a una longitud de onda de 260 nm, de daidzeína y genisteína en un extracto de muestra de bebida de mora, soya y linaza.

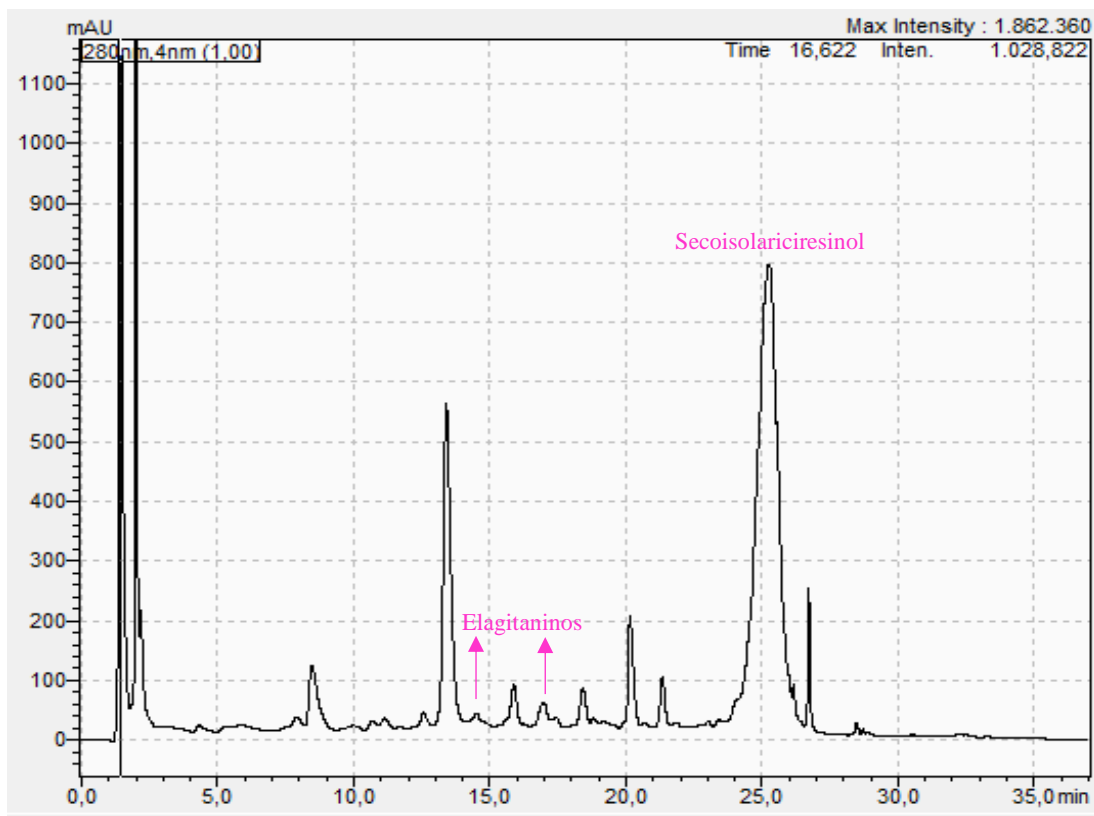


Figura 10A. Cromatograma utilizado para la identificación por HPLC-DAD, a una longitud de onda de 280 nm, de secoisolariciresinol y elagitaninos en un extracto de muestra de bebida de mora, soya y linaza.

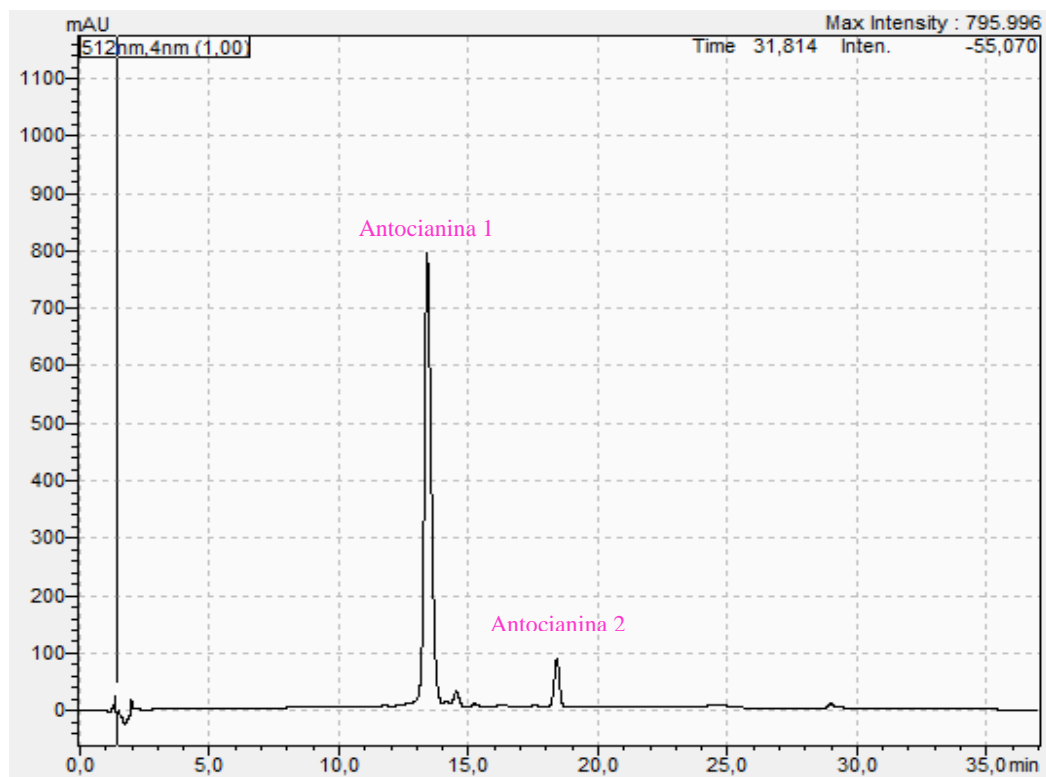


Figura 11A. Cromatograma utilizado para la identificación por HPLC-DAD, a una longitud de onda de 512 nm, de antocianinas (A1: Cianidin-3-glucósido; A2: Cianidin-3-malonil-glucósido de forma tentativa) en un extracto de muestra de bebida de mora, soya y linaza.

Referencias

- CITA. 2015 a. Determinación de polifenoles por HPLC, P-SA-MQ-044. Emisión N° 2. San José, Costa Rica.
- ELIASSON, C., KAMAL-ELDIN, A., ANDERSSON, R. & AMAN, P. 2003. High-performance liquid chromatography analysis of secoisolariciresinol and hydroxycinnamic acid glucosides in flaxseed by alkaline extraction. *Journal of Chromatography A* 1012: 151-159.
- WU, Q., WANG, M. & SIMON, J. 2004. Analytical methods to determine phytoestrogenic compounds. *Journal of Chromatography B* 812: 325-355.

10.3 Filtro para selección de participantes de las sesiones de *focus group*

Hola, mi nombre es Ana Irene Bonilla, estudio en la Universidad de Costa Rica y estamos reuniendo un grupo pequeño de personas para hablar de varios alimentos, entre ellos, productos con propiedades beneficiosas para la salud. Buscamos oír sus ideas sinceras con respecto a la posibilidad de desarrollar nuevos productos.

Información demográfica

Género () F () M

Edad () 30-40 años () 41-50 años () 51-60 años () 60-64 años

Lugar de residencia _____

Ocupación _____

Grado de instrucción

Categoría	Completa	Incompleta
Primaria		
Secundaria		
Técnica		
Universitaria		

¿Trabaja usted o algún miembro de su familia en alguna de las siguientes actividades?

EMPRESAS O ACTIVIDAD	SÍ	NO
- Agencia de Publicidad		
- Agencia de Investigación de Mercados		
- Departamento de publicidad de diario / revista / radio / televisión		
- Empresa donde fabrican o distribuyen cualquier producto de consumo/comida/bebidas		
- Tiene o atiende abastecedor, supermercado u otro tipo de tienda		

Terminar si contesta sí en alguna pregunta

Hábitos de consumo/estilo de vida

1. ¿Usted hace algo para cuidar su salud?

() Sí () No, pase a la pregunta 3.

2. En caso de responder afirmativamente a la pregunta anterior especifique qué tipo de actividad (es) realiza para cuidar su salud.

3. ¿Qué tipos de alimentos/bebidas consume buscando un beneficio para su salud? Mencione todos los que considere.

4. ¿Qué tipos de bebidas acostumbra consumir?

5. ¿Cuáles ingredientes prefiere que contengan las bebidas que usted usualmente consume?

6. En cuanto al sabor de las bebidas ¿Cuáles son sus preferencias?

7. De las siguientes frutas, seleccione las que usualmente consume (puede marcar varias)

Fresa Mango Mora Arándanos

Uva Manzana Piña Maracuyá

8. De los siguientes alimentos, indique cuáles consume normal u ocasionalmente (puede marcar varias opciones)

Chía Avena Linaza Ajonjolí Granola

Salvado Amaranto Soya Semillas de girasol

9. ¿Es usted alérgico o intolerante a algún alimento? En caso de responder afirmativamente especifique cuál o cuáles.

10. ¿Posee alguna restricción en cuanto al consumo de algún alimento o grupo de alimentos? En caso de responder afirmativamente especifique cuál o cuáles.

La reunión se llevará a cabo en las instalaciones de la Unidad de Conocimiento Agroalimentario (UCAGRO), ubicada en la Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca.

¿Podría usted asistir? La sesión o reunión dura aproximadamente hora y media.

Día	Hora	Nombre	Edad	Teléfono	Puede
					SI () NO ()

¡Muchas gracias por su colaboración!

10.4 Guía de sesiones para la aplicación de los *focus group*

Moderador: Se presenta, hace una pequeña introducción de la sesión y el objetivo principal de la actividad. Pide a los participantes presentarse (nombre, profesión)

Hábitos de consumo/estilo de vida de los participantes

¿Ustedes hacen algo para cuidar su salud?

¿Qué tipos de alimentos consumen buscando un beneficio para su salud?

¿Qué tipos de bebidas acostumbran consumir? ¿Cuáles de estas bebidas son o considera saludables/funcionales?

¿Con qué frecuencia consumen este tipo de bebidas?

¿En qué ocasiones acostumbran consumir bebidas saludables?

Mencionen marcas de bebidas saludables que acostumbran consumir, o de las cuales han escuchado que poseen algún beneficio o propiedad saludable o que les han recomendado.

¿En qué sitios suelen comprar bebidas de este tipo?

¿Cuáles ingredientes prefieren que contengan las bebidas que usualmente consumen?

Actividad: individual, 5 min, se reparte una hoja en blanco a cada uno de los participantes

El moderador dice: Ahora se les va a repartir una hoja en blanco para que elaboren una lista con los aspectos que consideran determinantes a la hora de elegir o comprar una bebida saludable para consumo propio. Una vez que tienen la lista ordenen los aspectos según su importancia (del más al menos importante para ustedes)

La actividad es de carácter individual, una vez que los participantes han completado la lista se procede a que compartan sus opiniones y se genera una pequeña discusión con el fin de conocer el por qué es más importante un aspecto que otro u otros.

Concepto de alimento/bebida funcional

Moderador pregunta: ¿Han escuchado el concepto o significado de alimento o bebida funcional?

Una vez que se ha escuchado la opinión de los participantes, el moderador procede a brindarles la siguiente definición o concepto que resume los aspectos principales asociados al concepto de alimento funcional. Esto con el fin de que los participantes tengan un concepto más claro y amplio en cuanto a lo que se entiende por bebida/alimento funcional (a los participantes se les da un papel con el concepto impreso)

“Son alimentos o componentes de los mismos que proporcionan un beneficio a la salud que va más allá de la nutrición básica, para la población a la que se encuentra dirigido. Dentro de estos se pueden incluir alimentos convencionales, fortificados, enriquecidos, mejorados y los suplementos de la dieta. Los alimentos funcionales proporcionan nutrientes esenciales más allá de lo requerido para el funcionamiento, crecimiento y desarrollo normal del organismo, y aportan otros componentes biológicos activos que imparten beneficios o efectos fisiológicos deseables” (IFT 2005)

“Por otro lado, la Comisión sobre la Ciencia de los Alimentos Funcionales en Europa (FUFOSE por sus siglas en inglés), establece que un alimento puede ser considerado como funcional si se ha demostrado satisfactoriamente que tiene un efecto beneficioso en una o más funciones específicas del organismo, en una forma relevante para mejorar el estado de salud y el bienestar y/o reducir el riesgo de enfermedad.”

Una vez leídos los conceptos se procede a comentar qué les parece, si ya antes lo habían escuchado y que no entendieron de lo que se leyó (en caso de que haya algo que no se entienda se les explica a los participantes)

Moderador: ¿Cuáles términos, beneficiosos o propiedades saludables conocen de las bebidas que normalmente consumen? (también pueden mencionar propiedades de productos que no consuman usualmente o con tanta frecuencia, o de los cuales hayan escuchado que poseen beneficios a la salud o que les hayan recomendado por este motivo o conozcan por algún familiar o amigo que los consuma)

Actividad: diseño de la “bebida ideal”

Se le reparte a cada uno de los participantes una hoja en blanco, lápices de color. Se les pide crear su bebida ideal, con las características físicas, nutricionales y de empaque que en su opinión debe tener una bebida saludable/funcional dirigida a una población de adultos sanos (pueden realizar dibujos o escribir en prosa lo que proponen como diseño)

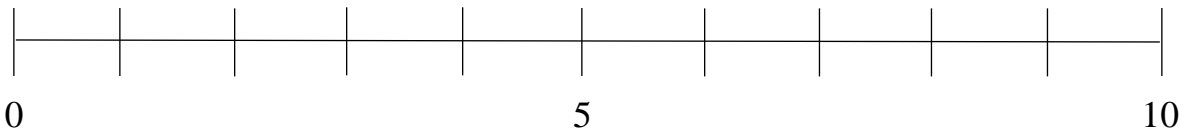
Una vez que los participantes han completado la actividad, se les pide a que expongan en breves palabras lo que consideraron importante en el diseño (si alguna persona desea mostrar su diseño lo puede hacer con libertad) la idea es que en forma general los participantes expliquen los aspectos que consideraron más importantes.

“Degustación” de las bebidas

Se procede a repartir a los participantes las bebidas, junto con la hoja de evaluación de las mismas.

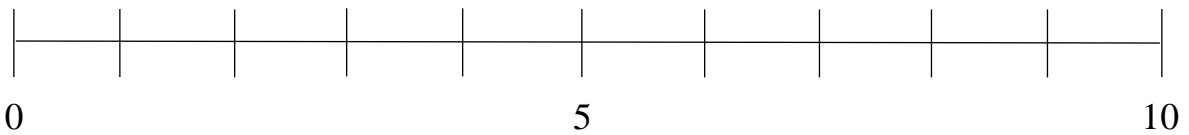
A continuación, se le presenta una serie de muestras de bebidas elaboradas a partir de mora, linaza y soya. Debe probar cada muestra y calificarla según el agrado general en una escala del 0 al 10, donde un 0 es me disgusta muchísimo y un 10 me gusta muchísimo.

#Muestra



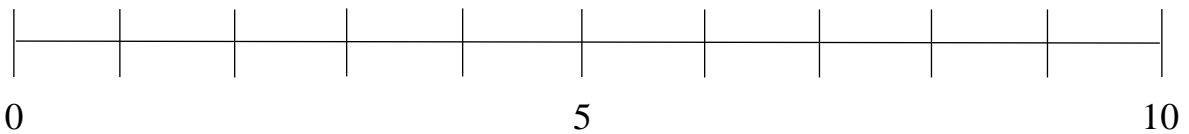
Para esta bebida que probó ¿Qué cambios sugiere? ¿Qué aspectos mejoraría de la misma?

#Muestra



Para esta bebida que probó ¿Qué cambios sugiere? ¿Qué aspectos mejoraría de la misma?

#Muestra



Para esta bebida que probó ¿Qué cambios sugiere? ¿Qué aspectos mejoraría de la misma?

De las bebidas probadas ¿Cuál fue la que le gustó más? y ¿Por qué?, explique.

Moderador: una vez finalizada la evaluación de las muestras se pregunta en forma general en cuanto a las características de las bebidas que aspectos les agradaron (color, sabor, textura) y cuáles oportunidades de mejora o cambios sugieren/consideran para las mismas.

Luego de esta pequeña discusión de las características de las bebidas se procede a darle a conocer a los participantes el concepto del producto (se pide un voluntario para leer el concepto impreso en una hoja)

Concepto de producto:

“Este producto es una bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya, sin azúcar añadido, dirigida a una población de adultos sanos, que se preocupan por el cuidado de su salud y consumen bebidas saludables, principalmente a base de frutas. La mora, linaza y soya son conocidas por su contenido de compuestos bioactivos, a los cuales se les han asociado múltiples beneficios, entre los que destacan sus propiedades antioxidantes, además de su papel en la prevención y reducción del riesgo de contraer enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. Asimismo, se les ha asociado efectos antiaterogénicos, antidiabéticos, antitrombóticos, antiulcerosos, antiinflamatorios, antimicrobianos, vasodilatadores y analgésicos.”

Moderador: Luego de leído el concepto se comenta con los participantes acerca de que les pareció, si piensan que concuerda con la población a la cual va dirigido. Qué palabras entendieron o no acerca de los posibles beneficios del consumo de la bebida y si tienen sugerencias en cuanto al mismo. Además, se les pregunta por su opinión acerca de los ingredientes principales de la bebida (mora, linaza y soya).

Actividad: Finalmente con todo esto que hemos visto y con la degustación de las bebidas, vamos a hacer un juego. Se van a dividir en 2 grupos, con la misma cantidad de gente, como gusten integrarlos. En cada grupo hay un relator, que al final en 5 minutos comenta rápidamente lo que hicieron.

Se reparten lápices y la hoja semiestructurada con la información del consumidor.

Moderador: Si ustedes construyeran una idea cercana a la persona que podría ser una consumidora típica de esta bebida, ¿cómo sería?

Perfil consumidor típico de la bebida

Si ustedes construyeran una idea cercana a la persona que podría ser una consumidora típica de esta bebida, ¿cómo sería?

Edad

¿Hombre o mujer?

Pongámosle nombre a esa persona, ¿Cómo se llama?

¿Dónde vive?

¿Cuáles son los sueños de esa persona?

¿A qué cosas le teme, o piensa que le puede costar lograrlo?

¿Estudios o a qué se dedica en la vida?

¿Cómo es su estilo de vida? ¿Qué intereses tiene?

¿Hace algo para lograr salud y bienestar o no? Si hace algo, ¿qué hace?

En el caso de comidas y bebidas ¿qué consume?

¿Qué me cuentan de sus amistades?

¿Cuáles son sus *hobbies*/pasatiempos?

¿Qué hace en su tiempo libre?

¿Qué tiene la nueva bebida que hace que la persona la consuma?

¿Qué necesidades resuelve (nombre) con esta bebida?

Fin de la sesión: el moderador procede a dar por terminada la sesión, agradeciendo a los participantes por su valiosa colaboración.

10.5 Ficha técnica de la bebida funcional elaborada a partir de mora, linaza y soya

10.5.1 Caracterización de las materias primas utilizadas en la elaboración de la bebida

Cuadro VA. Materias primas utilizadas en la elaboración de la bebida

Materia prima	Descripción
Mora	Fresca, congelada; cultivada en la zona de Cartago, Costa Rica.
Linaza	En grano
Soya	En polvo, obtenido de una empresa que lo provee en Costa Rica
Estabilizante	En polvo, a base de gomas naturales (konjac y gellan)
Edulcorante	En polvo, no calórico, a base de estevia

10.5.2 Formulación de la bebida

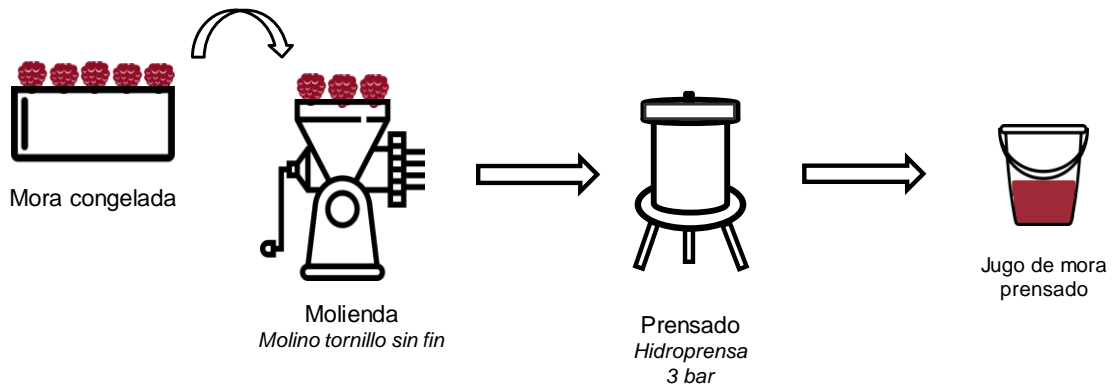
Cuadro VIA. Formulación para obtener una bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya

Ingrediente	Porcentaje del ingrediente (%)
Jugo de mora prensado	M ₁
Bebida de soya	S ₁
Linaza molida	L ₁
Agua	A ₁
Total	100,00
Estabilizante*	ES
Edulcorante (estevia)*	ED

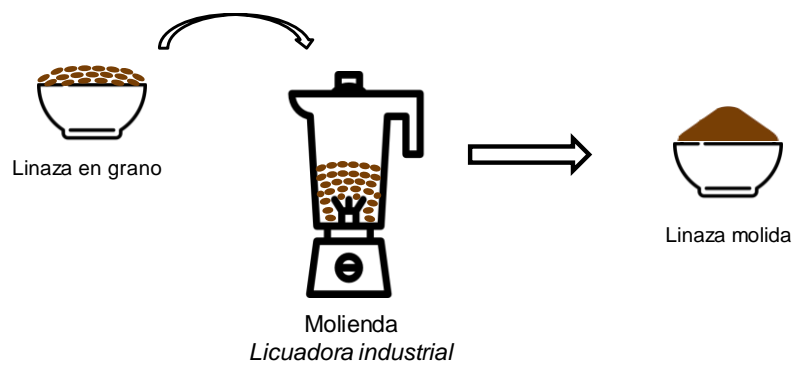
*Porcentaje con respecto al total. M: jugo de mora; S: bebida de soya; L: linaza molida; A: agua; ES: estabilizante; ED: edulcorante.

10.5.3 Proceso de elaboración de la bebida

10.5.3.1 Procesamiento de las materias primas



a. Procesamiento del jugo de mora



b. Procesamiento de la linaza

Figura 12A. Procesamiento de las materias primas para su utilización en la elaboración de los prototipos de la bebida funcional.

Mora

- Molienda: la mora se sometió a un proceso de molienda utilizando el molino de tornillo sin fin para ello. Este proceso se llevó a cabo en una sola etapa.

- Prensado: una vez molida la mora, se utilizó una hidroprensa para prensarla, el proceso se realizó a una presión de 3 bar y en una sola etapa. De aquí se obtuvo el jugo de mora que se utilizó para elaborar las bebidas con un porcentaje de rendimiento del 68%.

Linaza

- Molienda: la linaza en grano fue molida utilizando una licuadora industrial. El proceso se realizó por lotes, según la capacidad de la licuadora.

10.5.3.2 Elaboración de la bebida funcional con contenido de compuestos bioactivos a partir de mora, linaza y soya

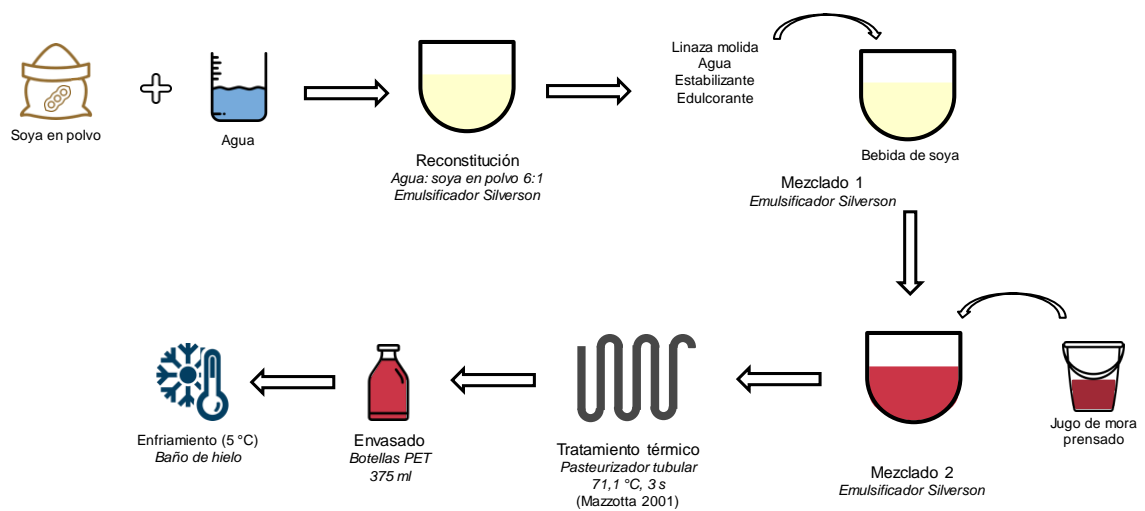


Figura 13A. Flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de la bebida funcional procesada mediante tratamiento térmico de pasteurización.

- Reconstituido: la soya en polvo se reconstituyó con agua en una proporción de 6:1 de agua:soya; esto según las indicaciones del proveedor de la soya utilizada. De esta forma se obtuvo

la “bebida de soya” utilizada en el proceso. Esta etapa se llevó a cabo con ayuda de un emulsificador para asegurar obtener una mezcla homogénea.

- Mezclado 1: en la primera etapa de mezclado se añadieron los ingredientes secos (linaza molida, estabilizante y edulcorante) y el agua de la formulación a la bebida de soya preparada en la etapa anterior. Estos ingredientes fueron mezclados con ayuda de un emulsificador con el fin de asegurar la correcta dispersión de los mismos y con ello la obtención de una mezcla homogénea.

- Mezclado 2: en una segunda etapa de mezclado se añadió el jugo de mora prensado previamente preparado. Este ingrediente debió añadirse en una segunda etapa de mezclado para evitar la posible separación de fases que se da producto de la interacción del jugo de mora (pH ácido) con las proteínas de la soya, que provoca que estas precipiten.

- Tratamiento térmico de pasteurización: fue llevada a cabo en un pasteurizador tubular a 71,1 °C por 3 s (Mazzotta 2001).

- Envasado: la bebida se envasó en botellas de plástico PET de 375 ml a una temperatura de 25-30 °C que es la temperatura a la que sale el producto del equipo donde se llevó a cabo la pasteurización.

- Enfriamiento: una vez envasadas las bebidas, se colocaron en un baño de hielo para su enfriamiento hasta alcanzar valores de temperatura de refrigeración (~5 °C), condiciones a las cuales se almacenó el producto terminado.

10.5.4 Características del producto final

Cuadro VIIA. Características fisicoquímicas determinadas para la bebida.

Característica		Valor determinado
pH		3,83 ± 0,02
°Brix		9,55 ± 0,06
Turbidez (NTU)		74824 ± 5823
Viscosidad (cP)		1480 ± 218
Color	L*	45,0 ± 0,8
	a*	13,7 ± 1,6
	b*	3,3 ± 0,8
Polifenoles totales (mg/100g)		71 ± 10

*Valores reportados de cada parámetro son el promedio de los valores determinados para 3 lotes independientes de bebida

Cuadro VIIIA. Contenido de compuestos bioactivos en la bebida, determinados mediante la técnica de HPLC.

Compuesto	Concentración (mg/100 g)	
	Base húmeda	Base seca
Daidzeína	0,33 ± 0,03	2,13 ± 0,22
Genisteína	1,04 ± 0,21	6,6 ± 1,4
Secoisolariciresinol	111 ± 14	709 ± 94
Elagitaninos totales	1,55 ± 0,20	9,9 ± 1,3
Cianidin-3-glucósido (antocianina)	7,7 ± 2,8	49 ± 18
Cianidin-3-malonil-glucósido (antocianina)	0,63 ± 0,18	4,0 ± 1,2

*Valores reportados de cada parámetro son el promedio de los valores determinados para 3 lotes independientes de bebida

Cuadro IXA. Análisis proximal de la bebida realizado por el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Parámetro	Valor
Humedad (g/100 g)	84,32 ± 0,12
Cenizas (g/100 g)	0,83 ± 0,04
Acidez (g ácido málico/100 g)	1,36 ± 0,08
Grasa (g/100 g)	4,40 ± 0,32
Proteína (N*6,25) (g/100 g)	3,12 ± 0,11
Sodio (mg/100 g)	31,49 ± 1,98
Potasio (mg/100 g)	207,21 ± 0,60
Calcio (mg/100 g)	76,29 ± 1,70
Hierro (mg/100 g)	0,69 ± 0,06
Lactosa (g/100 g)	1,25 ± 0,09
Carbohidratos totales (g/100 g)	5,96 ± 0,50
Fibra dietética (g/100 g)	4,89 ± 0,19
Valor energético en kJ/100g (kcal/100 g)	335 (80) ± 5 (1)
Valor energético por grasa en kJ/100g (kcal/100 g)	166 (40) ± 12 (3)

*Valores reportados de cada parámetro son el promedio de los valores determinados para 3 lotes independientes de bebida

10.6 Datos de humedad determinados por termogravimetría (TGA) en los tres prototipos desarrollados

Cuadro XA. Datos de humedad determinados por termogravimetría en los tres prototipos desarrollados y analizados para la determinación del efecto de la intensidad del tratamiento térmico sobre el contenido de los compuestos bioactivos de la mora, linaza y soya.

Prototipo	Lote	Tratamiento térmico	Porcentaje de humedad (%)
1	1	Sin pasteurizar	83,38
	2		84,26
	3		85,40
	1	71,1 °C, 3 s	84,46
	2		84,23
	3		84,28
	1	87 °C	82,73
	2		83,04
	3		83,74
2	1	Sin pasteurizar	84,06
	2		81,12
	3		85,17
	1	71,1 °C, 3 s	81,39
	2		82,06
	3		84,96
	1	87 °C	80,55
	2		80,10
	3		85,42
3	1	Sin pasteurizar	82,83
	2		83,18
	3		83,84
	1	71,1 °C, 3 s	85,31
	2		82,20
	3		83,12
	1	87 °C	82,40
	2		82,31
	3		82,30

10.7 Reporte del análisis proximal realizado al prototipo de mayor agrado emitido por el Laboratorio Químico del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.



1 de 4
SAQ-1660-(S)-2018
R-SA-029 Emisión 8/17/07/17

PROGRAMA DE APOYO TECNOLÓGICO A LA INDUSTRIA ALIMENTARIA SUPLEMENTO AL REPORTE DE ANALISIS QUÍMICO SAQ-1660-2018

TIPO DE SOLICITUD:	PIN	SOLICITANTE:	Ana Mercedes Pérez
OFERTA N°:	SAQ-1660	EMPRESA O PROYECTO:	735-B6-534
FECHA ENTRADA:	12/03/2018	DIRECCIÓN:	CITA
FECHA ANÁLISIS:	15/03/2018	TELÉFONO:	2511-7212
FECHA EMISIÓN:	29/05/2018	FAX:	---

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS POR NÚMERO DE MUESTRA (Simbología: *ensayo acreditado, **ensayo no acreditado)

*ver alcance en: www.eca.or.cr

# MUESTRA	SAQ-1660-1	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	Bebida Mora-Linaza-Soya Lote 1	
ANÁLISIS		
HUMEDAD (g/100 g)	84,46	920.151 AOAC, P-SA-MQ-002*
CENIZAS (g/100 g)	0,80	950.14 AOAC, P-SA-MQ-004*
ACIDEZ (g ácido málico/100 g)	1,34	942.15 AOAC, P-SA-MQ-011*
GRASA (g/100 g)	4,75	Carpenter, D.; Ngeh-Ngwainbi, J. & Lee, S., 1993. Methods of Analysis for Nutrition Labeling, AOAC, P-SA-MQ-005*
PROTEÍNA (N X 6,25) (g/100 g)	3,25	920.152 AOAC, P-SA-MQ-003*
SODIO (mg/100 g)	31,35	985.35 AOAC, P-SA-MQ-035**
POTASIO (mg/100 g)	207,13	
CALCIO (mg/100 g)	76,54	
HIERRO (mg/100 g)	0,72	999.11 AOAC, P-SA-MQ-035**
CARBOHIDRATOS TOTALES (g/100 g)	5,40	POR DIFERENCIA 100-%H-%C-%P-%G-%A
VALOR ENERGÉTICO en kJ/100 g (en kcal/100 g)	341 (81)	kcal/100 g x 4,189 (4 x %CH DISP+4 x %P+9 x %G+3x%A)
VALOR ENERGÉTICO POR GRASA en kJ/100 g (en kcal/100 g)	179 (43)	kcal/100 g x 4,189 (9 x %G)
REFERENCIAS	H=HUMEDAD, G=GRASA, P=PROTEÍNA, C=CENIZA CH=CARBOHIDRATOS, A= ACIDEZ	



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005

CENTRO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEL: 2511-7223, FAX: 2253-3762
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m oeste detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias



Laboratorio de Ensayo
Alcance de Acreditación N°: LE-035
Acreditado a partir de: 11.09.2006
Alcance disponible en www.eca.or.cr

# MUESTRA	SAQ-1660-1	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	Bebida Mora-Linaza-Soya Lote 1	
ANÁLISIS		
FRUCTOSA (g/100 g)	NC (<0,93)	HPLC-RID, FASE REVERSA, P-SA-MQ-006*
GLUCOSA (g/100 g)	NC (<1,07)	
SACAROSA (g/100 g)	ND (<0,25)	
LACTOSA (g/100 g)	1,36	
REFERENCIAS	NC= NO CUANTIFICABLE, ND= NO DETECTABLE	

# MUESTRA	SAQ-1660-2	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	Bebida Mora-Linaza-Soya Lote 2	
ANÁLISIS		
HUMEDAD (g/100 g)	84,23	920.151 AOAC, P-SA-MQ-002*
CENIZAS (g/100 g)	0,82	950.14 AOAC, P-SA-MQ-004*
ACIDEZ (g ácido málico/100 g)	1,44	942.15 AOAC, P-SA-MQ-011*
GRASA (g/100 g)	4,12	Carpenter, D.; Ngeh-Ngwainbi, J. & Lee, S., 1993. Methods of Analysis for Nutrition Labeling, AOAC, P-SA-MQ-005*
PROTEÍNA (N X 6,25) (g/100 g)	3,04	920.152 AOAC, P-SA-MQ-003*
SODIO (mg/100 g)	33,54	985.35 AOAC, P-SA-MQ-035**
POTASIO (mg/100 g)	206,65	
CALCIO (mg/100 g)	77,85	
HIERRO (mg/100 g)	0,72	999.11 AOAC, P-SA-MQ-035**
FRUCTOSA (g/100 g)	NC (<0,93)	HPLC-RID, FASE REVERSA, P-SA-MQ-006*
GLUCOSA (g/100 g)	NC (<1,07)	
SACAROSA (g/100 g)	ND (<0,25)	
LACTOSA (g/100 g)	1,22	
CARBOHIDRATOS TOTALES (g/100 g)	6,35	POR DIFERENCIA 100-%H-%C-%P-%G-%A
VALOR ENERGÉTICO en kJ/100 g (en kcal/100 g)	331 (79)	kcal/100 g x 4,189 (4 x %CH DISP+4 x %P+9 x %G+3x%A)
VALOR ENERGÉTICO POR GRASA en kJ/100 g (en kcal/100 g)	155 (37)	kcal/100 g x 4,189 (9 x %G)
REFERENCIAS	H=HUMEDAD, G=GRASA, P=PROTEINA, C=CENIZA CH=CARBOHIDRATOS, A= ACIDEZ, NC= NO CUANTIFICABLE, ND= NO DETECTABLE	



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005

CENTRO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEL: 2511-7223, FAX: 2253-3762

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m oeste detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias



# MUESTRA	SAQ-1660-3	MÉTODO EMPLEADO
DESCRIPCIÓN	Bebida Mora-Linaza-Soya Lote 3	
ANÁLISIS		
HUMEDAD (g/100 g)	84,28	920.151 AOAC, P-SA-MQ-002*
CENIZAS (g/100 g)	0,88	950.14 AOAC, P-SA-MQ-004*
ACIDEZ (g ácido málico/100 g)	1,29	942.15 AOAC, P-SA-MQ-011*
GRASA (g/100 g)	4,34	Carpenter, D.; Ngeh-Ngwainbi, J. & Lee, S., 1993. Methods of Analysis for Nutrition Labeling, AOAC, P-SA-MQ-005*
PROTEÍNA (N X 6,25) (g/100 g)	3,07	920.152 AOAC, P-SA-MQ-003*
SODIO (mg/100 g)	29,59	985.35 AOAC, P-SA-MQ-035**
POTASIO (mg/100 g)	207,84	
CALCIO (mg/100 g)	74,47	
HIERRO (mg/100 g)	0,62	999.11 AOAC, P-SA-MQ-035**
FRUCTOSA (g/100 g)	NC (<0,93)	HPLC-RID, FASE REVERSA, P-SA-MQ-006*
GLUCOSA (g/100 g)	NC (<1,07)	
SACAROSA (g/100 g)	ND (<0,25)	
LACTOSA (g/100 g)	1,18	
CARBOHIDRATOS TOTALES (g/100 g)	6,14	POR DIFERENCIA 100-%H-%C-%P-%G-%A
VALOR ENERGÉTICO en kJ/100 g (en kcal/100 g)	334 (80)	kcal/100 g x 4,189 (4 x %CH DISP+4 x %P+9 x %G+3x%A)
VALOR ENERGÉTICO POR GRASA en kJ/100 g (en kcal/100 g)	164 (39)	kcal/100 g x 4,189 (9 x %G)
REFERENCIAS	H=HUMEDAD, G=GRASA, P=PROTEÍNA, C=CENIZA CH=CARBOHIDRATOS, A= ACIDEZ, NC= NO CUANTIFICABLE, ND= NO DETECTABLE	



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005

CENTRO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEL: 2511-7223, FAX: 2253-3762
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m oeste detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias



NOTA:

1. Este informe de análisis se refiere únicamente a las muestras ensayadas que fueron recibidas en las instalaciones del CITA. El proceso de muestreo ha sido responsabilidad del cliente.
2. Este reporte no tiene validez legal sin la firma y sello del responsable del laboratorio y no debe ser reproducido parcialmente, sin autorización expresa del responsable del laboratorio.
3. Para cualquier consulta sobre los resultados de estos análisis, por favor comuníquese con el responsable de este reporte al (506) 2511-7215
4. Envíenos sus comentarios sobre nuestros servicios al correo: suopinion.cita@ucr.ac.cr o comuníquese al teléfono: (506) 2511-8849.
5. Las referencias de los métodos de análisis corresponden a las versiones vigentes.
6. *En los casos en los que se incluye la incertidumbre expandida del resultado, esta se expresa con un factor de cobertura de 2 que representa un nivel de 95% de confianza.*

OBSERVACIONES:

GRACIELA ARTAVIA
GONZALEZ (FIRMA)

Firmado digitalmente por
GRACIELA ARTAVIA GONZALEZ
(FIRMA)
Fecha: 2018.05.29 08:59:19 -06'00'

Emitido por: Lic. Graciela Artavia González
GERENTE TÉCNICO
LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

----- Última línea -----



LABORATORIOS CON ENSAYOS QUÍMICOS Y SENSORIALES ACREDITADOS
POR EL ENTE COSTARRICENSE DE ACREDITACIÓN - ECA-
DE ACUERDO CON LA NORMA INTE-ISO/IEC 17025:2005

CENTRO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEL: 2511-7223, FAX: 2253-3762
Ciudad Universitaria Rodrigo Facio 100 m oeste detrás de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias

